

## **Texte 64/02**

ENVIRONMENTAL RESEARCH OF THE FEDERAL MINISTRY OF THE ENVIRONMENT, NATURE CONSERVATION AND NUCLEAR SAFETY

Research Report 360 05 023

### **Specific research on transgenic fish considering especially the biology of trout and salmon**

**Jennifer Teufel**

**Frank Pätzold**

**Christof Potthof**

Öko-Institut e.V., Freiburg

Pätzolg Gewässerökologie, Baden-Baden

#### **Summary**

The worldwide demand for fish as a protein source for human nutrition has grown continuously during the past century. To meet this demand large-scale production in aquaculture has been started as early as in the mid-eighties of the past century. Nowadays about 26% of all dietary fish is produced in aquaculture. Since genetic manipulations in fish can be carried out quite easily as compared to other vertebrates, gene technology was proposed as a solution to make aquaculture even more productive and to remove the pressure on wild aquatic resources. During the past two decades intensive research has been done in the field of fish biotechnology. Considerable improvements in gene transfer and gene constructs have been made since the first report on a successful gene transfer in fish was published in 1985. Up to now 35 different fish species have been target of genetic modifications. The development of transgenic fish has proceeded to the extent that commercial utilisation appears possible.

In the nineties of the past century the development of commercially useful transgenic fish strains was focused on growth enhancement. In 2001, the European Patent Office already granted its first patent for transgenic growth-enhanced fish. The Canadian company Seabright obtained patent EP 0578 653 B1 for Atlantic salmon and all other fish species carrying an additional gene, opAFPghc, for faster growth in July 2001. A private US-Canadian company has applied for the commercial use of these fast-growing *salmons* in the United States of America, Canada, and Chile.

Other targets of genetic engineering in fish are the development of disease-resistant fish strains, improved cold tolerance, improved tolerance to pollution, transgenic sterility, improved meat quality (e.g. higher protein content), and the development of monitor

organisms for detecting mutagens and other pollution factors in aquatic environments. A lot of basic research, like gene identification and characterisation, improvement of gene transfer methods, and enhancement of gene expression is done by a large number of different Chinese and Japanese research groups or e.g. by the U.S.-American research group around Thomas Chen (University of Connecticut). Several research groups in Canada, the United States of America, and Cuba are doing more applied research. Choy Hew (University of Toronto, Canada) and Garth Fletcher (Memorial University of Newfoundland, Canada) are for example working on the enhancement of cold tolerance and on growth enhancement.

Robert Devlin (West Vancouver Laboratory, Canada) is mainly working on transgenic growth-altered fish and disease resistant strains. Thomas Chen (University of Connecticut) is also working on the development of disease-resistant strains. In Cuba, José de la Fuente and Isabel Guillén (both Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Havana) are working on transgenic growth-altered tilapia. Several European research groups, including Norman Maclean (University of Southampton, United Kingdom), P. Aleström (Norwegian College of Veterinary Medicine, Oslo, Norway), Bernard Breton (INRA Rennes, France), and Manfred Schartl (University of Würzburg, Germany) are working on transgenic sterile fish strains. Research on biosafety aspects of transgenic fish is done by Anne Kapuscinski (University of Minnesota, U.S.A.), William Muir and Richard Howard (both Purdue University, U.S.A.).

With regard to world fish production in aquaculture the two species Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Wal.) are playing a very important role. In Europe, marine finfish aquaculture is currently dominated by the production of these two species. Developing commercially valuable transgenic strains of these two salmonids have been one main target in fish biotechnology research. More than half of the research on transgenic salmonids has been conducted with gene constructs designed to influence growth, and first strains are ready for the market. Enhanced fish growth has been achieved by transferring an additional growth hormone gene construct to fertilised fish eggs. Nowadays such growth hormone gene constructs are developed from the genome of other fish species like the Pacific salmon (*Oncorhynchus kisutch*) or chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). In rainbow trout there have also been attempts to improve the feed efficiency by transferring human and rat gene constructs coding for special metabolic enzymes.

To improve cold-tolerance of salmonid species antifreeze protein genes from the winter flounder (*Pleuronectes americanus*) have been identified, analysed and transferred to Atlantic salmon. Up to now, the results of this research have not yet reached commercial stage. The enhancement of **disease resistance** in salmon and trout and the development of **transgenic sterile populations** are also on the agenda of these emerging transgenic strains of commercial interest. First attempts concerning the development of such strains have been made. The ultimate realisation of these targets still needs a lot of basic research to do.

Scientific biosafety studies concerning transgenic fish have just started. Preliminary data on environmental impacts of transgenic fish releases and related questions of animal health are available. Adverse effects have been shown at the level of individuals, however there are many indications that other organisational levels (populations, ecosystems) are likely to be impaired, too. Three major aspects have to be taken into consideration: First, genetic modifications can entail unintended effects like skull and body deformities, tumours, abnormal gill growth or altered feeding behaviour. These side effects have all been observed with transgenic salmon and trout.

Secondly, the stable expression of transferred genes cannot be guaranteed yet. Even though great progress has been made in the methodology of fish biotechnology, low frequency rates of genome integration and non-stability of transgene expression are still

unsolved problems. In certain cases, e.g. the production of transgenic sterile populations as a containment method to avoid interbreeding with wild individuals, this can become a biosafety problem.

Finally, escaped salmon or trout from aquaculture are able to crossbreed with wild stocks of these species. They are also able to hybridise with brown trout (*Salmo trutta* L.). As a consequence of crossbreeding and hybridisation transgenes might spread into natural populations. This phenomenon may be accompanied by adverse effects on natural communities and may impair the whole ecosystem. For example, a transgene for cold tolerance would allow fish with that gene to invade waters in colder climates. This situation is comparable to the introduction of exotic species which can even lead to the elimination of entire populations of native species. Another example of ecological relevance is the modified sexual behaviour resulting from altered growth hormone production in fish. Quite often larger males have a mating advantage over small males. Such a size advantage has been confirmed for Atlantic salmon.

Scientific investigations have not yet identified all the possible mechanisms by which transgenic fishes might influence ecosystems. One new methodology for estimating the risk of gene flow from escapees to wild relatives has been developed by William Muir and Richard Howard (University of Purdue, USA). This model integrates data on several iefitness components into a single prediction on gene flow from escapees to wild relatives. Escapes of aqua-cultured fish to the wild are a fact and pose a major problem. In recent years numerous escapes of farmed salmon occurred. Total **physical containment** of fish farmed in sea-based facilities is an unrealistic option for technical reasons. As an alternative, land-based facilities were proposed by the *Bergen Declaration*, a Ministerial Declaration of the iConference on the Protection of the North Sealh, in March 2002 in order to prevent releases into the marine environment. In both cases **possible environmental impacts and costs should be thoroughly evaluated**.

Another possibility is the ihiological containmentl of transgenic fish that involves the production of sterile lines of fish to avoid possible gene transfer from escaped farmed fish. Up to now this has been achieved mainly by polyploidisation of the genome. But this method is not 100% effective. A new approach involves the inhibition of sexual maturation using genetic engineering methods. This strategy is based on the fact that the production of the sexual hormone gonadotropin can be inhibited by transferring an antisense gene construct into the organism. First attempts have been partly successful, but 100% sterility cannot be guaranteed by this method, either. The problem of instability of gene expression is still unsolved and has to be improved with a view to practical application.

Regarding the commercialisation of transgenic fish with all its unclear side effects, expertise and consensus on ecological risk assessment and risk management is needed. Further research is also necessary with regard to the **evaluation of potential adverse effects** of the escape or introduction of transgenic fish strains into natural fish communities. Concepts for **monitoring adverse effects** of transgenic fish have to be developed as well. Facing the benefits and concerns connected with the putative commercial use of transgenic fish strains, some intergovernmental organisations and fora (like FAO, OECD, EU, the Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific or the "Conference on the Protection of the North Sea" (Bergen Declaration of the Fifth Conference)), a number of national governments, an increasing number of scientists, and different industrial, consumer and environmental lobby groups are now discussing the potentials and biosafety aspects of this technology. Reflecting on the consequences of the use of genetic engineering in aquaculture.it emerging ever more clearly that there is a great need for international harmonisation of regulation, including international trade regulations and the question of operating aquaculture facilities in international waters. Another important aspect that has to be discussed is the fact that escaped transgenic fish can easily pass borders. Facing the

above described potential ecological impacts of escaped transgenic fish, international agreements are needed on how to proceed in conflicts concerning biosafety hazards. Decisions during regulatory processes on transgenic organisms should be based on a broad base of technical information on the product, including biological base data for the organism concerned. This study provides biological base data on the three commercially interesting salmonids *Salmo salar* L. (Atlantic salmon), *Oncorhynchus mykiss* Wal. (rainbow trout), and *Salmo trutta* L. (brown trout). The data compiled include information on morphology, taxonomic status, reproduction biology, ecology, genetic structure and genetic variation, crossability, centres of origin and evolutionary history, natural distribution, genetic conservation, domestication, breeding and cultivation practices, pathogens and diseases, use and economic importance, and genetic modifications.

Molecular data collected in numerous scientific studies of different research groups suggest, that all three salmonid species are characterised by great genetic variability. Significant subdivisions have been found in the population genetics of each of these species. Differences have been found over broad geographic regions, as well as among tributaries within individual river basins, or even within specific rivers. Populations of these three salmonids exhibit diverse physiological, anatomical and behavioural characteristics, and it is assumed that these population differences are genetically based on local adaptation. Facing the problem of genetic conservation of these three species, it seemed to be important to identify suitable populations throughout their geographic range that can serve as gene reservoirs. Further research, including the identification of such populations must be integral part of the ongoing management of these species.

## Zusammenfassung

Im Laufe des letzten Jahrhunderts ist der weltweite Bedarf an Fisch als wichtige Eiweißquelle für den Menschen stetig gestiegen. Seit Mitte der achtziger Jahre des letzten Jahrhunderts wird deshalb versucht, diesen Bedarf durch eine intensive Fischproduktion in Aquakulturen zu befriedigen. Heutzutage stammen bereits rund 26% der jährlich verzehrten Speisefischmenge aus Aquakulturen. Laut Schätzungen der Welternährungsorganisation FAO sind 60% der weltweit wertvollsten Fischbestände überfischt oder werden bis an die Grenzen überfischt. Es ist abzusehen, dass die Fischfangmengen künftig sinken werden. Eine Möglichkeit die prognostizierten sinkenden Fischfangmengen auszugleichen und die Ausbeutung von wilden Fischpopulationen einzuschränken, besteht darin die Produktivität von Aquakulturen zu steigern.

Da gentechnische Manipulationen an Fischen im Vergleich zu anderen Vertebraten vergleichsweise einfach durchzuführen sind, besteht schon seit über zehn Jahren die Idee, die Produktivität von Aquakulturen durch den Einsatz von gentechnisch veränderten Fischlinien zu steigern.

In den letzten zwanzig Jahren ist intensiv auf dem Gebiet der gentechnischen Forschung an Fischen gearbeitet worden. Seit der ersten Publikation über die erfolgreiche gentechnische Veränderung von Fischen, die 1985 veröffentlicht wurde, sind beachtliche Fortschritte im Bereich der Methodenentwicklung für den Transfer und hinsichtlich der Herstellung von Genkonstrukten gemacht worden. 35 verschiedene Fischarten waren bereits bis heute das Ziel gentechnischer Modifikationen. Die Entwicklung bestimmter transgener Fischlinien hat mittlerweile ein Stadium erreicht, in dem eine kommerzielle Nutzung dieser Linien Möglichkeit geworden scheint.

In den neunziger Jahren des letzten Jahrhunderts lag der Schwerpunkt in der Entwicklung von kommerziell bedeutenden transgenen Fischlinien darauf, Linien zu entwickeln, die ein gesteigertes Größenwachstum besitzen. Im Jahr 2001 hat das Europäische Patentamt schließlich das erste Patent für eine transgene Fischlinie vergeben, die um ein Vielfaches schneller als ihre nicht-transgenen Artgenossen wächst. Die kanadische Firma Seabright erhielt das Patent EP 0578 653 B1 für ein Verfahren, Atlantischen Lachsen und anderen Fischarten das Genkonstrukt opAFPghc einzubauen - ein Genkonstrukt, das für ein zusätzliches Wachstumshormon kodiert. Eine private US-kanadische Firma hat bereits eine Zulassung für die kommerzielle Züchtung und

Vermarktung dieser schnellwachsenden Lachse in den USA, Kanada und Chile beantragt. Weitere Zielsetzungen, die in der biotechnologischen Forschung bei Fischen verfolgt werden, sind die Entwicklung von transgenen krankheitsresistenten oder kältetoleranten Linien, Linien mit einer erhöhten Toleranz gegenüber Schadstoffen oder mit einer veränderten Fleischqualität (z.B. einem höheren Proteingehalt), sterile Linien und die Entwicklung von Linien, die sich als Monitororganismen für das Vorhandensein bestimmter Mutagene oder Schadstoffe in Gewässern eignen. Umfangreiche Grundlagenforschung auf dem Gebiet der Biotechnologie, wie die Identifizierung und Charakterisierung von Genen, die Verbesserung von Gentransfermethoden und Genexpression wird von sehr vielen verschiedenen chinesischen, japanischen und einzelnen US-amerikanischen Arbeitsgruppen betrieben, wie z.B. von der Arbeitsgruppe um Thomas Chen (University of Connecticut, USA).

Verschiedene Arbeitsgruppen in Kanada, den USA und Kuba betreiben verstärkt angewandte Forschung. Choy Hew (University of Toronto, Kanada) und Garth Fletcher (Memorial University of Newfoundland, Kanada) arbeiten an der Entwicklung von kältetoleranten Linien und an Linien mit einem verbesserten Größenwachstum. Robert Devlin (West Vancouver Laboratory, Kanada) arbeitet hauptsächlich ebenfalls an Linien mit einem verbesserten Größenwachstum sowie an der Entwicklung von krankheits-resistenten

Linien. Auch die Arbeitsgruppe um Thomas Chen (University of Connecticut, USA) beschäftigt sich mit der Entwicklung von transgenen Linien, die gegenüber bestimmten Krankheiten resistent sind. In Kuba arbeitet eine Arbeitsgruppe um José de la Fuente und Isabel Guillén (beide am Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Havanna, Kuba) an transgenen Tilapien, die ein verbessertes Größenwachstum aufweisen. Verschiedene europäische Arbeitsgruppen, u.a. die Arbeitsgruppen um Norman Maclean (University of Southampton, Großbritannien), P. Aleström (Norwegian College of Veterinary Medicine, Oslo, Norwegen), Bernard Breton (INRA Rennes, Frankreich) und Manfred Schartl (Universität Würzburg, Deutschland), arbeiten an der Entwicklung von sterilen Fischlinien. Forschung zu potentiellen ökologischen Risiken der Nutzung von transgenen Fischen wird vor allem in den USA durch die Arbeitsgruppen um Anne Kapuscinski (University of Minnesota, USA), William Muir und Richard Howard (beide Purdue University, USA) betrieben.

Weltweit betrachtet spielen in der Aquakultur-Fischproduktion vor allem die beiden Arten Atlantischer Lachs (*Salmo salar* L.) und Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss* Wal.) eine bedeutende Rolle. Diese beiden Arten dominieren derzeit die Produktion in marinen Aquakulturen. Die Entwicklung transgener Linien dieser beiden Salmoniden-Arten ist deshalb bislang immer eines der Hauptziele in der angewandten biotechnologischen Forschung an Fischen gewesen. Über die Hälfte der Forschung in diesem Bereich befasste sich damit, dass Wachstum dieser beiden Arten zu manipulieren. Die ersten transgenen Linien sind nun marktreif. Wachstumssteigerungen sind in der Regel erzielt worden, indem Genkonstrukte, die für ein zusätzliches Wachstumshormon kodieren in befruchtete Fischeier transferiert wurden. Heutzutage werden für solche gentechnischen Manipulationen an Fischen Gene und Regulationselemente verwendet, die aus dem Genom von anderen Fischarten, wie z.B. aus dem Genom des Pazifischen Lachs (*Oncorhynchus kisutch*) oder aus dem Quinnat (*Oncorhynchus tshawytscha*), stammen. Bei der Regenbogenforelle ist auch versucht worden, die Effizienz der Futterverwertung zu steigern, indem Gene transferiert wurden, die aus dem menschlichen und Ratten-Genom stammen. Diese Gene kodierten für bestimmte Stoffwechselenzyme.

Im Rahmen der Forschung zur Erhöhung der Kältetoleranz bestimmter Salmoniden-Arten hat man bislang versucht, Gene, die man aus der Amerikanischen Winterflunder (*Pleuronectes americanus*) isoliert hat und die für bestimmte Antifrostproteine kodieren, in den Atlantischen Lachs zu transferieren. Die Entwicklung von solchen kältetoleranten Lachslinien hat allerdings noch nicht das Stadium einer kommerziellen Nutzung erreicht. Weitere Zielsetzungen, die bei der Entwicklung von transgenen Lachs- und Forellenlinien verfolgt werden, ist die Erhöhung der Krankheitsresistenz und die Etablierung von transgenen sterilen Populationen. Erste Versuche auf dem Gebiet der Entwicklung solcher Linien sind unternommen worden, allerdings ist im Hinblick auf die Realisierung dieser Ziele noch viel Grundlagenforschung zu leisten.

Die wissenschaftliche biologische Sicherheitsforschung zur potentiellen kommerziellen Nutzung von transgenen Fischen steht noch in ihren Anfängen. Die ersten Daten über potentielle negative Umwelteinflüsse, die eine Freisetzung von transgenen Fischen mit sich bringen könnte, liegen vor. Ebenfalls liegen eine Reihe von Daten vor, die die Gesundheit transgener Tiere betrifft. Nachteilige Auswirkungen, die von der Freisetzung von transgenen Fischen ausgehen, konnten auf der Ebene einzelner Individuen festgestellt werden. Es gibt jedoch zahlreiche Hinweise dafür, dass auch andere Organisationsebenen (Populationen, Ökosysteme) durch die Freisetzung von transgenen Fischen beeinträchtigt werden. Hinsichtlich der potentiellen Risiken, die mit der Freisetzung von transgenen Fischen verbunden sind, müssen folgende drei Hauptaspekte beachtet werden:

Erstens, genetische Modifikationen können mit einer Reihe von ungewollten Nebenwirkungen, wie z.B. Schädel- und Körperdeformationen, abnormem Kiemenwachstum oder verändertem Fraßverhalten, verbunden sein. Alle diese Nebenwirkungen sind bei

transgenen Lachsen und Forellen beobachtet worden.

Zweitens, bislang lässt sich noch nicht garantieren, dass die Expression der transferierten Genkonstrukte stabil bleibt. Obwohl in den letzten Jahren zahlreiche Fortschritte in der Methodenentwicklungen gemacht wurden, gehören niedrige Integrationsraten und die Instabilität der Genexpression immer noch zu den ungelösten Problemen auf dem Gebiet der Fischbiotechnologie. In bestimmten Fällen, wie z.B. der Produktion von transgenen sterilen Populationen als eine Sicherheitsmaßnahme, um die Hybridisierung mit Individuen aus Wildpopulationen zu verhindern, stellt eine solche Instabilität der Genexpression ein erhebliches Sicherheitsrisiko dar.

Als letzten Punkt muss im Zusammenhang mit den potentiellen Risiken einer Freisetzung von transgenen Fischen die Auskreuzung genannt werden. Lachse oder Regenbogenforellen, die aus Aquakulturen entweichen, sind in der Lage sich mit Individuen aus Wildpopulationen derselben Art zu paaren. Der Atlantische Lachs (*Salmo salar* L.) ist außerdem in der Lage, sich mit der Bachforelle (*Salmo trutta* L.) zu paaren. Auskreuzung und Hybridisierung können schließlich zu einer genetischen Kontamination von Wildpopulationen mit transgenen Genkonstrukten führen. Eine solche genetische Kontamination kann wiederum zahlreiche nachteilige Effekte auf die betroffenen Wildpopulationen haben und dem gesamten Ökosystem Schaden zuführen. Als prägnantes Beispiel lassen sich die potentiellen Auswirkungen der Ausbreitung von Kältetoleranzgenen in Wildpopulationen nennen. Solche Gene können es ermöglichen, dass Fischarten, in die diese Gene eingekreuzt wurden, in kältere Klimazonen vordringen, in denen sie bislang nicht heimisch waren. Eine solche Situation ist vergleichbar mit der Einführung einer exotischen Art in ein bestimmtes Gebiet, die unter Umständen die Auslöschung einer anderen, in dem Gebiet heimischen Art nach sich ziehen kann, wenn die exotische Art z.B. die gleiche Nahrungsniische besetzt, aber konkurrenzkräftiger als die im Gebiet heimische Art ist. Ein weiteres, ebenfalls ökologisch bedeutendes Beispiel ist das veränderte Sexualverhalten von transgenen Fischen, deren Hormonproduktion durch den Transfer eines zusätzlichen Wachstumshormongens verändert worden ist. Größere männliche Tiere besitzen bei manchen Fischarten häufig einen Paarungsvorteil gegenüber kleineren. Dies ist zum Beispiel auch beim Atlantischen Lachs der Fall.

Insgesamt betrachtet sind die potentiellen ökologischen Risiken, die mit der Freisetzung von transgenen Fischen verbunden sind, bislang nur wenig untersucht worden. In den USA haben hierzu in den letzten sieben Jahren zwei Wissenschaftler, William Muir und Richard Howard, von der Purdue Universität eine Methode entwickelt, mit Hilfe derer das Risiko des Genflusses von aus Aquakulturen entkommenen Fischen und Individuen aus nah verwandten Wildpopulationen abgeschätzt werden kann. Mit Hilfe dieser Methode werden die populationsgenetischen Veränderungen, die durch die Auskreuzung von entwichenen Fischen in Gang gesetzt werden, modelliert. Das Modell integriert Daten zu bestimmten sogenannten ioFitnesskomponenten, so dass eine Aussage zum zu erwartenden Genfluss gemacht werden kann.

Dass Fische aus ihren Aquakultur-Anlagen entweichen können, ist Realität. In den letzten Jahren konnten weltweit betrachtet zahlreiche Kultur-Lachse in freie Gewässer entkommen. Immer wieder wird von Massenausbrüchen berichtet. Diese entkommenen Kultur-Lachse stellen ein erhebliches ökologisches Risiko dar, da sie die genetische Diversität von Wildlachspopulationen gefährden. Aus technischen Gründen ist es nicht möglich, marine Aquakultur-Halterungsanlagen so zu gestalten, dass sie 100% ausbruchsicher sind. Deshalb wurde im Rahmen der sogenannten *Bergen Deklaration*, einer Deklaration der Umweltminister der Nordsee-anrainerstaaten, die im Rahmen der 5. Internationalen Nordseeschutzkonferenz im März 2002 verabschiedet wurde, vorgeschlagen, dass transgene Fische nur in ausbruchssicheren, nicht-marinen, auf dem Land gelegenen Aquakultur-Anlagen gehalten werden sollten. Diese Maßnahme soll verhindern, dass transgene Fische in das freie Meer gelangen. Weder die Kosten, noch die

Umweltauswirkungen solcher auf dem Land gelegenen Anlagen sind bisher evaluiert worden, weshalb keine Aussagen über die Wirtschaftlichkeit derartiger Anlagen gemacht werden können.

Eine weitere Möglichkeit, die Ausbreitung von transgenen Genkonstrukten in Wildpopulationen zu vermeiden, wird im sogenannten biologischen "Containment" gesehen.

Das heißt mit Hilfe biologischer Maßnahmen soll eine potentielle genetische Kontamination verhindert werden. Im Rahmen eines biologischen Containments ist vorgesehen, dass in der Aquakultur-Produktion nur sterile Populationen herangezogen werden. Bislang werden sterile Populationen mit Hilfe der Polyploidisierung des Genoms aufgebaut. Allerdings kann die Sicherheit dieser Methode bislang nicht gewährleistet werden. Ein neuer Ansatz zur Herstellung steriler Populationen beinhaltet, dass das Heranreifen der Tiere zur Geschlechtsreife mit Hilfe gentechnischer Methoden verhindert wird. Diese Strategie beruht auf der Tatsache, dass mit Hilfe eines Antisense-Genkonstruktes die Produktion des Sexualhormons Gonadotropin verhindert wird. Erste Versuche waren zum Teil erfolgreich. Das Problem der Instabilität der Genexpression ist aber bislang noch nicht erfolgreich gelöst worden, so dass die Methode im Hinblick auf ihre praktische Anwendung noch verbessert werden muss.

Bezüglich einer kommerziellen Nutzung von transgenen Fischen ist angesichts der mit ihnen verbundenen potentiellen und nicht ausreichend erfassten Risiken festzustellen, dass zum einen ein großer Bedarf an weiterer Sicherheitsforschung besteht, und zum anderen eine staatenübergreifende Einigung hinsichtlich des Umgangs mit den vorhandenen Risiken erfolgen sollte. Weiterer Forschungsbedarf besteht auch in Hinsicht auf die potentiellen nachteiligen Auswirkungen von aus Aquakulturen entwickelten transgenen Fischen auf Wildpopulationen. Außerdem besteht angesichts einer bevorstehenden kommerziellen Nutzung der dringende Bedarf, Konzepte für ein Monitoring der potentiellen nachteiligen Auswirkungen von transgenen Fischen zu entwickeln.

Angesichts der Tatsache, dass eine potentielle kommerzielle Nutzung transgener Fischlinien sowohl eine Reihe von Vorteilen besitzen kann, andererseits aber auch große Bedenken hinsichtlich der Risiken einer solchen Nutzung bestehen, haben sich inzwischen eine ganze Reihe von internationalen Organisationen (wie z.B. die FAO, die OECD, die EU, das "Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific" oder die Internationale Nordseeschutzkonferenz), eine Reihe von einzelnen Nationalstaaten, eine stetig wachsende Zahl von Wissenschaftlern sowie verschiedene Umwelt- und Verbraucherorganisationen und einige industrielle Interessenverbände in die Diskussion um die Anwendung dieser Technologie eingeschaltet.

Angesichts der potentiellen Konsequenzen, die aus der Nutzung von gentechnisch veränderten Fischlinien in Aquakulturen folgen können, ergibt sich zwangsläufig, dass ein großer Bedarf darin besteht, dass auf internationaler Ebene eine Abgleichung von einzelnen nationalen und multinationalen Regelungen hinsichtlich dieser Nutzung stattfindet. Dabei müssen auch internationale Handelsregelungen und die Frage, wie das Betreiben von Aquakulturen in internationalen Gewässern geregelt werden soll, miteinbezogen werden. Nationale Grenzen stellen für Fische, auch für transgene Fische, häufig kein großes Hindernis dar. Auch dieser Punkt muss in internationalen Diskussionen berücksichtigt werden. Angesichts der potentiellen negativen Auswirkungen von transgenen Fischen müssen internationale Vereinbarungen über das Vorgehen in einem Schadensfall getroffen werden.

Entscheidungen, die im Rahmen laufender Zulassungsverfahren von transgenen Organismen getroffen werden, sollten auf einer möglichst breiten Basis an technischen Informationen - inklusive einer breiten Auswahl von biologischen Basisdaten - beruhen. Dieses Gutachten liefert biologische Basisdaten für die drei kommerziell besonders

interessanten Salmoniden *Salmo salar* L. (Atlantischer Lachs), *Oncorhynchus mykiss* Wal. (Regenbogenforelle) und *Salmo trutta* L. (Bachforelle). Die zusammengestellten Daten beinhalten Informationen zur Morphologie, taxonomischen Status, Reproduktionsbiologie, Ökologie, genetische Struktur und Variabilität, Maßnahmen zur Erhaltung der genetischen Vielfalt, Kreuzbarkeit, Ursprungszentren der Arten und Evolutionsgeschichte, natürliche Verbreitung, Domestizierung, Züchtung, Haltungspraktiken, Parasiten, Krankheiten, Verwendung, wirtschaftliche Bedeutung und vorgenommene genetische Modifikationen.

Die drei im Rahmen dieses Gutachtens behandelten Salmoniden-Arten zeichnen sich durch eine erstaunlich hohe große genetische Variabilität aus. Dieser Befund wird durch zahlreiche molekulare Daten aus verschiedenen wissenschaftlichen Studien gestützt. Alle drei Arten zeichnen sich durch signifikante genetische Unterschiede innerhalb der eigenen Art aus. Genetische Unterschiede bestehen sowohl zwischen Populationen aus verschiedenen Regionen als auch zwischen Populationen aus verschiedenen Nebenflüssen eines individuellen Flusseinzugsgebietes, als auch sogar zwischen unterschiedlichen Flussabschnitten eines Flusses. Innerhalb einer Art bestehen zum Teil auch deutlich erkennbare morphologische und verhaltensökologische Unterschiede, die sich vermutlich aufgrund der Anpassung an spezifische lokale Bedingungen herausgebildet haben. Angesichts der Problematik der Erhaltung der genetischen Vielfalt dieser drei Arten, erscheint es notwendig, dass über das gesamte jeweilige Verbreitungsgebiet stabile Populationen der jeweiligen Art identifiziert werden, die als Genreservoir für die jeweilige Art dienen können. Im Rahmen von weiteren Maßnahmen, die dem Erhalt der drei Arten dienen, sollte dieser Aspekt unbedingt berücksichtigt werden und auch in weitere Forschungsaktivitäten miteinbezogen werden.