

Modellierung von Genfluss und Verwilderung bei transgenen Zuckerrüben (*Beta vulgaris* convar. *altissima* DÖLL)

Marcus Hoffmann und Wolfgang Köhler

Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung II,
Biometrie und Populationsgenetik,
Ludwigstr. 27, 35390 Gießen

Zusammenfassung

Es existieren zahlreiche Untersuchungen zum Genfluss aus kleinräumigen Experimenten, u.a. auch bei Zuckerrüben. Das Modell soll helfen, den Genfluss bei großflächigem Anbau von transgenen Zuckerrüben, später auch bei anderen Pflanzenarten, zu quantifizieren. Ausgehend von den verschiedenen Aspekten des Genflusses, räumlich und zeitlich, simulieren die Module zum "vertikalen Gentransfer" und zur "populationsinternen Dynamik" die zu erwartenden Auskreuzungsfrequenzen und die Populationsdynamik. Die Module basieren auf dem Ansatz eines stochastischen Zellulären Automaten und einer Modifikation des Gauß-Plume-Modells. Eine erste Validierung des Modells zeigt eine gute Anpassung an experimentelle Daten aus Auskreuzungsexperimenten. Erste Anwendungen des Modells sind in der Optimierung von Stichprobenahmestrategien zu sehen.

Abstract

Numerous small-scale releases of transgenic plants are conducted in order to measure gene flow within beet populations. The aim of the model is to quantify the degree of gene flow expected in large-scale commercialisation of transgenic sugar beet, and subsequently also within other plant populations. Based on the spatial and temporal aspects of gene flow, two separate modules 'vertical gene transfer' and 'dynamics within populations' calculate the expected outcrossing frequencies and the dynamics within the population. The modules are based on a stochastic cellular automata approach and on a modified Gauß-Plume model. First steps in validation show a good fit of simulated to observed data. Applications of the model could be the improvement of sampling strategies for further experiments.

Einleitung

Die ersten transgenen, herbizidtoleranten Zuckerrüben befinden sich in Deutschland in der Wertprüfung, und mit dem kommerziellen Anbau ist nach Zulassung der Herbizide für ihre Anwendung in Zuckerrüben im Jahre 2001 zu rechnen. In Deutschland kommen Wildrüben in räumlicher Nähe zu potentiellen Anbaugebieten von transgenen Zuckerrüben vor. So finden sich Wildrübenpopulationen beispielsweise in der Kieler und Lübecker Bucht an der Ostseeküste. Auch Unkrautrübenpopulationen können in unmittelba-

rer und mittelbarer Umgebung von Zuckerrübenanbauflächen auftreten, so dass mit Genfluss von transgenen Zuckerrüben in andere Populationen gerechnet werden muss.

Eine einfache Klassifizierung des "Risikos" erfolgt durch Einführung eines Risiko-Codes, unter Berücksichtigung der Ausbreitung durch Pollen, der Ausbreitung durch Samen und der Häufigkeit des Auftretens von Kreuzungspartnern. In dieser Reihenfolge wird der Code für Holland mit 4.1.1 (De Vries *et al.*, 1992) angegeben. Das bedeutet für die Niederlande eine hohe Wahrscheinlichkeit, dass überhaupt Auskreuzungen stattfinden, allerdings nur unter sehr günstigen Bedingungen und nur dort, wo auch wildwachsende Verwandte auftreten. Für die Schweiz wird aufgrund fehlender Kreuzungspartner ein Risiko-Code von 1.2.1 angegeben. Ohne natürliche Kreuzungspartner gibt es keine Auskreuzungen, und es ist mit keinem vertikalen Genfluss zu rechnen. Dies sind jedoch nur grobe Einschätzungen.

Mögliche Risiken, allgemein definiert als Produkt aus dem Grad der Gefahr und der Wahrscheinlichkeit des Eintretens (MacKenzie und Henry, 1990), sind abzuschätzen. Der Grad der Gefahr ergibt sich aus der Art der gentechnischen Veränderung. Dabei spielen u.a. folgende Fragen eine Rolle:

- Ändert sich das ökologische Verhalten der transformierten Pflanze?
- Hat sie einen Fitness-Vorteil?
- Gibt es zusätzliche pleiotrope Effekte?
- Welche ökologische Rolle spielt der Kreuzungspartner im natürlichen Ökosystem?
- Ist Verwilderung möglich, d.h. wächst und vermehrt sich die Pflanze ohne anthropogenen Einfluss? - Wird die Pflanze als potentiell Unkraut in Agrarökosystemen auftreten?

Allgemein wird "genetische Verunreinigung" (genetic pollution) (Daniels und Sheail, 1999) für natürliche Populationen erwartet. Die Wahrscheinlichkeit des Eintretens dagegen wird bestimmt durch die räumliche Entfernung der Kreuzungspartner und deren Verbreitungshäufigkeit, durch Trennung aufgrund von Barrieren wie Fangpflanzen, Bäumen o.ä., durch die Ausbreitung der Pollen und der Früchte und Samen unter den gegebenen Ausbreitungsbedingungen wie Windstärke und -richtung, durch die Kompatibilität und durch das Ausmaß der Hybridisierung.

Die Arbeit widmet sich dem zweiten Aspekt, der Schätzung der Wahrscheinlichkeit des Genflusses. Wie weit und wie schnell breiten sich Transgene aus? Welche Rolle spielt der räumliche Aspekt? In begrenztem Umfang liefern Freisetzungsversuche und auch Auskreuzungsexperimente mit konventionellen Vertretern des Genus *Beta* Anhaltspunkte für den vertikalen Gentransfer und können daher als Grundlage für die Erstellung des Modells verwendet werden. Direkte Genfluss-Nachweise in natürlichen Populationen und auch Beobachtungen in Feldversuchen dienen der Kalibrierung. Das Modell soll als Hilfsmittel zur Abschätzung des Risikos eingesetzt werden und steht damit in einer Reihe mit anderen Anwendungen aus dem informationstechnischen Bereich im „Risk Assessment“. Dazu gehören Simulationen zur Abschätzung des Genflusses bei Raps (Colbach *et al.*,

1999), Knowledge Assessment Systeme (UNIDO) oder auch der mögliche Einsatz von Expertensystemen in Verbindung mit SNIF (BATS) (Lindenmeyer, 1996).

Untersuchungsobjekt und Modellansatz

Genus *Beta*

Die wichtigsten Vertreter des Genus *Beta* aus der Familie der Chenopodiaceae sind die Zuckerrübe, die Futterrübe, der Mangold, die Rote Bete und die Wildrübe als Vertreter in natürlichen Ökosystemen, den Spülsaumgesellschaften. Auskreuzungen zwischen den Subspezies sind möglich, und auch die Nachkommen aus den Kreuzungen sind fertil. Es existiert keine Barriere für einen Gentransfer (Bartsch und Pohl-Orf, 1996). Es gibt verschiedene mögliche Auskreuzungswege innerhalb des Genus *Beta*. Diese hängen einerseits von der Ausbreitungsbiologie, andererseits aber auch von der räumlichen Verbreitung der natürlichen Populationen und des Anbaus ab. Ob sich nun Pflanzen mit transgenen Eigenschaften in natürlichen Ökosystemen etablieren, hängt ab von dem Reproduktionspotential, der Fruchtbarkeit, der Überlebensrate, den Umweltbedingungen und der relativen Fitness (Stress-Toleranz gegenüber abiotischen und biotischen Faktoren wie z.B. Hitze, Salz, Trockenheit, Konkurrenz).

Zuckerrüben sind im Gegensatz zu den Wildrüben zweijährig, und sie gelangen normalerweise erst im zweiten Jahr zur Blüte. Allerdings treten Schosser des öfteren nach Vernalisation bei Temperaturen zwischen 1 und 4°C im Zwei- bis Vierblattstadium auf. Eine weitere Ursache ist eine Verunreinigung des Saatgutes in Saatzuchtgebieten durch Einkreuzung der Eigenschaft der Einjährigkeit aus Wildrüben. So ist Genfluss in Rübenproduktionsgebieten möglich. Die Pflanzen des Genus *Beta* sind protandrisch, allogam, und Selbstinkompatibilität ist weit verbreitet, aber auch Apomixis tritt in seltenen Fällen auf. Die Pollenverbreitung erfolgt hauptsächlich anemochor, Zoochorie ist selten (Free *et al.*, 1975). Die Blüte dauert etwa 4 Wochen, findet in Mitteleuropa etwa im Juni bis August statt und überschneidet sich mit der Blütezeit der Wildrüben (Juli bis September). Die Schosser produzieren je Anthere im Mittel 17.000 Pollen, bei 5 Antheren je Blüte und ca. 10.000 Blüten je Pflanze. Produziert werden ca. 10.000-20.000 Knäuel mit je 1-4 Nüssen, mit durchschnittlich 4-jähriger Keimfähigkeit. Auch zur Überlebens- und Überdauerungsfähigkeit der Kreuzungen zwischen den verschiedenen Subspezies existieren Untersuchungsergebnisse (AG Bartsch, RWTH Aachen).

In den europäischen Saatzuchtgebieten in Norditalien und Südfrankreich blühen die Rüben nach Vernalisation schon im ersten Jahr. In Norditalien sind sie sympatrisch mit Vorkommen von Wildrüben (Bartsch und Schmidt, 1997). Insbesondere in Saatzuchtgebieten ist also mit Genfluss zu und von Wildrübenpopulationen zu rechnen. Vigouroux *et al.* (1999) führten Untersuchungen zum Genfluss von Zuckerrübenflächen mit Schossern zu benachbarten Unkrautrübenpopulationen durch. Sie fanden eine Auskreuzung von Eigenschaften der transgenen Pflanzen in Wildpopulationen und auch ein Rückkreuzen der dann in den Unkraut- bzw. Wildpopulationen vorhandenen, veränderten Eigenschaften, gleichzeitig aber auch eine Rückkreuzung der dominanten Eigenschaft der Einjährigkeit.

In Europa waren 1970 auf 10-20% der Rübenanbauflächen Unkrautrüben (Boiteau und Christmann, 1977) zu finden, 1-2% der Flächen waren stark betroffen.

Wichtig für den räumlichen Aspekt der Ausbreitung sind der Pollenflug und dessen Reichweite. Für geringe Distanzen wurde dies in verschiedenen Experimenten untersucht. Auch für größere Distanzen von einigen Kilometern liegen Anhaltspunkte vor. Ergebnisse der Untersuchungen besagen, dass die Auskreuzungswahrscheinlichkeiten mit zunehmender Entfernung sehr gering werden, einer sehr steilen Verteilungskurve folgend. Oft ist der Stichprobenumfang sehr klein, so dass entsprechend den geringen Wahrscheinlichkeiten keine Auskreuzungsereignisse detektiert wurden. Zudem gibt es einen Verdünnungseffekt, da die Fläche bei zunehmendem Radius stärker wächst. Es ist auch zu beobachten, dass die Auskreuzungsereignisse nicht gleichmäßig, sondern geklumpt (patchiness) verteilt sind. Im Gegensatz zu Pollen tragen die Samen weniger zum räumlichen Effekt der Ausbreitung bei (Ellstrand, 1992).

Die Pollenübertragung gliedert sich in 3 Phasen: Emission, Transmission, Immission. Die Emission hängt ab von der Anzahl der Schosser, der Blühperiode, Pollenmenge, Bestandsstruktur, Windgeschwindigkeit, Turbulenz, Luftfeuchtigkeit, Temperatur. Die Transmission, der eigentliche Vorgang der räumlichen Ausbreitung, ist bestimmt durch Sinkgeschwindigkeit, Windgeschwindigkeit, Windrichtung, Turbulenz, Einstrahlung, Luftfeuchtigkeit, Temperatur, Topographie, Barrieren. Die Immission hängt ab von der Blühperiode und der Individuenzahl. Schließlich erfolgt die Befruchtung in Abhängigkeit von Pollenfertilität, Pollenkonkurrenz und Kompatibilität, dann die Samenbildung und die Bildung fertiler Nachkommen. Letztere grenzt die hier interessierende aktuelle von der potentiellen Auskreuzung ab. Obwohl in zahlreichen Experimenten nur niedrige Auskreuzungsraten bei größeren Entfernungen gefunden wurden, gibt es Belege für den Transport über größere Entfernungen. Dark (1971) fand in 200 m Entfernung noch 20% Pollenmaximalkonzentration je Volumeneinheit und in 900 m Entfernung noch 2% der Pollenmaximalkonzentration. Raynor *et al.* (1974) fanden in 0,5 km Höhe noch 30-70 Pollen/m³, und Kapteijns (1993) fand vitalen Pollen noch in einer Entfernung von 1.000 m.

Modellansatz

Die räumliche Ausbreitung erfolgt vor allem durch vertikalen Gentransfer via Pollen. Innerhalb der Populationen interessiert dann die zeitliche Dynamik in Bezug auf die Frequenz des eingekreuzten Transgens sowie das Potential der Etablierung und des Rückkreuzens. Diese zwei Aspekte des Genflusses finden sich auch in der Struktur des Modellprototyps wieder. Vom Modell wird eine mögliche Adaption an andere Pflanzenarten gefordert und eine leichte Implementierung von weiteren Modulen, wie z.B. dem Modul zum horizontalen Gentransfer. Dieses ist bislang aufgrund fehlender Daten zur Kalibrierung nicht realisiert. Das Modell ist modular aufgebaut und objektorientiert in C++ realisiert. Status quo ist die Realisierung eines Prototyps mit den zwei Modulen zum vertikalen Gentransfer und zur populationsinternen Dynamik. Die Module sind über Schnittstellen zum Datentransfer miteinander verbunden, wobei der Output des einen Moduls dem anderen als Input dient und umgekehrt. Weiterhin existieren Schnittstellen zu einem Geogra-

phischen Informationssystem (GIS) zwecks Einbindung räumlicher Daten bezüglich der Verteilung von Wildrübenpopulationen bzw. Zuckerrübenanbauflächen und zu Statistik-Programmpaketen. Der modulare Programmaufbau wird unterstützt durch objektorientiertes Design (Silvert, 1993), d.h. die Populationen sind als Objekte definiert, und durch einfache Modifikation des Programm-Codes lassen sich neue Instanzen dieser Objekte erzeugen. So wird eine Adaption an andere Pflanzenarten ermöglicht.

Bei der Implementierung des Moduls zum vertikalen Gentransfer wurden drei Ansätze verfolgt: der Lattice-Gas-Automata (ZA), ein Subtyp des Zellulären Automaten inkl. Impulserhaltung, eine Modifikation des Gauß-Plume-Modells (GM) (Chen *et al.*, 1998), jedoch ohne Einbeziehung einer dritten Dimension, der Vertikalen, da sie für das Endresultat des aktuellen Genflusses keine Rolle spielt, sondern nur für den Ausbreitungsprozess von Interesse wäre, und als dritter Ansatz eine Kombination der ersten zwei Ansätze, hier Single-Particle-Modell (SPM) genannt. Die Verteilung ist nach dem Maximum-Likelihood-Verfahren an experimentelle Daten angepasst (Kareiva, 1994) und folgt einer negativ-exponentiellen Funktion in Abhängigkeit von der Distanz und einer Normalverteilung gemäß dem Gauß'schen Modell in Abhängigkeit von der Richtung zur Quelle. Je nach Windfeld können auch mehrere, nach Häufigkeiten gewichtete Normalverteilungen überlagert sein. Eine negativ-exponentielle Abhängigkeit erweist sich als bestangepasst (Gliddon, 1999) und aufgrund weniger Parameter leicht interpretierbar und praktikabel, im Gegensatz zu einer Weibull-Verteilung mit mehr Parametern oder der Potenzfunktion, die für geringe Distanzen gegen unendlich geht, aber auch der Normalverteilung, die für große Distanzen zu geringe Raten schätzt. Das Modell ist rasterbasiert, für kleinräumige Simulationen individuenbasiert mit Zellengrößen im Bereich von 15 Zentimetern. Die Simulation des aktuellen Genflusses erfolgt anhand eines Monte-Carlo-Ansatzes, der zusätzlich den Effekt der "patchiness" modelliert. Es wird ein empirischer Ansatz verfolgt, da mathematisch exakte Vorhersagen in Form eines deterministischen Modells nicht möglich sind. Das würde eine sehr komplexe aerodynamische Modellierung erfordern.

Das zweite Modul beschreibt die populationsinterne Dynamik. Es basiert auf dem Ansatz der Zellulären Automaten. Die Fläche ist repräsentiert durch ein rechteckiges Gitter, um einen Austausch mit Daten des GIS zu ermöglichen. Das Modell ist individuenbasiert, d.h. die Zustände der Zellen sind charakterisiert durch das Vorhandensein des Genotyps einzelner Individuen. Die Nachbarschaft ist die Moore-Nachbarschaft, mit allen angrenzenden Zellen, aber mit veränderlichem Radius, abhängig von der Samenausbreitung. Die Zeitschritte entsprechen einer Vegetationsperiode. Die Größe des Rasters ist abhängig von der zu simulierenden Situation, bei kleinen Freisetzungen im Bereich von 100 m. Die Regeln sind stochastisch. Der Input für den Prototyp ist die Ausgangsverteilung der Populationen mit unterschiedlichen Genotypen. Anhand dieser Verteilung und des Anteils blühender Pflanzen wird die Matrix des aktuellen Genflusses berechnet. Dies dient dem Modul „populationsinterne Dynamik“ als Input. Aus den Auskreuzungswahrscheinlichkeiten und dem in dieser Zelle befindlichen Genotyp, mit zwei Allelen je Locus binär kodiert, wird nach einem einfachen Mendelschen Prozess der Genotyp des Kreuzungsproduktes bestimmt. Dies fließt in die Matrix der Samenbank ein, und je nach Überwinte-

rung/Überdauerung, Keimungsrate, Vitalität der Keimlinge und Konkurrenzkraft der Jungpflanzen wird für den nächsten Zeitschritt die neue Verteilung der Individuen berechnet. Abhängig von der Schosser- bzw. Blühneigung geht diese Matrix als Input in das Modell zum vertikalen Gentransfer ein (Abb. 1).

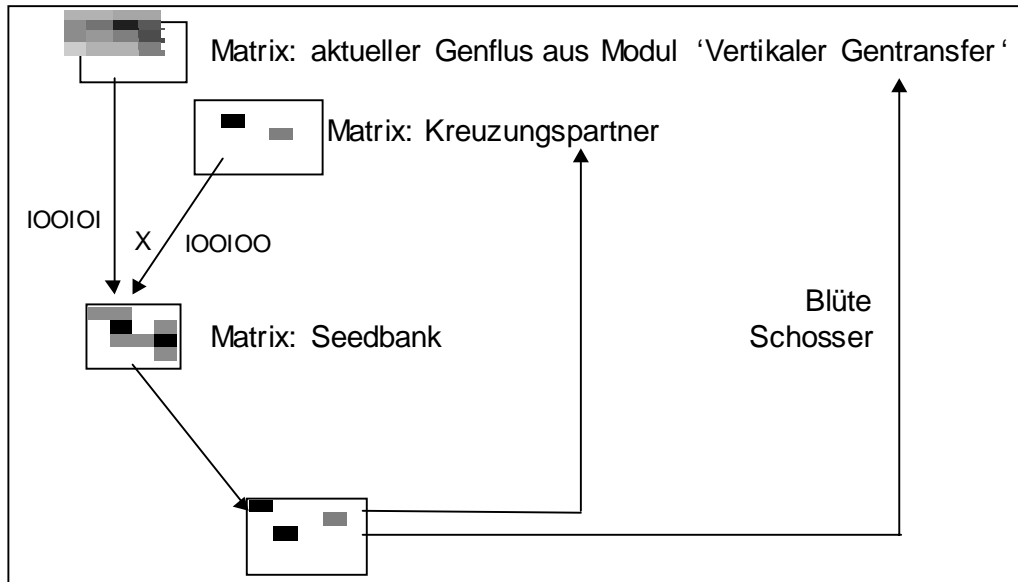


Abb. 1: Programmablauf im Prototyp

Ergebnisse

Beim Lattice-Gas-Automaten passen der räumliche und zeitliche Maßstab für die Daten nicht zueinander. Bei der schrittweisen Simulation des Ausbreitungsprozesses werden Winddaten in entsprechend feiner zeitlicher Auflösung benötigt. Jedoch steht nicht der Ausbreitungsprozess im Vordergrund, sondern die Verteilung als Resultat der Ausbreitung. Der zweite Ansatz nach dem Gauß-Modell ist mit steigender Zahl von Pollenquellen zu rechenaufwendig, und auch die Distanzabhängigkeit der Normalverteilung stimmt nicht mit den beobachteten Werten überein. Implementiert wurde schließlich der dritte Ansatz, das Single-Particle-Modell. Das Modul „vertikaler Gentransfer“ wurde anhand experimenteller Daten von Madsen (1994) überprüft und stimmt für größere Entfernungen gut mit den beobachteten Werten überein, d.h. die beobachteten Werte liegen im 95% Konfidenzintervall. Allerdings überschätzt das Modell für geringe Entfernungen die Auskreuzungswahrscheinlichkeit.

Eine Anwendung dieses Moduls liegt in der Optimierung von Stichprobenahmestrategien für weitere Auskreuzungsexperimente. Oftmals werden die äquidistanten Stichproben mit gleichem Stichprobenumfang gezogen. Das hat den Nachteil, dass bei großen Entfernungen die Auskreuzungswahrscheinlichkeit gering ist und somit die Wahrscheinlichkeit, kein Auskreuzungsereignis in der Stichprobe zu finden, wächst. Um den Gesamtstichprobenumfang gleich zu lassen, bietet es sich an, den Stichprobenumfang, abhängig von der

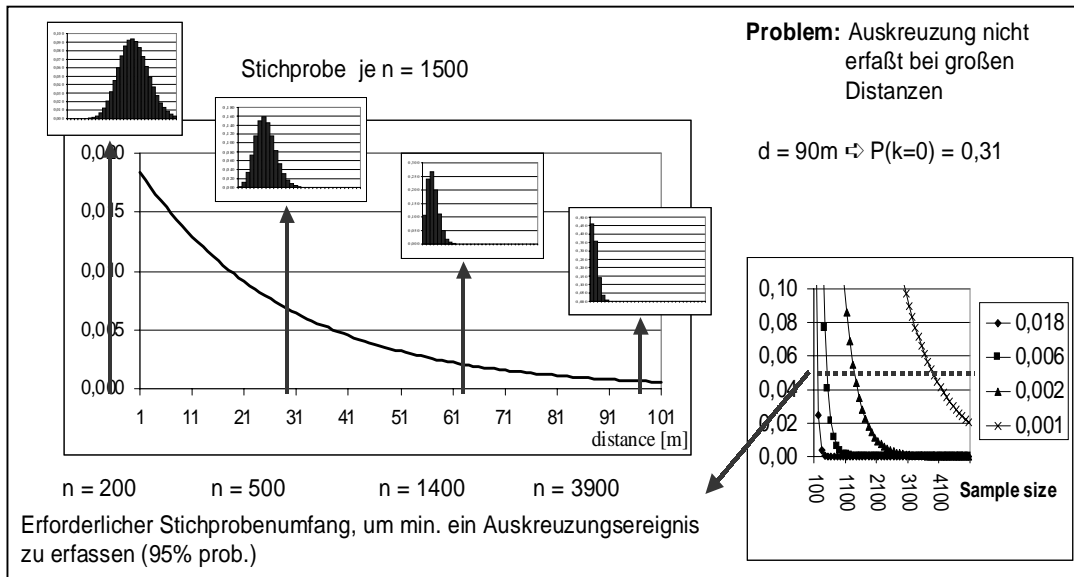


Abb. 2: Beispiel für Optimierung der Stichprobenahme

erwarteten Größenordnung der Auskreuzungswahrscheinlichkeiten, je nach Distanz zu variieren. In Abb. 2 ist ein Beispiel angegeben für einen Versuch von Madsen. Bei gleichen Stichprobenumfängen, in diesem Falle 1.500, ergibt sich eine Wahrscheinlichkeit von 31%, bei einer Entfernung von 90 m kein Auskreuzungsereignis in der Stichprobe zu finden.

Durch geschickte Wahl der verschiedenen Stichprobengrößen in Abhängigkeit von der Entfernung lässt sich die Wahrscheinlichkeit, kein Ereignis in der Stichprobe zu haben, für alle Stichprobenahmestellen auf 5% senken. Die Entfernung sowie die Spender- und die Empfängerpopulationsgröße haben einen unterschiedlich starken Einfluss auf die Auskreuzungsfrequenz. Sie hat einen negativ-exponentiellen Verlauf in Abhängigkeit von der Entfernung, einen linearen Verlauf in Abhängigkeit von der Spenderpopulationsgröße und einen negativ-exponentiellen Verlauf in Abhängigkeit von der Empfängerpopulationsgröße. Zum Testen des Prototyps wurden hypothetisch angenommene Parameter verwendet. Als Input dient die Ausgangsverteilung verschiedener Genotypen. Es werden verschiedene Szenarien getestet. Szenario I sind zwei gleich große Populationen. Die Frequenzen der Genotypen in Population 2 zeigen folgende Verläufe: der Anteil des ursprünglichen Genotyps fällt monoton, während der Anteil des anderen Genotyps und der Anteil der Hybride monoton wächst.

Szenario II sind zwei unterschiedlich große Populationen mit drei Subszzenarien, wobei vorgegeben ist, dass die größere Population alle drei Jahre auftaucht, permanent vorhanden ist oder nur einmal auftaucht. Bei regelmäßiger Wiederkehr der benachbarten Population pendeln sich die Frequenzen auf einem Niveau ein, schwankend von 15 bis 45% mit der Periodizität des Auftauchens der benachbarten Population. Bei permanenter

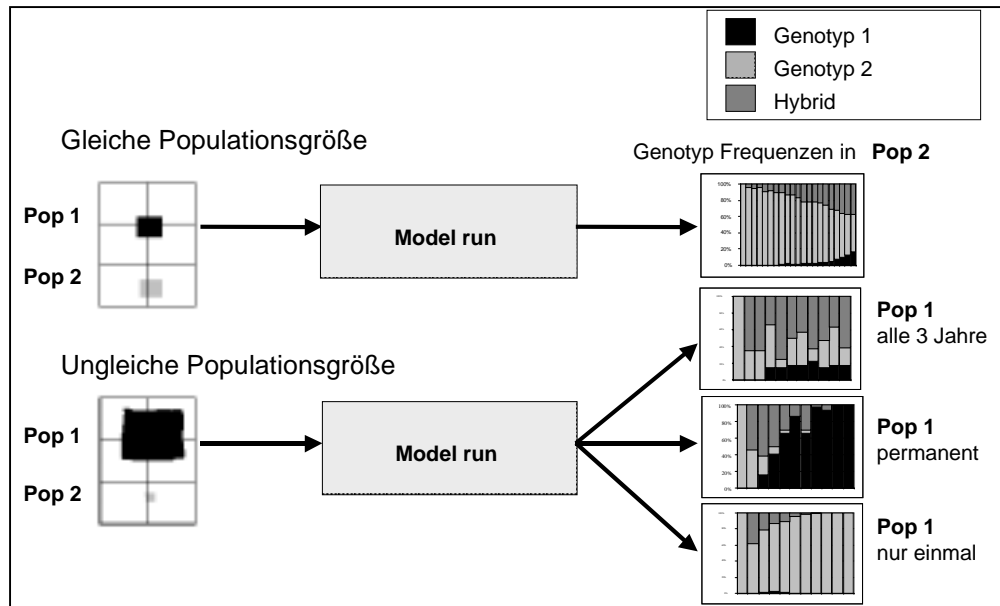


Abb. 3: Programmdurchläufe mit hypothetischen Parametern

Nachbarschaft nimmt die Frequenz des ursprünglichen Genotyps ab bis zum völligen Verschwinden. Die Hybridfrequenz nimmt erst zu, dann nach Überschreitung des Maximums von 61% ab, und die Frequenz des zweiten Genotyps nimmt zu. Bei einmaligem Auftauchen der benachbarten Population nähert sich die Zusammensetzung der Population nach einem Maximum der Hybridfrequenz des ersten Genotyps von 37% und einem Maximum der Frequenz des zweiten Genotyps von 26% der ursprünglichen Zusammensetzung wieder an.

Zusammenfassung und Schlussfolgerung

Der Prototyp liefert Ergebnisse in Bezug auf die Modellierung der Auskreuzung in kleinem Maßstab. Diese Resultate können zur Unterstützung in der Risikoabschätzung dienen, so in der Planung von Versuchsanlagen oder in der Optimierung von Stichprobennahmestrategien bei weiteren Auskreuzungsversuchen. In einem iterativen Prozess lassen sich die Modellparameter anhand der gewonnenen Daten besser schätzen, und es kann eine bessere Anpassung an die Realität erreicht werden. Das Modell lässt sich auch auf andere Pflanzenarten übertragen. Ausgehend von den Simulationsergebnissen lassen sich Versuchsstrategien in der Begleitforschung ableiten. So können Hinweise auf die Gestaltung eines zukünftigen Monitoring und die Gestaltung der Protokolle gegeben werden.

Die Arbeiten wurden finanziert durch das BMBF-Projekt 0311735.

Literatur

Bartsch, D., Pohl-Orf, M.:

Ecological Aspects of Transgenic Sugar Beet: Transfer and Expression of Herbicide Resistance in Hybrids with Wild Beets. *Euphytica* 91, 55-58, 1996.

Bartsch, D., Schmidt, M.:

Influence of sugar beet breeding on populations of *Beta vulgaris* ssp. *maritima* in Italy. *J. Vegetation Science* 8, 81-84, 1997.

Boiteau, R., Christmann, J.:

Les betteraves mauvaises herbes. 40th Wintercongress Int. Inst. Sugar Beet Res., Weickmans, L. (Hrsg.), Brüssel, 1997.

Chen, Y.C., Bundy, D.S., Hoff, S.:

Development of a model of dispersion parameters for odour transmission from agricultural sources. *Journal of Agricultural Engineering Research* 69, 229-238, 1998.

Colbach, N., Meynard, J.M., Clermont-Dauphin, C., Messean, A.:

GeneSys: a model of the effects of cropping system on gene flow from transgenic rape-seed. In: *Gene Flow and Agriculture*, BCPC Symposium Proceedings No. 72, 1999.

Daniels, R.E., Sheail, J.:

Genetic pollution: concepts, concerns and transgenic crops. In: *Gene Flow and Agriculture*. BCPC Symposium Proceedings No. 72, 1999.

Dark, S.O.S.:

Experiments on the cross-pollination of sugar beet in the field. *Journal of the National Institute of Agricultural Botany* 12, 242-266, 1971.

de Vries, F.T., van der Meijden, R., Brandenburg, W.A.:

Botanical Files, *Gorteria Supplement* 1, 1992.

Ellstrand, N.C.:

Gene flow among seed plant populations. *New Forests* 6, 241-256, 1992.

Free, J.B., Williams, I.H., Longden, P.C., Johnson, M.G.:

Insect pollination of sugar beet seed crops. *Ann. Appl. Biol.* 81, 127-134, 1975.

Gliddon, C.J.:

Gene flow and risk assessment. In: *Gene Flow and Agriculture*, BCPC Symposium Proceedings No. 72, 1999.

Kapteijns, A.J.A.M.:

Risk assessment of genetically modified crops. Potential of four arable crops to hybridize with the wild flora. *Euphytica* 66, 145-149, 1993.

Kareiva, P., Morris, W., Jacobi, C.M.:

Studying and managing the risk of cross-fertilization between transgenic crops and wild relatives. *Molecular Ecology* 3, 15-21, 1994.

Lindenmeyer:

Formalisierung der Sicherheitsanalyse für die Freisetzung transgener Organismen mit Hilfe elektronischer Informationsverarbeitung, Internet URL, 1996.

http://www.bat.ch/publications/report3-96_1.htm

MacKenzie, D.R., Henry, S.C.:

Towards a consensus. In: *The Biosafety Results of Field Tests of Genetically Modified Plants and Microorganisms. Proceedings of the Kiawah Island Conference*, D.R. MacKenzie, S.C. Henry (Hrsg.), Agricultural Research Institute, Bethesda, Maryland, USA, 1990.

Madsen, K.H.:

Weed management and impact on ecology of growing glyphosate tolerant sugar beets. Ph.D.-Thesis Royal Veterinary and Agricultural University, Frederiksberg, Copenhagen, Denmark, 1994.

Raynor, G.S., Hayes, J.V., Ogden, E.C.:

Mesoscale transport and dispersion of airborne pollens. *J. Appl. Met.* 13, 87-95, 1974.

Silvert, W.:

Object-Oriented ecosystem modelling. *Ecological Modelling* 68, 91-118, 1993.

Vigouroux, Y., Darmency, H., de Garambe, T.G., Richard-Molard, M.:

Gene flow between sugar beet and weed beet. In: *Gene Flow and Agriculture*, BCPC Symposium Proceedings No. 72, 1999.