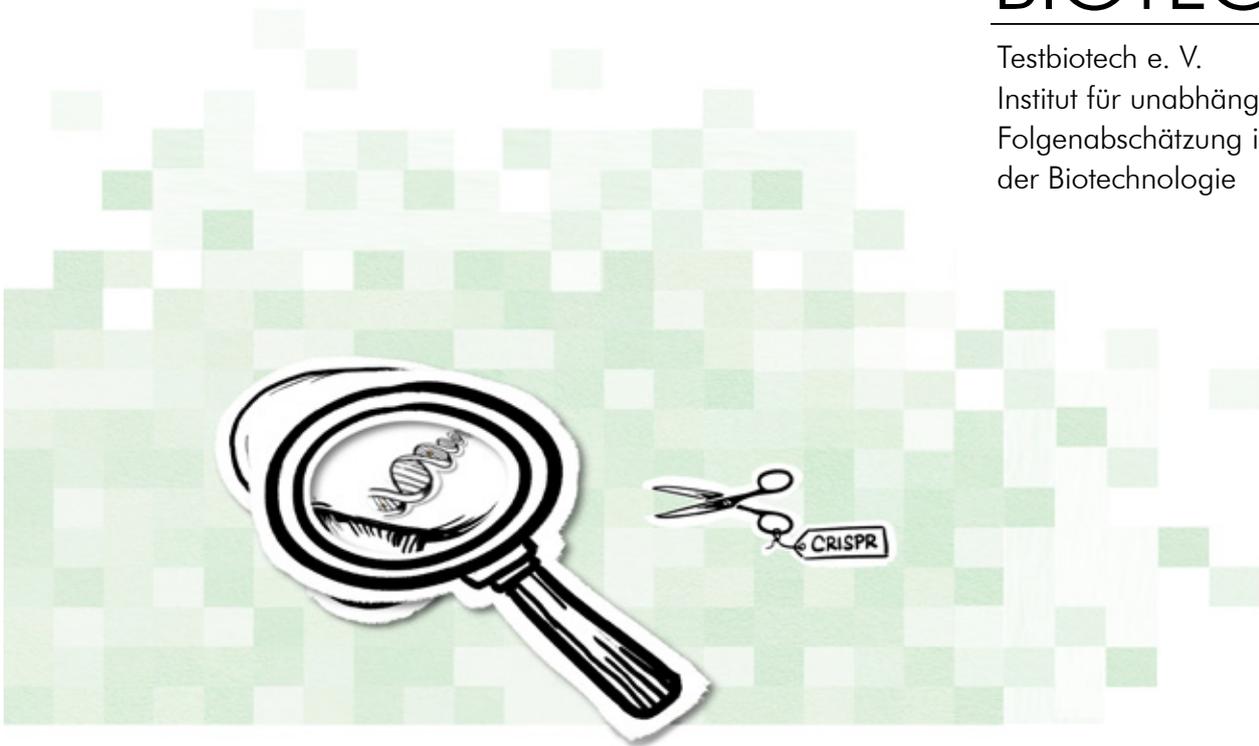


TEST BIOTECH

Testbiotech e. V.
Institut für unabhängige
Folgenabschätzung in
der Biotechnologie



Am I Regulated?

Neue Gentechnik an Pflanzen:
Probleme mangelnder Regulierung am Beispiel der USA

Christoph Then
www.testbiotech.org

März 2019

Am I Regulated?

Neue Gentechnik an Pflanzen: Probleme mangelnder Regulierung am Beispiel der USA

Christoph Then, Testbiotech

Testbiotech bedankt sich bei der Fachstelle Gentechnik und Umwelt
www.fachstelle-gentechnik-umwelt.de für die Beratung.

Die Fachstelle ist aber weder für Inhalte noch für ihre Darstellung verantwortlich.

März 2019

Impressum

Testbiotech e.V.

Institut für unabhängige Folgenabschätzung
in der Biotechnologie

Frohschammerstr. 14

D-80807 München

Tel.: +49 (0) 89 358 992 76

info@testbiotech.org

www.testbiotech.org

Geschäftsführer: Dr. Christoph Then

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	4
1. Einleitung	8
2. Genome Editing und Nukleasen – eine kurze Einführung	9
2.1 Nukleasen	9
2.2 Varianten des CRISPR-Systems	10
3. Welche Organismen sind in den USA zur Freigabe registriert?	12
4. Unterschiede zur konventionellen Züchtung	16
4.1 Nicht jede genetische Veränderung ist Gentechnik	16
4.2 Bedeutung natürlicher Mechanismen der Genregulation und Vererbung	18
4.3 Anmeldungen bei APHIS zeigen Unterschiede zur Züchtung	19
4.4 APHIS ignoriert die Unterschiede zwischen Züchtung und Gentechnik	20
5. Um welche Risiken geht es?	22
6. Ausblick und Empfehlungen	24
Quellen	26

Zusammenfassung

Neue Gentechnikverfahren, auch Genome Editing genannt, sind nicht nur im Fokus technologischer Entwicklung, sondern auch vielfältiger öffentlicher Debatten. Unter anderem geht es um die Frage, wie genau Organismen, die mit diesen neuen Verfahren in ihrem Erbgut verändert wurden, auf ihre Risiken geprüft werden sollen.

In der EU unterliegen diese Organismen dem Gentechnikgesetz, das heißt, es muss in jedem Fall eine Zulassungsprüfung erfolgen. In den USA gibt es dagegen keine entsprechenden gesetzlichen Anforderungen. In den USA werden stattdessen in einzelnen Fällen Anfragen bezüglich einer möglichen Zulassungspflicht an die US-Landwirtschaftsbehörde, beziehungsweise deren Abteilung APHIS („Animal and Plant Health Inspection Service“) gerichtet.

Die im Rahmen dieses Programms der APHIS unter dem Titel „Am I regulated?“ registrierten Anfragen wurden für diesen Bericht erfasst und ausgewertet. Diese Anmeldungen sind für diesen Bericht besonders relevant, weil einige dieser Organismen (vor allem Pflanzen) tatsächlich in den nächsten Jahren in den Anbau gelangen und zur Produktion von Futter- oder Lebensmitteln verwendet werden sollen.

Dabei standen folgende Fragen im Mittelpunkt:

- › Um welche Organismen und technische Verfahren handelt es sich?
- › Was wurde geprüft und was war das Ergebnis?
- › Was folgt daraus für die generelle Bewertung der Risiken und speziell für die Gesetzgebung in der EU?

APHIS hat bis November 2018 über 70 Anträge erhalten, von großen Konzernen ebenso wie von Forschungseinrichtungen und Universitäten. 22 Anträge beziehen sich speziell auf neue Gentechnikverfahren (auch „Genome Editing“). Laut Antragsunterlagen kamen Nukleasen wie CRISPR/Cas und TALEN zum Einsatz, um die jeweiligen Organismen, 21 Pflanzen und einen Speisepilz, in ihrem Erbgut zu verändern. Insbesondere die Verwendung der Nuklease CRISPR/Cas hat in den letzten Jahren deutlich zugenommen. Es wurden keine zusätzlichen Gene in das Erbgut eingebracht, sondern die natürlichen Gene ausgeschaltet oder in ihrer Struktur verändert.

Die im APHIS-Register gelisteten Pflanzenarten sind Ackerpfeffernigkraut, Grüne Borstenhirse, Kartoffeln, Leindotter, Luzerne, Mais, Reis, Soja, Tabak, Tomaten und Weizen. Aufgeschlüsselt nach der Anzahl der Anmeldungen (in Klammern), betreffen die Ziele des gentechnischen Eingriffs insbesondere eine veränderte Ölqualität (5), weitere Veränderungen von Inhaltsstoffen (5), Verbesserungen bei Erntevorgang, Transport und Verarbeitung (4), Krankheitsresistenz (3), Umweltstress (1) und höheren Ertrag (1).

Die Behörde hat in allen Fällen erklärt, dass der jeweilige Organismus nach den Kriterien der USDA nicht reguliert werden muss. In keinem Fall wurde die Notwendigkeit für eine eingehendere Prüfung festgestellt. Bei diesen Entscheidungen kommen allerdings nur sehr wenige Kriterien zur Anwendung. Untersucht wird lediglich, ob der Organismus oder seine DNA mit bekannten Pflanzenkrankheiten in Verbindung gebracht werden muss oder ob es sich um ein schädliches Unkraut handelt.

Aus den Unterlagen geht hervor, dass die bei diesen Pflanzen eingesetzten Verfahren in der Regel mehrstufig sind und auch die Anwendung von bisheriger Gentechnik umfassen: In einem ersten Schritt der gentechnischen Veränderung werden meist sogenannte „Schrotschussverfahren“ eingesetzt, bei denen der Einbau der zusätzlichen Gene nicht gezielt, sondern zufällig erfolgt. Dieser erste Schritt ist notwendig, um die DNA für

die Nuklease in das Erbgut der Pflanzen einzufügen, auf deren Grundlage dann die Nuklease in den Zellen gebildet werden soll. Das Ergebnis dieses ersten Schrittes sind transgene Pflanzen mit DNA-Bestandteilen von Mikroorganismen und anderen Organismen, bei denen die Gene ungezielt eingefügt und oft in mehreren, auch fehlerhaften Kopien im Erbgut vorliegen. Erst in einem zweiten Schritt wird dann, auf Grundlage der dort eingefügten Genkonstrukte, die Nuklease in den Zellen gebildet, die an bestimmten Orten im Erbgut aktiv werden soll, um die eigentlich gewünschten gentechnischen Veränderungen herbeizuführen.

Welche Eigenschaften die gentechnisch veränderten Pflanzen jeweils genau haben sollen, lässt sich allerdings längst nicht immer sagen. Zum Teil werden gar keine Angaben dazu gemacht, viele relevanten Informationen werden als vertrauliche Geschäftsinformation (Confidential Business Information, CBI) eingestuft. Auch der Stand der Entwicklung ist in der Regel nicht ablesbar – es lässt sich nur feststellen, dass die Anträge im Allgemeinen zu einem frühen Zeitpunkt gestellt werden. Generell ist anzunehmen, dass längst nicht alle der bei APHIS gelisteten Pflanzen tatsächlich auf den Markt kommen werden. Dagegen kündigen DowDuPont (Corteva) und Calyxt an, schon bald in die Vermarktung einzusteigen.

Um die Sinnhaftigkeit und Zweckmäßigkeit des US-Systems zu prüfen, werden die Besonderheiten der neuen Gentechnikverfahren im Detail vorgestellt und ein Überblick über Unterschiede zur konventionellen Züchtung und bisherigen Gentechnikverfahren gegeben.

Grundsätzlich beruht die herkömmliche Züchtung von Pflanzen und Tieren immer auf einer großen genetischen Vielfalt. Diese findet sich in natürlichen Populationen, aber auch in der Gesamtheit der von Menschen gezüchteten Sorten oder Tierrassen. Zusätzlich entstehen auch immer neue Mutationen. Deren Auftreten kann durch bestimmte Reize beschleunigt werden. Um wünschenswerte Eigenschaften zu erzielen, werden die Populationen dann nach entsprechenden Merkmalen durchsucht und geeignete Pflanzen weiter vermehrt und miteinander gekreuzt, um eine optimale Kombination der Erbinformationen zu erreichen. Dabei können die natürlichen Mechanismen der Vererbung und Genregulation nicht übergangen werden.

Dagegen wird bei der neuen und alten Gentechnik versucht, bestimmte Eigenschaften direkt zu verändern. Zusätzliche Veränderungen im Erbgut sind hier nicht erwünscht, sondern gelten als ungewollte Nebeneffekte. Diese Verfahren umgehen die natürlichen Regeln von Evolution, Vererbung und Genregulation und können deswegen auch schneller sein als herkömmliche Züchtung. Da hier mit speziellen Technologien ins Erbgut eingegriffen wird, können sich die Ergebnisse deutlich von denen unterscheiden, die mit der konventionellen Züchtung erreicht werden. Daraus ergibt sich eine besondere Vorsorgepflicht gegenüber einer Freisetzung entsprechender Organismen oder ihrer Verwendung in Lebensmitteln.

Trotz der nur sehr reduzierten Information, die die Anmelder bei APHIS zur Verfügung stellen, werden auch hier die Unterschiede zur konventionellen Züchtung sehr deutlich. Diese werden anhand folgender Beispiele anschaulich gemacht:

- die gleichzeitige Veränderung mehrerer Gene,
- die gleichzeitige Veränderung mehrerer Genkopien,
- die Trennung von Genen, die sonst nur gekoppelt vererbt werden.

Im Rahmen dieser Auswertung wird evident, dass das System der APHIS nicht geeignet ist, die Risiken von Organismen ausreichend zu bewerten, die mit Hilfe von neuer Gentechnik in ihrem Erbgut verändert wurden.

Drei Kategorien von Defiziten können benannt werden:

1. Die Unterschiede zwischen den Gentechnikverfahren und der konventionellen Züchtung werden nicht berücksichtigt. Grundsätzlich hängen die Risiken von gentechnisch veränderten Organismen keineswegs nur davon ab, ob und welche neuen Gene eingefügt werden. Auch die Entfernung von Gen-Kopien und spezielle Muster von genetischen oder epigenetischen Veränderungen können die biologischen Eigenschaften von Pflanzen auf andere Weise verändern, als dies bei der herkömmlichen Züchtung zu erwarten ist. Im Resultat können auf diese Weise Pflanzen und andere Organismen entstehen, die sich nicht nur in ihrer Genstruktur, sondern auch in ihren unerwarteten biologischen Eigenschaften und ihren Risiken deutlich von denen aus konventioneller Züchtung unterscheiden. Dieser Aspekt wird in der Bewertung durch APHIS übersehen.
2. APHIS bewertet nur die beabsichtigten Eigenschaften der Organismen. Die Behörde übersieht, dass Pflanzen, bei denen Methoden wie der Einsatz von Genkanonen mit CRISPR kombiniert werden, auch dann unerwünschte Veränderungen in ihrem Erbgut aufweisen können, wenn sich keine Transgene mehr im Erbgut der Pflanzen nachweisen lassen. Zudem berücksichtigt APHIS ungewollte Veränderungen des Erbguts nicht, die oft durch Fehler beim Einsatz der Gen-Schere verursacht werden. Schließlich übersieht die Behörde, dass unerwartete Effekte sich oft erst in Wechselwirkung mit der Umwelt oder nach mehreren Generationen zeigen.
3. Das System behandelt zu viele relevante Informationen als Betriebsgeheimnis. Eine informierte öffentliche Debatte und eine eingehende Bewertung der Risiken durch unabhängige WissenschaftlerInnen ist unter diesen Bedingungen nur schwer oder gar nicht möglich.

Konkrete Lücken in der Risikobewertung betreffen insbesondere

- › ungewollte Veränderung des Stoffwechsels der Pflanzen,
- › Interaktionen zwischen Genom und Umwelt,
- › Effekte auf der Ebene der nächsten Generationen.

Allgemeine Aussagen, mit denen eine generelle Sicherheit von gentechnisch veränderten Organismen behauptet wird, nur weil in deren Erbgut keine zusätzlichen Gene eingefügt wurden, sind im Ergebnis wissenschaftlich nicht zu halten. Wie groß die Risiken tatsächlich sind, muss vielmehr in jedem einzelnen Fall geprüft werden. Bei Pflanzen, die ein Ausbreitungspotential haben oder entwickeln können, müssen zudem entsprechend wirksame Maßnahmen ergriffen oder Verbote ausgesprochen werden, um eine Ausbreitung zu verhindern.

Im Rahmen der Prüfung der Risiken entsprechender Organismen sollten u.a. folgende Anforderungen berücksichtigt werden:

- › Es muss das gesamte Muster der Genveränderung und dessen Auswirkungen auf der Ebene der Zelle/des Organismus berücksichtigt werden.
- › Falls in einzelnen Fällen angenommen wird, dass sich die Ergebnisse des Genome Editing nicht von den Ergebnissen der herkömmlichen Züchtung unterscheiden lassen, sollten entsprechende Vergleichsdaten verlangt werden. Dazu sollten Daten über das gesamte Genom (Whole Genome Sequencing) vorgelegt werden.

| Zusammenfassung

- › Vergleichende Daten zum Whole Genome Sequencing müssen auch vorgelegt werden, um ungewollte Veränderungen im Erbgut bewerten zu können, die beispielsweise durch Verfahren unter Verwendung der „Genkanone“ (biolistisches Verfahren) oder die Nukleasen selbst verursacht wurden.
- › Es müssen Daten aus sogenannten Omics-Verfahren erhoben werden, um die Veränderungen im Transkriptom, Proteom und Metabolom und damit die Auswirkungen der Genveränderungen auf den Organismus abschätzen zu können.
- › Die gentechnisch veränderten Organismen sollten Stresstests unter kontrollierten Bedingungen unterzogen werden, um insbesondere ihre Reaktionen auf Klimawandel und Krankheitserreger zu testen.
- › Bei den Auswirkungen auf die Umwelt ist das assoziierte Mikrobiom (insbesondere Bodenorganismen) zu berücksichtigen.
- › Bei der Risikoabschätzung des Verzehrs entsprechender Produkte sollten die Auswirkungen auf das Mikrobiom des Verdauungstrakts untersucht werden.
- › Beim Anbau der Pflanzen müssen die Auswirkungen auf das Nahrungsnetz einbezogen werden;
- › ebenso auf Bestäuber, Nützlinge und geschützte Arten.
- › Es müssen wirksame Maßnahmen eingeleitet und Verbote erlassen werden, um einer unkontrollierten Ausbreitung der Organismen in der Umwelt vorzubeugen.

Zudem sollten

- › alle relevanten Genom-Daten, die Aufschluss über die genaue Veränderung geben, öffentlich zugänglich in Datenbanken gesammelt werden;
- › Kennzeichnung vorgeschrieben und Maßnahmen zum Schutz der herkömmlichen Produktion ergriffen werden, um die Wahlfreiheit für ZüchterInnen, LandwirtInnen und VerbraucherInnen zu sichern;
- › staatliche Programme unter Beteiligung der Zivilgesellschaft (insbesondere der Bereiche Natur-, Umwelt- und Verbraucherschutz) zur Festlegung von Zielen in Forschung und Entwicklung sowie zur begleitenden Risikoforschung auf den Weg gebracht werden.



1. Einleitung

Nur wenige Jahre nach der Entwicklung neuer Gentechnikverfahren gibt es bereits eine große Anzahl von Pflanzen und Tieren, an denen mit Genome Editing und insbesondere den Gen-Scheren CRISPR und TALEN gearbeitet wurde. Unter anderem gibt es Publikationen über den Einsatz von CRISPR an Flachs, Gerste, Kartoffeln, Luzerne, Mais, Pappeln, Petunien, Reis, Salat, Soja, Sorghum, Tomaten, Weizen und Zitrusbäumen (Tang & Tang, 2017; Zhang, 2018). Und auch bei Nutztieren wie Schweinen, Kühen, Schafen (Tan et al., 2016), Geflügel (Wang et al., 2017) und Insekten wie Bienen, Fliegen, Mücken und Schmetterlingen werden Gene Editing und Nukleasen erprobt (Taning et al., 2017). Neuere Publikationen zu Tomaten und Weizen zeigen, dass zunehmend komplexe Veränderungen im Fokus stehen, bei denen mehrere Gene gleichzeitig verändert werden (Sanchez-Leon et al., 2018; Zsögön et al., 2018).

In den meisten Fällen werden dabei natürliche Genfunktionen zerstört (knock-out), in einer geringeren Anzahl von Fällen auch Genfunktionen gezielt verändert oder neue Gene eingefügt. Die Erfolgsrate hängt unter anderem von der Pflanzenart und der Größe des Genoms ab (Hilscher et al., 2017; Zhu et al., 2017). Die häufig in Versuchen verwendete Pflanze Ackerschmalwand (*Arabidopsis*) hat ein relativ kleines Erbgut und ist wegen dieser geringeren Komplexität für die Grundlagenforschung besonders geeignet. Landwirtschaftlich relevante Pflanzen wie Mais, Weizen, Raps und Zuckerrübe sind in ihrem Erbgut jedoch wesentlich komplexer und weisen gleich mehrere Chromosomensätze auf.

2018 entschied der Gerichtshof der Europäischen Union, dass die neuen Gentechnikverfahren, die auch Genome Editing genannt werden, der Zulassungspflicht nach dem Gentechnikrecht auch dann unterliegen, wenn keine zusätzlichen Gene eingefügt wurden.¹ Nach dem Urteil des EU-Gerichts gelten Verfahren, die zum Zeitpunkt der Verabschiedung der EU-Richtlinie 2001/18 bereits über längere Zeit angewendet und damals schon als sicher angesehen wurden, dagegen als herkömmliche Züchtung und sind von der Regulierung ausgenommen.

Dieser Bericht befasst sich mit den wissenschaftlichen Gründen, warum Organismen, die mit den neuen Gentechnikverfahren in ihrem Erbgut verändert wurden, auch dann eine Zulassungsprüfung durchlaufen müssen, wenn sich in ihrem Erbgut keine neuen, zusätzlichen Gene finden lassen.

Als Ausgangspunkt werden entsprechende Organismen gewählt, die in den USA bereits durch Behörden in einem Kurzverfahren geprüft wurden. Dafür bietet die US-Landwirtschaftsbehörde (USDA) in ihrer Abteilung „Animal and Plant Health Inspection Service“ (APHIS) ein Programm mit dem Titel „Am I Regulated?“ an.² Hier können Unternehmen und andere Anmelder bereits zu einem frühen Stadium der Entwicklung eine offizielle Einstufung erhalten, ob ihre gentechnisch veränderten Organismen aus der Sicht der USDA einer genaueren Prüfung bedürfen oder nicht.

Im Rahmen dieses Berichts sind diese APHIS-Anmeldungen besonders relevant, weil

- einige dieser Organismen (vor allem Pflanzen) tatsächlich in den nächsten Jahren in den Anbau gelangen und zur Produktion von Futter- oder Lebensmitteln verwendet werden sollen;
- laut Antrag keine zusätzlichen Gene im Erbgut der Organismen zu finden sind. Damit enthält die Liste dieser Anmeldungen eben jene Pflanzen, die auch im Rahmen der Entscheidung des Gerichtshofes diskutiert wurden.

1 <http://curia.europa.eu/juris/document/document.jsf?text=&docid=204387&pageIndex=0&doclang=DE&mode=req&dir=&occ=first&part=1&cid=349350>

2 www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/biotechnology/am-i-regulated/Regulated_Article_Letters_of_Inquiry

2. Genome Editing und Nukleasen – eine kurze Einführung

Mit dem Begriff des Gene Editing oder Genome Editing werden neue Methoden zur gentechnischen Veränderung zusammengefasst, die gezielter als die bisherigen Methoden sein sollen. Derzeit wichtigstes Instrument sind Nukleasen, sogenannte Gen-Scheren.

2.1 Nukleasen

Nukleasen sind Eiweiße (Enzyme), mit denen die DNA (deutsch: Desoxyribonukleinsäure, DNS) aufgetrennt werden kann – man nennt sie deswegen auch DNA-Scheren. Manche DNA-Scheren, wie Zinkfinger-Nukleasen oder Meganukleasen gibt es schon länger, allerdings konnte man die DNA damit nur an relativ wenigen Stellen „schneiden“. In den letzten Jahren wurden verschiedene neue Nukleasen entwickelt, die vielfältiger, schneller und einfacher zu handhaben sind. Die aktuell wohl wichtigste Nuklease ist CRISPR/Cas9, die 2012/2013 erstmals beschrieben wurde. Eine andere, relativ häufig eingesetzte Methode ist TALEN (Transcription Activator-like Effector Nuclease), die schon einige Jahre länger eingesetzt wird.

Diese Nukleasen bestehen generell aus zwei Elementen: zunächst einer Erkennungsregion, mit der bestimmte Strukturen im Erbgut aufgespürt werden können. Ist die spezifische Region gefunden, kommt dort das zweite Element zum Einsatz, ein Enzym, das die Stränge der DNA auftrennen kann. Bei CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) besteht die Erkennungsregion, eine Art Gen-Sonde, aus einer Ribonukleinsäure (RNA) und einem Protein, dem Enzym, das die DNA „schneiden“ kann (siehe Abbildung). Die RNA ist in der Lage, die Bausteine der DNA der Zielregion spiegelbildlich zu erkennen und daran zu binden. Über seine spezifische RNA-Sequenz kann das CRISPR/Cas9-System auf ein Ziel hin „programmiert“ werden. So ist es möglich, Gene stillzulegen, ihre Struktur zu verändern und/oder zusätzliche DNA in das Erbgut einzubauen.

In der Regel soll die Nuklease die beiden Stränge der DNA durchtrennen. Dadurch werden in der Zelle Reparaturmechanismen in Gang gesetzt, die versuchen, die DNA zu reparieren. Im Ergebnis entstehen an der Stelle, an der die Nukleasen wirksam sind, oft veränderte DNA-Strukturen (Mutationen), wodurch die betreffende Gen-Funktion gestört oder blockiert werden kann. So können natürliche Gene stillgelegt werden („knock-out“) oder verändert werden. Mit Hilfe des CRISPR/Cas9-Systems kann auch zusätzliche (im Labor synthetisierte) DNA in das Erbgut der Zellen eingebaut werden („knock-in“). CRISPR/Cas9 bietet auch die Möglichkeit, DNA an mehreren Orten im Erbgut gleichzeitig zu verändern. Die genaue Funktionsweise der Nukleasen wird dabei oft nicht in allen Details verstanden.

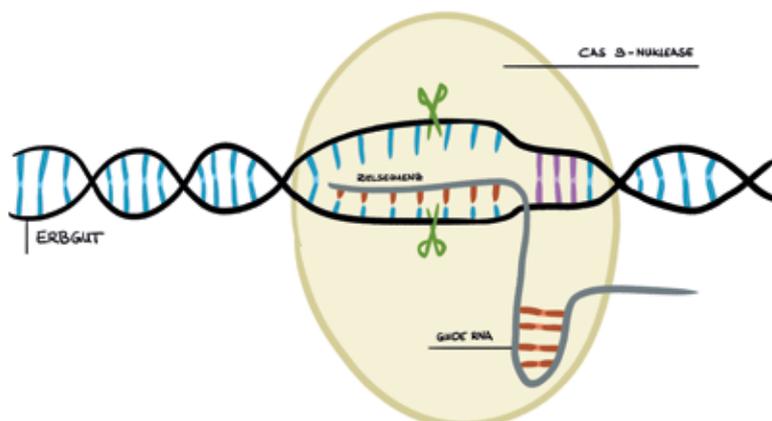


Abbildung 1: Nuklease (DNA-Schere): CRISPR/Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats).
Quelle: Fachstelle für Gentechnik und Umwelt, FGU

| 2. Genome Editing und Nukleasen – eine kurze Einführung

2.2 Varianten des CRISPR-Systems

Je nach Zielsetzung des Experiments wird der Einsatz der Gen-Scheren oft in drei Gruppen untergliedert, wobei man von SDN-Techniken (Site Directed Nucleases – zielgerichtete Nukleasen) spricht:

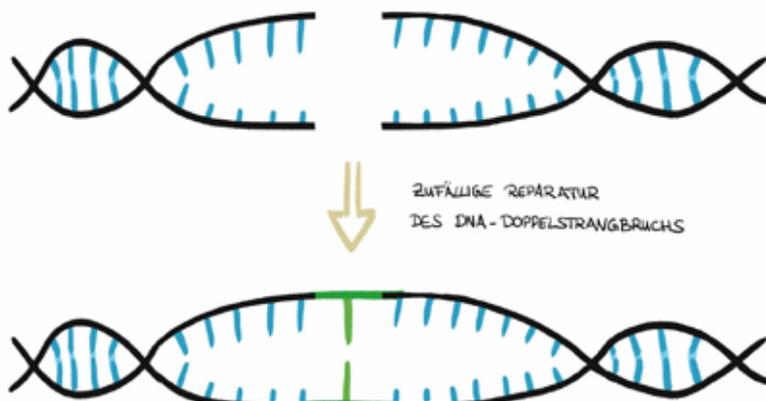


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Veränderung durch SDN-1 (Site-Directed Nuclease-1).

Bei der **SDN-1-Technik** wird der erzeugte Doppelstrangbruch (beide DNA-Stränge werden geöffnet) in den Zellen repariert, wobei jeder Strang in seiner Struktur unterschiedlich verändert wird (non-homologous end joining, NHEJ). Im Ergebnis entstehen so an der jeweiligen Stelle zufällige Mutationen, durch die die jeweiligen Gene deaktiviert werden sollen.

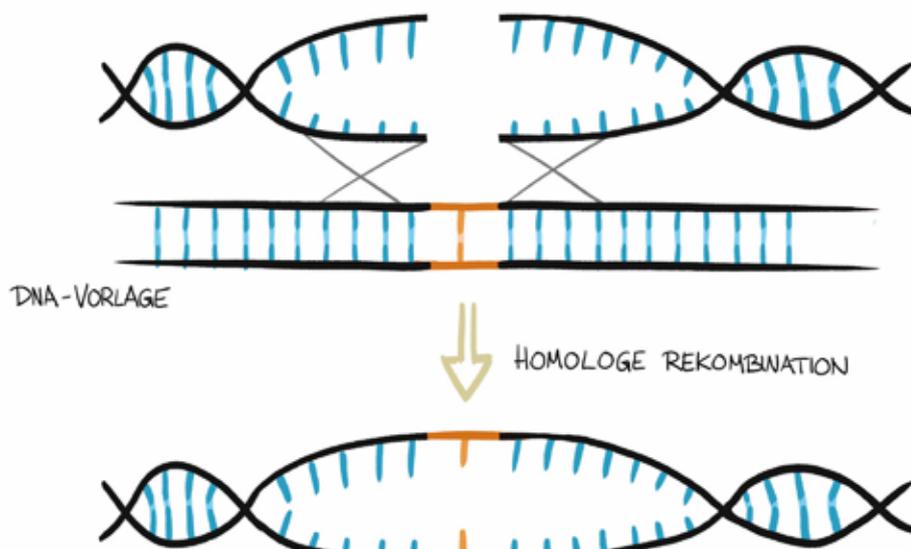


Abbildung 3: Schematische Darstellung der Veränderung durch SDN-2 (Site-Directed Nuclease-2).

| 2. Genome Editing und Nukleasen – eine kurze Einführung

Bei der **SDN-2-Technik** wird zusammen mit der Nuklease auch zusätzliche DNA eingebracht. Die eingebrachte DNA dient als Reparatur-Vorlage (Matrize) und ermöglicht eine homologe (gleichartige) Veränderung beider DNA-Stränge (homology directed repair, HDR). Die Struktur der DNA soll dabei nur in kurzen Abschnitten, aber nicht zufällig, verändert werden. Auch dabei werden oft natürliche Genfunktionen deaktiviert. Die Erfolgsrate ist meist geringer als bei SDN-1.

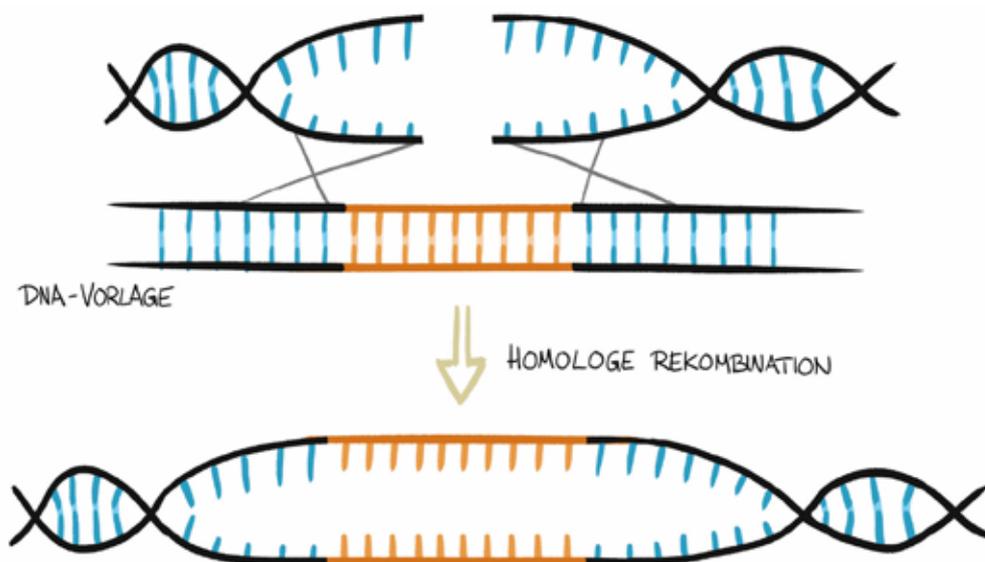


Abbildung 4: Schematische Darstellung der Veränderung durch SDN-3 (Site-Directed Nuclease-3).

Bei der **SDN-3-Technik** können zusammen mit der Nuklease auch zusätzliche (längere) DNA-Abschnitte in die Zellen eingeschleust und so neue biologische Funktionen in den Zellen etabliert werden. Die Erfolgsrate ist oft gering.

Viele Betreiber wollen insbesondere die SDN-1- und 2-Verfahren von der Gentechnik-Regulierung ausnehmen.

| 3. Welche Organismen sind in den USA zur Freigabe registriert?

3. Welche Organismen sind in den USA zur Freigabe registriert?

APHIS hat bis November 2018 über 70 Anträge erhalten, von großen Konzernen ebenso wie von Forschungseinrichtungen und Universitäten. 22 Anträge beziehen sich speziell auf neue Gentechnikverfahren (auch „Genome Editing“). Bei diesen speziellen Anträgen kamen Nukleasen wie CRISPR/Cas und TALEN zum Einsatz, um die jeweiligen Organismen, 21 Pflanzen und einen Speisepilz, in ihrem Erbgut zu verändern. Die im APHIS-Register gelisteten Pflanzenarten sind Ackerpfeffernigkraut, Grüne Borstenhirse, Kartoffeln, Leindotter, Luzerne, Mais, Reis, Soja, Tabak, Tomaten und Weizen.

Die Behörde hat in allen Fällen erklärt, dass der jeweilige Organismus nach den Kriterien der USDA nicht reguliert werden muss. Bei dieser Entscheidung kommen allerdings nur sehr wenige Kriterien zur Anwendung. Untersucht wird lediglich, ob der Organismus oder seine DNA mit bekannten Pflanzenkrankheiten in Verbindung gebracht werden muss oder ob es sich um ein schädliches Unkraut handelt (siehe unten). Unter anderem wird auch in Beiträgen des bekannten Wissenschaftsmagazins *Nature* darauf hingewiesen, dass mit dieser Praxis in den USA keine systematische Erfassung von gentechnisch veränderten Organismen gewährleistet werden kann (siehe Waltz, 2016 und 2018).

Welche Gentechnik-Verfahren kommen zum Einsatz?

Bei den 22 bei APHIS eingereichten Anträgen im Bereich des Genome Editing wurden Nukleasen wie Zinkfinger, Meganukleasen, TALEN und CRISPR/Cas eingesetzt (siehe oben).

Dabei hat der Anteil der Pflanzen, bei denen CRISPR verwendet wird, in den letzten Jahren deutlich zugenommen. Einen Überblick über die jeweiligen Anwendungen bietet Tabelle 2.

Aus den Unterlagen geht hervor, dass die bei diesen Pflanzen eingesetzten Verfahren in der Regel mehrstufig sind und auch die Anwendung von bisheriger Gentechnik umfassen: In einem ersten Schritt der gentechnischen Veränderung werden meist sogenannte „Schrotschussverfahren“, das heißt Verfahren wie die „Genkanone“ (auch biolistisches Verfahren) oder wie die Genübertragung per *Agrobacterium tumefaciens* eingesetzt, bei denen der Einbau der zusätzlichen Gene nicht gezielt, sondern zufällig erfolgt. Dieser erste Schritt ist notwendig, um die DNA für die Nuklease in das Erbgut der Pflanzen einzufügen, auf deren Grundlage dann die Nuklease in den Zellen gebildet werden soll. Das Ergebnis dieses ersten Schrittes sind transgene Pflanzen mit DNA-Bestandteilen von Mikroorganismen und anderen Organismen, bei denen die Gene ungenau und oft in mehreren Kopien in das Erbgut eingefügt wurden.

Erst in einem zweiten Schritt wird dann, auf Grundlage der dort eingefügten Genkonstrukte, die Nuklease in den Zellen gebildet, die an bestimmten Orten im Erbgut aktiv werden soll, um die eigentlich gewünschte gentechnische Veränderungen herbeizuführen.

In einem dritten Schritt werden dann die so veränderten Zellen beziehungsweise Pflanzen züchterisch weiter bearbeitet: In einem Verfahren, das „Segregation“ (Trennung) genannt wird, werden jene Pflanzen selektiert, die nicht diejenigen Genkonstrukte enthalten, die aus dem ersten Schritt der gentechnischen Veränderungen resultieren. Dazu werden die Pflanzen mit herkömmlich gezüchteten Pflanzen gekreuzt. Dabei werden dann unter den Nachkommen diejenigen ausgewählt, die möglichst nur die beabsichtigten Veränderungen in ihrem Erbgut tragen, die durch die Nuklease verursacht wurden.

| 3. Welche Organismen sind in den USA zur Freigabe registriert?

Tabelle 1: Übersicht über häufig zum Einsatz kommende Schritte bei der gentechnischen Veränderung von Pflanzen mit Hilfe von Nukleasen (Beispiel: CRISPR/Cas, SDN-1 und SDN-2)

Schritte des technischen Verfahrens	Zweck	Erwünschtes Ergebnis
(1) Voraussetzung für Editierung schaffen: Einsatz von Genkanone/Agrobacterium tumefaciens	Ungezielte Einfügung von Genkonstrukten, die vor allem der Bildung der Nukleasen dienen	Transgene Pflanzen bzw. Zellen
(2) Editierung: In den Zellen wird das Gen für die Nuklease aktiviert, die eine gezielte Veränderung herbeiführen soll.	Gene der Pflanzen sollen gezielt ausgeschaltet (knock out, SDN-1) oder verändert werden (SDN-2).	Transgene Pflanzen mit zusätzlichen, gezielten Veränderungen in ihrem Erbgut
(3) Segregation	Die transgenen Anteile, die im Rahmen des ersten Schrittes in das Erbgut eingefügt wurden, werden durch Kreuzung und Selektion wieder herausgezüchtet.	Gen-editierte Pflanze, die keine Transgene enthält: Die Veränderungen im Erbgut der Pflanzen sollen auf den Zielort der Nukleasen beschränkt sein.

Dieses mehrstufige Verfahren (Tabelle 1) kam bei den meisten Pflanzen zum Einsatz, die mit Nukleasen in ihrem Erbgut verändert und bei APHIS angemeldet wurden (siehe Tabelle 2). In drei Fällen wurde laut Antrag dagegen ein Verfahren namens „Polyethylenglycol (PEG)-vermittelte DNA-Aufnahme“ angewandt. Bei diesem Verfahren, das an Zellen mit bestimmten Eigenschaften durchgeführt werden kann, ist die Nuklease nur vorübergehend (transient) in den Zellen vorhanden, ohne dass zusätzliche Gene eingebaut werden sollen.³ In sieben weiteren Fällen wurden keine genauen Angaben zum Verfahren gemacht oder diese als „Confidential Business Information“ (CBI) klassifiziert.

Welche Anmeldungen wurden freigegeben?

Bisher wurde allen entsprechenden Anträgen stattgegeben, die an die Behörde gerichtet wurden. Für die Freigabe der USDA war entscheidend, dass die jeweiligen Genkonstrukte aus Schritt (1) der gentechnischen Veränderung (siehe Tabelle 1) nicht mehr in den Pflanzen nachweisbar sind. In diesen Fällen geht die Behörde davon aus, dass keine vertiefte Risikoprüfung notwendig sei, weil die Pflanzen keine zusätzliche DNA von bekannten Verursachern von Pflanzenkrankheiten aufweisen. Dabei beschränkt sich die Abschätzung nur auf beabsichtigte Eigenschaften (Trait). Unbeabsichtigte Effekte werden nicht berücksichtigt.

Der erste Bescheid, eine Art Präzedenzfall, stammt aus dem Jahr 2011: Die Firma Collectis (jetzt Calyxt) stellte im September 2011 einen Antrag, in dem es grundsätzlich um die Einstufung von Gentechnik-Pflanzen ging, die mithilfe von Nukleasen (in diesem Fall Meganukleasen) in ihrem Erbgut verändert wurden. Die Antwort von APHIS erfolgte prompt: Schon im Dezember 2011 entschied die Behörde, dass die Organismen in der Regel keiner Regulierung unterliegen, wenn keine zusätzlichen Gene eingefügt werden. Tabelle 2 gibt einen Überblick über die seitdem von der Regulierung ausgenommenen Pflanzen sowie einen Speisepilz, die alle mit Hilfe von Nukleasen in ihrem Erbgut manipuliert wurden.

3 PEG: Polyethylenglycol-vermittelte DNA-Aufnahme. Hier wird DNA in Pflanzenzellen (Protoplasten) durch die Zellwand aufgenommen, ein Verfahren, das bei bestimmten Pflanzenarten wie Tabak und Kartoffeln, aber auch Pilzen erfolgreich angewendet werden kann. Dabei kann die zusätzliche DNA nur vorübergehend in den Zellen vorhanden sein, ohne in das Erbgut eingebaut zu werden. Trotzdem können entsprechende Gen-Produkte wie Enzyme, in diesem Falle Nukleasen, gebildet werden. Diese führen dann die gewünschten Veränderungen im Erbgut herbei, bevor die Zellen die DNA und auch die Enzyme wieder abbauen. Man spricht hier von einer transienten (vorübergehenden) Gen-Aktivität, die trotzdem zu vererbbarer Veränderung im Erbgut führt.

| 3. Welche Organismen sind in den USA zur Freigabe registriert?

Tabelle 2: Von USDA/APHIS deregulierte Organismen, die mit Hilfe von Nukleasen in ihrem Erbgut verändert wurden. (Abkürzungen: CBI: Confidential Business Information; PEG: Die DNA wird unter Anwendung von Polyethylenglycol (PEG) in die Zellen eingeschleust; Erklärung Schritt 1 und Schritt 2: siehe Tabelle 1)

	Datum des Be-scheids	Art	Anmelder	Technik/Schritte (1), (2)	Eigenschaft
1	16.12.2011	Unbestimmt	Collectis (jetzt Calyxt)	(1) nicht dargelegt (2) Meganucleases	Nicht dargelegt
2	8.3.2012	Mais	Dow AgroSciences (jetzt DowDuPont bzw. Corteva Agriscience)	(1) nicht definiert (2) Zinkfinger-Nuklease	Verringerter Gehalt an Phytat
3	28.8.2014	Kartoffel	Collectis (jetzt Calyxt)	(1) PEG (2) TALEN	Unbestimmt / CBI
4	5.5.2015	Soja	Collectis (jetzt Calyxt)	(1) CBI (2) TALEN	Veränderte Fettsäure-zusammensetzung
5	20.5.2015	Soja	Collectis (jetzt Calyxt)	(1) CBI (2) TALEN	Veränderte Fettsäure-zusammensetzung
6	22.5.2015	Reis	Iowa State University	(1) nicht dargelegt (2) TALEN	Verbesserte Resistenz gegen bacterial blight (Weißblättrigkeit)
7	12.11.2015	Mais	Agrivida	(1) CBI (2) Meganuklease	Veränderte Stärke-zusammensetzung
8	15.4.2016	Speisepilz (Zucht-Champignon)	Penn State University	(1) PEG (2) CRISPR	Weniger Bräunung/ bessere Lagerung
9	18.4.2016	Mais	DuPont Pioneer (jetzt DowDuPont bzw. Corteva Agriscience)	(1) Genkanone (2) CRISPR	Veränderte Zusammensetzung der Stärke („waxy corn“) (Die genaue Art der Genveränderung ist CBI.)
10	15.9.2016	Kartoffel	2.12.2016	Kartoffel	Simplot
11	2.11.2016	Weizen	Calyxt	(1) Genkanone (2) TALEN	Mehltauresistenz
12					
13	7.4.2017	Grüne Borstenhirse	Danforth Center	(1) Agrobact. tumefaciens (2) CRISPR	Veränderter Blühzeitpunkt (Erhöhung des Ertrags)
14	29.8.2017	Leindotter	Yield 10	(1) Agrobact. tumefaciens (2) CRISPR	Veränderte Ölqualität (Genauer Gen- und Phänotyp sind CBI.)
15	25.9.2017	Luzerne/ Alfalfa	Calyxt	(1) nicht dargelegt (2) TALEN	Verbesserte Verdaulichkeit (Die genaue Art der Genveränderung ist CBI.)
16	16.10.2017	Soja	USDA	(1) Agrobact. tumefaciens (2) CRISPR	Knock-out zweier Gene, von denen vermutet wird, dass sie mit Stress- und Salztoleranz zu tun haben
17	29.12.2017	Tabak	Universität North Carolina	(1) Agrobact. tumefaciens (2) Meganucleasen	Verringerter Nikotingehalt

| 3. Welche Organismen sind in den USA zur Freigabe registriert?

Datum des Be-scheids	Art	Anmelder	Technik/Schritte (1), (2)	Eigenschaft	
18	16.1.2018	Mais	Pioneer (jetzt DowDuPont bzw. Corteva Agriscience)	(1) Genkanone (2) CRISPR	Resistenz gegen die Blattfleckenkrankheit mit Einschleusung einer Reparaturvorlage (SDN-2)
19	20.3.2018	Weizen	Calyxt	(1) nicht dargelegt (2) TALEN	Verbesserter Nährwert (Genauer Gen- und Phänotyp sind CBI.)
20	14.5.2018	Tomate	Universität von Florida	(1) Agrobact. tumefaciens (2) CRISPR	Leichtere Ernte
21	8.6.2018	Acker- Pfen-nigkraut/ Ackertäschel	Illinois State Uni-versity	(1) Agrobact. tumefaciens (2) CRISPR	Veränderte Ölqualität (Genauer Gen- und Phänotyp sind CBI.)
22	7.9.2018	Leindotter	Yield 10	(1) Agrobact. tumefaciens (2) CRISPR	Veränderte Ölqualität (erhöhte Anzahl von veränderten Genen) (Genauer Gen- und Phänotyp sind CBI.)

Wie die Tabelle zeigt, hat der Anteil der Pflanzen, bei denen CRISPR zum Einsatz kommt, in den letzten Jahren deutlich zugenommen. Die zweitwichtigste Methode des Genome Editing ist TALEN, eine Nuklease, auf deren Anwendung sich insbesondere Calyxt spezialisiert hat. In den meisten Fällen wurden, wie erwähnt (Tabelle 1), zusätzlich zu den neuen Gentechnikverfahren auch die „Schrotschussverfahren“ der bisherigen Gentechnik angewandt. Die Nukleasen scheinen in fast allen Fällen dazu zu dienen, natürliche Gene auszuschalten (SDN-1). In mindestens einem Fall (Nr. 18, Mais) wurde zudem auch eine Vorlage für ein Reparaturen eingeschleust (SDN-2). Dabei handelt es sich nicht um ein Transgen, da es nach dem Vorbild einer DNA-Sequenz synthetisiert wurde, die von der selben Art stammt.

Aufgeschlüsselt nach der Anzahl der Anmeldungen (in Klammern), betreffen die Ziele des gentechnischen Eingriffs insbesondere eine veränderte Ölqualität (5), weitere Veränderungen von Inhaltsstoffen (5), Verbesserungen bei Erntevorgang, Transport und Verarbeitung (4), Krankheitsresistenz (3), Umweltstress (1) und höheren Ertrag (1).

Welche Eigenschaften die gentechnisch veränderten Pflanzen jeweils genau haben sollen, lässt sich allerdings längst nicht immer sagen. Zum Teil werden gar keine Angaben dazu gemacht, die genaue Beschreibung der Zielgene ist in den meisten Fällen als vertrauliche Geschäftsinformation (Confidential Business Information, CBI) eingestuft.

Auch der Stand der Entwicklung ist in der Regel nicht ablesbar – es lässt sich nur feststellen, dass die Anträge im Allgemeinen zu einem frühen Zeitpunkt gestellt werden. So schreiben die Anmelder des USDA-Projektes zur Entwicklung einer Soja mit zwei Knock-out-Genen (Nr. 16), dass dieses noch in einer frühen Versuchsphase sei. Laut Antrag will man zunächst den Effekt der stillgelegten Gene untersuchen. Generell ist anzunehmen, dass längst nicht alle der bei APHIS gelisteten Pflanzen tatsächlich auf den Markt kommen werden.

Dagegen kündigen DowDuPont (Corteva) und Calyxt in ihren Verlautbarungen gegenüber Investoren an, schon bald bestimmte Pflanzen (u.a. „waxy corn“ und „high oleic soybean“) auf den Markt zu bringen. Tatsächlich hat Calyxt 2018 in den USA mit dem Anbau von Sojabohnen begonnen, die in ihrem Ölgehalt verändert sind, und will 2019 die Anbaufläche auf knapp 14.000 Hektar ausweiten.⁴

4 <https://www.businesswire.com/news/home/20190122005964/en/Calyxt-Doubles-2018-High-Oleic-Soybean-Acres>

4. Unterschiede zur konventionellen Züchtung

Nachfolgend wird ein Überblick über einige grundlegende Unterschiede zwischen den neuen gentechnischen Verfahren und der konventionellen Züchtung gegeben. Diese Unterschiede werden anschließend am Beispiel der in Tabelle 2 gelisteten Anmeldungen diskutiert.

4.1 Nicht jede genetische Veränderung ist Gentechnik

Wie erwähnt, gelten nach dem Urteil des EU-Gerichts Verfahren, die zum Zeitpunkt der Verabschiedung der EU-Richtlinie 2001/18 bereits über längere Zeit angewendet und damals schon als sicher angesehen wurden, als herkömmliche Züchtung. Zu diesen herkömmlichen Verfahren zählt auch die Mutationszüchtung, die spontane oder provozierte (induzierte) Veränderungen im Erbgut nutzt. Diese Pflanzen gelten laut dem Text der Richtlinie 2001/18 zwar auch als genetisch modifizierte Organismen (GMOs). Doch ist dieser Begriff in seiner Bedeutung so allgemein, dass er auf jegliche Form von Züchtung angewandt werden könnte. Davon zu unterscheiden sind dagegen neuere Verfahren zur gentechnischen Veränderung, mit denen die natürlichen Mechanismen der Genregulierung und Vererbung umgangen werden und die in der EU einer Zulassungspflicht unterliegen.

Grundsätzlich beruht die herkömmliche Züchtung von Pflanzen und Tieren immer auf einer großen genetischen Vielfalt. Diese findet sich in natürlichen Populationen, aber auch in der Gesamtheit der von Menschen gezüchteten Sorten oder Tierrassen. Zusätzlich entstehen auch immer neue Mutationen. Deren Auftreten kann durch bestimmte Reize beschleunigt werden. Um wünschenswerte Eigenschaften zu erzielen, werden die Populationen dann nach entsprechenden Merkmalen durchsucht und geeignete Pflanzen weiter vermehrt und miteinander gekreuzt, um eine optimale Kombination der Erbinformationen zu erreichen. Dabei können die natürlichen Mechanismen der Vererbung und Genregulation nicht übergangen werden.

Speziell bei Pflanzen können zusätzliche „Tricks“ angewandt werden, um die biologische Vielfalt zusätzlich zu erhöhen. So wird beispielsweise Saatgut in Kontakt mit Stoffen (wie bestimmten Chemikalien) gebracht, die die natürliche Mutationsrate beschleunigen sollen. Man spricht dann von Mutagenese-Züchtung. Dabei reagieren die Pflanzenzellen auf unspezifische externe Stressfaktoren. Derartige Verfahren kommen bereits seit etwa Mitte des 20. Jahrhunderts in der konventionellen Züchtung zum Einsatz.

In ihrer Gesamtheit sind die Ergebnisse der Mutagenese-Züchtung nicht völlig zufällig – sie folgen vielfältigen Mechanismen der Evolution, der Vererbung und der Genregulation, die beispielsweise dafür sorgen, dass sich bestimmte Genorte häufiger verändern als andere. Im Ergebnis führen sie zu einer großen genetischen Vielfalt, bestimmte Eigenschaften werden aber nicht direkt herbeigeführt. Erst durch Kreuzung (Paarung) und Selektion (Auswahl) werden diejenigen Pflanzen und Tiere aus der Vielfalt herausgezüchtet, bei denen die erwünschten Eigenschaften deutlich genug ausgeprägt sind. Dieses Verfahren ist zeitaufwändig und wird von vielen Kontrollen und Auswahlprozessen durch die Züchter begleitet. Unerwünschte Eigenschaften werden in der Regel schon während des Züchtungsprozesses aussortiert.

Dagegen wird bei der neuen und alten Gentechnik versucht, bestimmte Eigenschaften direkt zu verändern. Zusätzliche Veränderungen im Erbgut sind hier nicht erwünscht, sondern gelten als ungewollte Nebeneffekte. Diese Verfahren umgehen die natürlichen Regeln von Evolution, Vererbung und Genregulation und können deswegen auch schneller sein als herkömmliche Züchtung. Da hier mit speziellen Technologien ins Erbgut eingegriffen wird, können sich die Ergebnisse deutlich von denen unterscheiden, die mit der konventionellen Züchtung erreicht werden. Daraus ergibt sich eine besondere Vorsorgepflicht gegenüber einer Freisetzung entsprechender Organismen oder ihrer Verwendung in Lebensmitteln (siehe unten).

| 4. Unterschiede zur konventionellen Züchtung

Tabelle 3: Einige Unterschiede zwischen Züchtung/Mutagenese und den neuen Gentechnikverfahren (überarbeitet nach Vorlage von Testbiotech, www.testbiotech.org/node/2232)

Kriterium	Züchtung/Mutagenese	Neue Gentechnik/Genome Editing
Zielsetzung	Zufallsmutagenese oder Mutationszüchtung erhöht die Bandbreite genetischer Varianten im Genom der Pflanzen innerhalb kürzerer Zeiträume, als dies normalerweise der Fall ist. Die erhöhte genetische Vielfalt ist dann der Ausgangspunkt für die Selektion, auf die weitere Kreuzungen und Selektion folgen.	Genome Editing wird dazu verwendet, um nur ganz bestimmte Veränderungen im Erbgut herbeizuführen.
Eingriffstiefe	Die Verfahren zur konventionellen Züchtung arbeiten mit der ganzen Zelle oder dem ganzen Organismus.	Mit den Verfahren greift man direkt auf der Ebene der DNA ein. Dazu wird zusätzliches, im Labor synthetisiertes biologisches Material in die Zellen eingeführt (DNA, RNA, Enzyme).
Natürliche Genregulation	Das Ergebnis der Mutagenese ist von verschiedenen Faktoren abhängig. Dazu zählen die Art der mutationsauslösenden Reize, aber auch zelleigene Mechanismen wie der Genort, Reparaturmechanismen und andere Elemente der Genregulation.	Die gewünschten Effekte können unter Umgehung der natürlichen Genregulation und der Regeln der Vererbung erzielt werden.
Muster der Genveränderung im Erbgut	Speziell Pflanzen haben oft ein redundantes Genom, das heißt, Gen-Informationen wiederholen sich. Von zufälligen Mutationen sind meistens nicht alle Gen-Kopien auf einmal betroffen.	Genome Editing verursacht in der Regel multiple Veränderungen: So werden in der Regel alle Gensequenzen/Gen-Cluster mit der gleichen Gen-Informationen auf einmal verändert.
Epigenetik	Im Erbgut existieren besonders konservierte Bereiche, in denen natürlicherweise keine oder nur selten Zufallsmutationen stattfinden.	Auch besonders geschützte Bereiche sind der Veränderung durch CRISPR/Cas zugänglich. Dabei kann die Effizienz aber jeweils unterschiedlich sein.
Reparaturprozesse im Erbgut	Oft bleiben im Erbgut auch Versionen der ursprünglichen korrekten Gen-Versionen bestehen. Diese können als Vorlage für Reparaturprozessen dienen.	Wird eine durch CRISPR/Cas veränderte DNA durch die zelleigenen Reparaturmechanismen wieder in den ursprünglichen Status zurückversetzt, erkennt die Nuklease ihre Zielregion erneut und wird dort solange aktiv, bis die ursprüngliche Struktur der DNA zerstört ist.
Mehrfache Genveränderungen	Bei der Mutagenese werden in der Regel mehrere Genorte auf einmal verändert. Die Summe der genetischen Veränderung ist aber nicht spezifisch.	Genom-Editierung ermöglicht es, mehrere, gleiche oder auch unterschiedliche Gene auf einmal zu verändern. Solche Veränderungen können zu spezifischen, neuen Genkombinationen führen, die sonst nicht auftreten würden. Auch wenn die einzelnen Veränderungen dabei nur kleine Abschnitte der DNA umfassen, können diese in der Summe zu erheblichen Veränderungen in den Eigenschaften der Organismen führen.
Unterscheidbarkeit	Die Pflanzen können unter Umständen durch Analyse bestimmter Genabschnitte identifizierbar sein, das Muster der genetischen Veränderung ist aber nicht spezifisch.	Die Pflanzen sind oft am speziellen Muster (Fingerabdruck) der gentechnischen Veränderungen erkennbar.

| 4. Unterschiede zur konventionellen Züchtung

4.2 Bedeutung natürlicher Mechanismen der Genregulation und Vererbung

Dass eine Gleichsetzung zwischen herkömmlicher Mutagenese und Gentechnik wissenschaftlich irreführend ist, wird am Beispiel der Mechanismen der natürlichen Genregulation besonders deutlich. Diese können als eine Art natürliche Leitplanke von Veränderungen im Erbgut angesehen werden, die im Rahmen der herkömmlichen Züchtung nicht überschritten werden können:

- Die Epigenetik (die an der Genregulation ganz wesentlich beteiligt ist) kann u.a. dafür sorgen, dass die DNA in bestimmten Bereichen der Chromosomen besonders fest verpackt und damit weniger aktiv ist. Das dabei beteiligte Chromatin hat auch Auswirkungen auf die Entstehung von Mutationen. Diese treten in Abhängigkeit von der strukturellen Beschaffenheit der DNA in manchen Regionen seltener als in anderen auf (Makova & Hardison, 2015). Diese Effekte machen sich zum Teil auch beim Einsatz der Nukleasen bemerkbar (Cho et al., 2017; Daer et al., 2017).
- Es ist bekannt, dass bei Rekombinationen, die bei einer Kreuzung von Pflanzen entstehen, die jeweiligen Veränderungen in bestimmten Hotspots liegen, während in anderen Regionen kaum Rekombinationen stattfinden (Choi et al., 2018; Si et al., 2015). Die Wahrscheinlichkeit für eine bestimmte Neukombination von Genen auf dem Wege der sexuellen Kreuzung kann deswegen, je nach Genort, sehr unterschiedlich sein.
- Man kann auch bei der Teilung von Zellen beobachten, dass es Reparatur- und Steuerungsprozesse gibt, die das Muster der spontanen oder induzierten Mutationen beeinflussen. Beispielsweise werden bestimmte Genorte häufiger repariert als andere (Belfield et al., 2018).
- Pflanzen können Chromosomen oder bestimmte Genabschnitte vervielfältigen. Sie tragen sozusagen „Sicherheitskopien“ im Erbgut, das heißt, viele Gensequenzen finden sich gleich mehrfach in den Zellen. Geht eine verloren, kann die Zelle die Kopien weiterhin nutzen (siehe z.B. Semon & Wolfe, 2007).
- Zu den zelleigenen Anpassungsmechanismen gehören auch sogenannte „springende Gene“ (Transposons), durch die Genabschnitte innerhalb des Erbgutes an eine andere Stelle kopiert werden können. Dabei gibt es unterschiedliche Mechanismen, die die Häufigkeit und den Ort des Einbaus der Gene beeinflussen können – je nach Art des Transposons (siehe z.B. Vicient & Casacuberta, 2017).
- Treten Mutationen auf, hängt deren Wirkung oft vom genetischen Hintergrund (dem Erbgut in seiner Gesamtheit) ab (siehe Chandler et al., 2013; Mullis et al., 2018). So können durch die Genregulation und das Zusammenspiel der Gene und ihrer Kopien bestimmte Effekte abgeschwächt oder verstärkt werden.

Die neuen Gentechnikverfahren können diese natürlichen Mechanismen der Genregulation ganz oder teilweise umgehen. Die zugrundeliegenden Mechanismen sind somit grundsätzlich verschieden von denen der konventionellen Züchtung.⁵ In der Folge können sich auch deren Ergebnisse und Risiken deutlich von denen unterscheiden, die mit herkömmlicher Züchtung erzielt werden (siehe unten). Interessanterweise unterscheiden auch die Konzerne auf der Ebene der technischen Beschreibung klar zwischen konventioneller (Mutations-) Züchtung und Genome Editing. Anders als in der Öffentlichkeit oft dargestellt, gehört beispielsweise für Monsanto die Verwendung von CRISPR/Cas eindeutig in den Bereich der Gentechnik und nicht in den der Züchtung. So heißt es in Patentanmeldungen von Monsanto (siehe z.B. WO2017044744, Seite 53): „Beispiele für Gentechnik sind Meganukleasen, Zinkfinger-Nukleasen, TALENs und CRISPR/Cas 9 (...).

5 Zu den Unterschieden siehe auch Hintergrundpapier der Fachstelle Gentechnik und Umwelt (FGU): <https://fachstelle-gentechnik-umwelt.de/informationen/>

| 4. Unterschiede zur konventionellen Züchtung

Eine Pflanze, wie sie im Patent beschrieben ist, kann aber auch zusätzlicher Züchtung unterzogen werden, wobei bekannte Methoden wie Abstammungszüchtung, wiederholte Auswahl, Massenselektion und Mutationszüchtung genutzt werden können.“ (Übersetzung Testbiotech)

4.3 Anmeldungen bei APHIS zeigen Unterschiede zur Züchtung

Trotz der nur sehr reduzierten Information, die die Anmelder bei APHIS zur Verfügung stellen, werden auch hier die Unterschiede zur konventionellen Züchtung sehr deutlich. Diese Unterschiede können hier anhand folgender Beispiele anschaulich gemacht werden:

- › die gleichzeitige Veränderung mehrerer Gene,
- › die gleichzeitige Veränderung mehrerer Genkopien,
- › die Trennung von Genen, die sonst nur gekoppelt vererbt werden.

Die gleichzeitige Veränderung mehrerer, unterschiedlicher Gene (Multiplexing)

Die Firma Yield 10 will Leindotter (Tabelle 2, Nr. 22) mit Hilfe von CRISPR/Cas an drei Genen (insgesamt 18 Genorte) verändern, um den Ölgehalt der Pflanzen gezielt zu verändern. Das hier angewandte Verfahren, bei dem zusammen mit der Gen-Schere CRISPR/Cas mehrere, unterschiedliche ‚Guide RNAs‘ eingesetzt werden, wird auch Multiplexing genannt. Es ermöglicht die gleichzeitige Veränderung mehrerer Gene und so die Herbeiführung von Genkombinationen, die in der herkömmlichen Züchtung nicht oder kaum erreichbar wären. Entsprechende Ergebnisse können auch erzielt werden, wenn die Schritte des Genome Editing mehrfach (nacheinander) angewandt werden. Die Wahrscheinlichkeit, dass durch herkömmliche Mutagenesezüchtung diese Genorte zufällig gleichzeitig verändert werden, ist dagegen sehr gering, beziehungsweise ist dies nahezu unmöglich.

Im Ergebnis entsteht ein Muster der Genveränderung, ein unverwechselbarer Fingerabdruck im Erbgut, eine Art Signatur, wie sie durch herkömmliche Züchtung nicht zustande kommt. Und obwohl keine zusätzlichen Gene eingeführt werden, sind die Auswirkungen auf den gesamten Stoffwechsel und die biologischen Eigenschaften der Pflanzen erheblich.

Die gleichzeitige Veränderung von mehreren Kopien eines Gens bzw. einer Gen-Familie

Dies trifft für mehrere der bei APHIS angemeldeten Organismen zu. Da viele Nutzpflanzen mit einem sehr großen Genom ausgestattet sind, bei dem die Chromosomensätze in mehreren Kopien vorliegen, existieren dort in der Regel auch mehrere Kopien eines Gens. So haben beispielsweise Kartoffeln vier und Weizen sechs oder acht Chromosomensätze. Man spricht dann von Tetra-, Hexa- oder Oktaploidie. Die Anzahl der Genkopien hängt dabei nicht nur von der Anzahl der Chromosomensätze ab. In vielen Fällen existieren zudem auch sogenannte Gen-Cluster, das heißt, es liegen mehrere Kopien bestimmter Genabschnitte innerhalb der Chromosomen vor, die sich mit herkömmlicher Züchtung oft kaum beeinflussen lassen (siehe z.B. Cho et al., 2017; Sanchez-Leon et al., 2018).

Nukleasen, die wie CRISPR oder TALEN auf bestimmte Regionen im Erbgut programmiert sind, sollen in der Regel alle Gene mit der gleichen (oder ähnlichen) Struktur auf einmal verändern. Werden die Gene repariert, kann die „Gen-Schere“ das jeweilige Gen wiedererkennen und es erneut verändern. Damit entfallen also alle „Sicherheitskopien“ auf einmal: ein Effekt, der mit herkömmlicher Züchtung oft nur schwer oder gar

| 4. Unterschiede zur konventionellen Züchtung

nicht erreichbar wird. Zu diesem Sachverhalt schreiben beispielsweise Dünsing et al. (2018): „*Genome Editing kann dazu verwendet werden, ein bestimmtes Gen zu verändern. Jedoch liegen bei Pflanzen nur wenige Gene nur in einer Kopie vor. (...) Genome Editing ist dazu in der Lage, Gene auszuschalten, die in mehreren Kopien vorliegen. Immer dann, wenn in einer Pflanze mehrere Kopien eines Gens auf dieselbe Weise ausgeschaltet wurden, ist es also fast sicher, dass Genome Editing verwendet wurde.*“ (Übersetzung durch Testbiotech)

Beispiele in den vorliegenden Anmeldungen sind der langsamer bräunende Champignon (Tabelle 2, Nr. 8) oder Kartoffeln der Firmen Calyxt (Tabelle 2, Nr. 10) und Simplot (Tabelle 2, Nr.12), bei denen die Lagerfähigkeit erhöht wurde. Auch beim mehltresistenten Weizen von Calyxt (Tabelle 2, Nr. 11), dem nikotinarmen Tabak der Universität von North Carolina (Tabelle 2, Nr. 17) und Leindotter mit verändertem Ölgehalt (Tabelle 2, Nr. 14 und 22) müssen nach Angaben der EntwicklerInnen mehrere Kopien eines Gens an verschiedenen Orten gleichzeitig verändert werden. Auch hier ist zu erwarten, dass sich das Muster der Genveränderung von den Ergebnissen der herkömmlichen Züchtung unterscheidet.

Die Trennung von miteinander gekoppelten Eigenschaften

Im Falle der Tomate der Universität Florida zeigt sich ein weiterer interessanter Unterschied: Das hier veränderte Gen, das dafür sorgen soll, dass sich Tomaten leichter vom Stängel lösen lassen, war laut Anmelder bereits seit einigen Jahren bekannt. Es gab auch bereits eine zufällige Mutation in diesem Bereich, allerdings ging das Auftreten dieser Mutation auch mit einer Veränderung der Form der Tomate einher, die nur bei manchen Sorten erwünscht ist. Es gelang den ZüchterInnen bisher nicht, diese Eigenschaften zu trennen, weil sie in enger Nachbarschaft auf den Chromosomen liegen und deswegen in Kombination vererbt werden. Wie Lin et al. (2014) zeigen, führt die Kopplung von genetischen Eigenschaften nach der Kreuzung von Pflanzen sehr oft zu einseitigen Vererbungsmustern. Bei der Tomaten sind davon beispielsweise rund 25 Prozent aller Gene betroffen. Laut Dünsing et al. (2018) ist die Trennung gekoppelter genetischer Eigenschaften ein wesentlicher Unterschied zur konventionellen Züchtung: „*Ein wichtiger Unterschied ist, dass einige Gene bei Pflanzen auf Abschnitten von Chromosomen liegen, die sonst kaum oder gar nicht neu kombiniert werden. (...) Genome Editing ermöglicht es, dass alle Gene entsprechend verändert werden können.*“ (Übersetzung durch Testbiotech; siehe dazu auch Lin et al., 2014)

4.4 APHIS ignoriert die Unterschiede zwischen Züchtung und Gentechnik

Die Bewertung der APHIS, dass sich einzelne der in den Anmeldungen beschriebenen Genveränderungen auch aus spontanen Mutationen ergeben könnten, ist nicht offensichtlich falsch. Aber bezogen auf das Muster der Genveränderung insgesamt, wie zum Beispiel im Fall der zweiten Anmeldung zur Camelina aus dem Jahr 2018 (Tabelle 2, Nr. 22) gleich 18 Allelen ist ein Unterschied zu den Ergebnissen der herkömmlichen Züchtung sehr deutlich. Die Wahrscheinlichkeit, dass durch herkömmliche Mutagenesezüchtung diese Genorte zufällig gleichzeitig verändert werden, ist sehr gering, beziehungsweise ist dies nahezu unmöglich.

APHIS übersieht auch, dass Pflanzen, bei denen Methoden wie der Einsatz von Genkanonen mit CRISPR kombiniert werden, auch dann unerwünschte Veränderungen in ihrem Erbgut aufweisen können, wenn sich keine Transgene mehr im Erbgut der Pflanzen nachweisen lassen. Bei den auf der ersten Stufe der Gentechnikverfahren eingesetzten Schrotschuss-Verfahren (siehe Tabelle 1) können oft erhebliche Veränderungen des Erbgutes (wie Deletionen oder Inversionen) ausgelöst werden, die unentdeckt bleiben, wenn man nur nach

| 4. Unterschiede zur konventionellen Züchtung

den zusätzlich eingebauten Genkonstrukten sucht. Um derartige unerwünschte Genveränderungen zu finden, müsste man das gesamte Genom der Gentechnik-Pflanzen systematisch durchsuchen („Whole Genome Sequencing“) und das Ergebnis mit dem Ausgangsgenom der Pflanzen vergleichen. Auch epigenetische Veränderungen sind hier relevant (Jupe et al., 2019) und müssten untersucht werden. Derartige Anforderungen stellt APHIS aber nicht.

Zudem berücksichtigt APHIS ungewollte Veränderungen des Erbguts nicht, die oft durch Fehler beim Einsatz der Gen-Schere verursacht werden (siehe zum Beispiel Kosicki et al., 2018). Diese Veränderungen kommen unter anderem dadurch zustande, dass die Nuklease an falschen Genorten (off-target) Veränderungen herbeiführt oder am Zielgen (on-target) ungewollt zusätzliche Gene eingefügt werden (siehe unten). Auch diese ungewollten Veränderungen können sich in ihrem Muster deutlich von dem unterscheiden, was bei „zufälligen“ Mutationen zu erwarten wäre, und somit Auswirkungen auf die Eigenschaften der Pflanzen haben, die genauer untersucht werden müssten.⁶

Grundsätzlich hängen die Risiken von gentechnisch veränderten Organismen keineswegs nur davon ab, ob und welche neuen Gene eingefügt werden. Auch die Entfernung von Gen-Kopien und spezielle Muster von genetischen oder epigenetischen Veränderungen können die biologischen Eigenschaften von Pflanzen auf andere Weise verändern, als dies bei der herkömmlichen Züchtung zu erwarten ist. Im Resultat können auf diese Weise Pflanzen und andere Organismen entstehen, die sich nicht nur in ihrer Genstruktur, sondern auch in ihren unerwarteten biologischen Eigenschaften und ihren Risiken deutlich von denen aus konventioneller Züchtung unterscheiden. Dieser Aspekt wird in der Bewertung durch APHIS übersehen.

Tabelle 4: Einige Unterschiede zwischen herkömmlicher Pflanzenzüchtung, bisheriger Gentechnik (transgene Pflanzen) und neuer Gentechnik (Genome Editing)

Herkömmliche, konventionelle Züchtung	Transgene Pflanzen	Neue Gentechnik
Beruhrt auf großer Vielfalt mit anschließender Auswahl (Selektion) und weiterer Kreuzung (Paarung).	In bestehenden Sorten sollen einzelne Merkmale verändert (hinzugefügt) werden, ohne die Eigenschaften der Pflanzen insgesamt zu verändern.	In vielen Fällen wird der Stoffwechsel von Pflanzen insgesamt verändert, um beispielsweise deren Wuchs oder Inhaltsstoffe zu beeinflussen.
Die Entstehung neuer Genkombinationen folgt den unspezifischen Regeln der Evolution, Vererbung und Genregulation.	Gene anderer Arten werden unter Umgehung der natürlichen Vererbung in das Erbgut eingefügt.	Das spezifische Muster der neuen Genkombinationen unterscheidet sich oft deutlich von dem, das aus herkömmlicher Züchtung resultiert.
Die biologischen Eigenschaften der Pflanzen können besonders ausgeprägt sein, überschreiten aber nicht die Potentiale der natürlichen biologischen Vielfalt.	Die biologischen Eigenschaften der Pflanzen überschreiten die Potentiale der natürlichen biologischen Vielfalt innerhalb einer Art.	Die biologischen Eigenschaften der Pflanzen können die Potentiale der natürlichen biologischen Vielfalt überschreiten.

⁶ Einen Überblick über ungewollte Veränderungen des Erbgutes bietet ein Hintergrundpapier der Fachstelle Gentechnik und Umwelt (FGU): <https://fachstelle-gentechnik-umwelt.de/informationen/>

5. Um welche Risiken geht es?

APHIS hat nur einen sehr eingeschränkten Entscheidungsspielraum, um die Risiken gentechnisch veränderter Pflanzen im Rahmen des Plant Protection Act (PPA) zu beurteilen. Wie die Behörde in ihren Bescheiden schreibt, werden gentechnisch veränderte Organismen nur dann reguliert, das heißt genauer geprüft und ggf. nicht freigegeben, wenn

1. sie als Pflanzenschädling bzw. Erreger von Pflanzenkrankheiten (plant pest) klassifiziert werden oder zu einem Überträger von Pflanzenkrankheiten werden können;
2. sie das Potential haben, zu einem schädlichen Unkraut zu werden.

Zusammengefasst besteht die Aufgabe von APHIS darin, die Gesundheit und den Wert der US-Landwirtschaft und deren natürlichen Ressourcen zu schützen. Im Rahmen der Prüfung durch APHIS wird beispielsweise abgefragt, ob Gene von bestimmten Mikroorganismen in die Pflanzen eingefügt wurden, die von Auslösern irgendwelcher Pflanzenkrankheiten stammen. Sind derartige Gene nicht vorhanden, ist auch keine weitere Prüfung nötig. Da bei APHIS unter „Am I Regulated?“ bisher fast nur genomeditierte Organismen angemeldet wurden, bei denen laut Antrag keine zusätzlichen Gene eingefügt wurden, wurde allen Anmeldern bescheinigt, dass ihre Produkte nicht regulierungspflichtig seien.

Das zweite Kriterium (schädliche Unkräuter) führt zu etwas differenzierteren Einschätzungen: Im Falle der Grünen Borstenhirse (Tabelle 2, Nr. 13) weist die Behörde darauf hin, dass es unter den Unkräutern Kreuzungspartner gibt. Man solle deswegen so weit möglich entsprechende Auskreuzungen vermeiden. Bei Ackerpfennigkraut (Tabelle 2, Nr. 21) und Leindotter (Tabelle 2, Nr. 22) wird angemerkt, dass diese selbst ein Unkraut werden können beziehungsweise sich mit anderen Unkräutern kreuzen können. Deswegen solle man u.a. Landwirte auf dieses Problem aufmerksam machen. Mit diesen wenig konkreten und kaum überprüfbaren Auflagen wurde auch in diesen Fällen auf jegliche Regulierung verzichtet.

Diese oberflächliche Vorabprüfung, die sich aus dem gesetzlichen Auftrag der Behörde ergibt, hat erhebliche Folgen für die Firmen und andere Anmelder: Erfolgt eine Freigabe, kann das Produkt als sicher für die landwirtschaftliche Erzeugung angesehen und vermarktet werden.

Allerdings können für bestimmte Produkte von Fall zu Fall noch weitere Prüfungen der US-Umweltbehörde United States Environmental Protection Agency (USEPA) oder der US-Arznei- und Lebensmittelbehörde Food and Drug Administration (FDA) verlangt werden. Diese Prüfungen finden nur von Fall zu Fall statt und sind im Wesentlichen von den beabsichtigten Eigenschaften der jeweiligen Organismen abhängig. Ob davon bei Produkten, die APHIS bereits freigegeben hat, tatsächlich Gebrauch gemacht wird, bleibt abzuwarten.

Davon abgesehen, sind die Lücken der Prüfung durch APHIS aber auch aus Sicht der Landwirtschaft erheblich:

1. Ungewollte Veränderung des Stoffwechsels der Pflanzen

Von APHIS werden nur die beabsichtigten und bekannten Eigenschaften der gentechnisch veränderten Pflanzen betrachtet – unerwartete und ungewollte Nebeneffekte bleiben außen vor. Falls es beispielsweise zu ungewollten Effekten im Stoffwechsel dieser Pflanzen kommt, durch die mit Landwirtschaft zusammenhängende Prozesse gestört werden (Bestäuber, Nützlinge, Bodenleben), bliebe dies sehr wahrscheinlich unbemerkt. Veränderungen in der Zusammensetzung von biologisch aktiven Substanzen können auch die natürlichen Abwehrmechanismen der Pflanzen und andere Wechselwirkungen mit der Umwelt betreffen.

2. Interaktionen zwischen Genom und Umwelt

Die tatsächliche Fitness und Vitalität der Pflanzen sowie deren Ausbreitungspotential wird nicht geprüft.

| 5. Um welche Risiken geht es?

Wie sich die gentechnisch veränderten Pflanzen tatsächlich unter Stress, wie einem Befall von Krankheitserregern oder den Bedingungen des Klimawandels, verhalten, kann deswegen nicht abgeschätzt werden. Zeigen sich die Pflanzen unter Stress in ihrer Vitalität geschwächt, könnten sie dazu beitragen, dass sich Krankheiten rascher ausbreiten. Weisen die Pflanzen aufgrund von nicht vorhergesehenen Gen-Effekten oder epigenetischen Effekten ein höheres Ausbreitungspotential auf, wäre die Gefahr, dass sie zu einem Unkraut werden, deutlich höher, als von der Behörde angenommen wird.

3. Effekte auf der Ebene der nächsten Generationen

Kommt es zu Auskreuzungen in herkömmlich gezüchtete Sorten oder wilde Populationen, können sich deren Nachkommen wegen Interaktionen mit speziellen Genkombinationen oder Hybridisierungseffekten in ihren Eigenschaften deutlich von der Ausgangspopulation unterscheiden. Auch dadurch kann sich das Potential der Pflanzen, zu einem Unkraut oder einem Überträger von Pflanzenkrankheiten zu werden, deutlich verändern. Auch APHIS ist sich dieses Problems bewusst, wie sich bei der Prüfung der Anmeldung von Gentechnik-Weizen der Firma Calyxt (Tabelle 2, Nr. 11) zeigt: „(...) *wheat is sexually compatible with a weedy relative, jointed goatgrass (Aegilops cylindrical)*. (...) *Despite this low hybrid fertility, any fitness enhancing GE trait can persist and become widespread overtime in the hybrid-derived weedy populations.*“

Geht man über den Bereich der Landwirtschaft hinaus, ergeben sich weitere Risiken, die geprüft werden müssen, bevor man ein Urteil über die Sicherheit der Pflanzen für Mensch und Tier treffen kann. Einige Beispiele:

- Veränderungen in der Zusammensetzung der assoziierten Mikroorganismen (Mikrobiom) können erhebliche Auswirkungen auf das Bodenleben, die Nahrungsnetze und geschützte Arten haben.
- Die natürlichen Populationen und damit die biologische Vielfalt können beeinträchtigt werden, wenn die Gentechnik-Organismen invasive Eigenschaften erlangen.
- Veränderungen in der Zusammensetzung der Inhaltsstoffe von Pflanzen können Folgen haben für diejenigen, die sich von diesen Pflanzen ernähren. Dazu gehören Menschen, Nutztiere, Wildtiere und/oder assoziierte Nahrungsnetze natürlicher Populationen. So weisen Colombo et al. (2018) auf die Gefahren für die Nahrungsnetze hin, die von einem großflächigen Anbau von Gentechnik-Pflanzen wie dem Gentechnik-Leindotter ausgehen können: Die in diesen Pflanzen gebildeten Fettsäuren können beispielsweise das Wachstum und die Fruchtbarkeit jener Organismen verändern, die von diesen Pflanzen fressen. Entsprechende Effekte könnten sich auch in der Nahrungskette fortsetzen.

Wie groß die Schäden bei Mensch, Tier und Umwelt tatsächlich sind, hängt unter anderem von der Zahl der freigesetzten Organismen, dem Ausmaß der betroffenen Flächen und der Dauer der Freisetzung ab. Ein großflächiger Anbau von Pflanzen, auch wenn diese als kleine Population nur geringfügige Veränderungen an den Ökosystemen auslösen würden, kann über die Jahre hinweg zu erheblichen Schäden an Biodiversität und Agrarökosystemen führen. Dies ist insbesondere dann problematisch, wenn sich die gentechnischen Veränderungen auch in Wildpopulationen ausbreiten.

Allgemeine Aussagen, mit denen eine generelle Sicherheit von gentechnisch veränderten Organismen behauptet wird, nur weil in deren Erbgut keine zusätzlichen Gene eingefügt wurden, sind wissenschaftlich nicht zu halten. Wie groß die Risiken tatsächlich sind, muss vielmehr in jedem einzelnen Fall geprüft werden. Bei Pflanzen, die ein Ausbreitungspotential haben oder entwickeln können, müssen entsprechend wirksame Maßnahmen ergriffen oder Verbote ausgesprochen werden, um eine Ausbreitung zu verhindern.

| 6. Ausblick und Empfehlungen

Ein Beispiel für das, was nach den Regeln von APHIS schiefgehen kann, sind (mit den Verfahren der ersten Generation) gentechnisch veränderte, herbizidresistente Gräser. Auch diese wurden von APHIS ohne weitere Prüfung freigegeben (Waltz, 2018). Die unkontrollierte Ausbreitung von herbizidresistenten, gentechnisch veränderten Gräsern ist in den USA bereits seit Jahren ein Problem (siehe u.a. Bauer-Panskus et al., 2013).⁷ Die Gräser weisen, wie die meisten Gentechnik-Pflanzen, eine Resistenz gegen das Totalherbizid Glyphosat auf. Sie sind gentechnisch so verändert, dass sie ein zusätzliches Enzym (EPSPS) produzieren. Das Problem: Wie aktuelle Publikationen zeigen (siehe Fang et al., 2018), erhöht dieses Enzym unerwarteterweise auch das Ausbreitungspotential der Gentechnik-Pflanzen: Deren Nachkommen können beispielsweise mehr Samen bilden und sich so wesentlich schneller ausbreiten, als von den Behörden angenommen wurde. Die Wirkung dieses Enzyms auf das Ausbreitungspotential der Pflanzen wurde über 20 Jahre von den Behörden falsch eingeschätzt.⁸

6. Ausblick und Empfehlungen

Die neuen Gentechnikverfahren werden in der EU nach dem bisherigen Gentechnikrecht behandelt. Sobald es mehr Erfahrungen mit Genome Editing gibt, wird es notwendig werden, innerhalb des Gentechnikrechts ein spezielles Prüfverfahren zu schaffen, das den neuen Herausforderungen gewachsen ist. Da in Zusammenhang mit Genome Editing oft beabsichtigt ist, nicht nur einzelne Merkmale von Pflanzen, sondern deren Stoffwechsel insgesamt zu verändern, gerät der bisherige Ansatz der „vergleichenden Risikoprüfung“ (EFSA, 2010) offensichtlich an seine Grenzen: Es kann in vielen Fällen sehr schwer oder unmöglich werden, geeignete Vergleichsorganismen zu finden.

Deswegen sollten bei der Zulassungsprüfung der neuen Gentechnik-Organismen u.a. folgende Anforderungen berücksichtigt werden:

- › Es muss das gesamte Muster der Genveränderung und dessen Auswirkungen auf der Ebene der Zelle/des Organismus berücksichtigt werden.
- › Falls in einzelnen Fällen angenommen wird, dass sich die Ergebnisse des Genome Editing nicht von denen der herkömmlichen Züchtung unterscheiden lassen, sollten entsprechende Vergleichsdaten verlangt werden. Dazu sollten Daten über das gesamte Genom (Whole Genome Sequencing) vorgelegt werden.
- › Vergleichende Daten zum Whole Genome Sequencing müssen auch vorgelegt werden, um ungewollte Veränderungen im Erbgut bewerten zu können, die beispielsweise durch Verfahren unter Verwendung der „Genkanone“ (biolistisches Verfahren) oder die Nukleasen selbst verursacht wurden.
- › Es müssen Daten aus sogenannten Omics-Verfahren erhoben werden, um die Veränderungen im Transkriptom, Proteom und Metabolom und damit die Auswirkungen der Genveränderungen auf den Organismus abschätzen zu können.
- › Die gentechnisch veränderten Organismen sollten Stresstests unter kontrollierten Bedingungen unterzogen werden, um insbesondere ihre Reaktionen auf Klimawandel und Krankheitserreger zu testen.
- › Bei den Auswirkungen auf die Umwelt ist das assoziierte Mikrobiom (insbesondere Bodenorganismen) zu berücksichtigen.

7 www.hcn.org/issues/50.11/plants-genetically-modified-grass-creeps-across-eastern-oregon

8 www.testbiotech.org/pressemitteilung/neue-forschungsergebnisse-zeigen-umweltrisiken-von-gentechnik-pflanzen-wurden

| 6. Ausblick und Empfehlungen

- › Bei der Risikoabschätzung des Verzehr entsprechender Produkte sollten die Auswirkungen auf das Mikrobiom des Verdauungstrakts untersucht werden.
- › Beim Anbau der Pflanzen müssen die Auswirkungen auf das Nahrungsnetz einbezogen werden;
- › ebenso auf Bestäuber, Nützlinge und geschützte Arten.
- › Es müssen wirksame Maßnahmen eingeleitet und Verbote erlassen werden, um einer unkontrollierten Ausbreitung der Organismen in der Umwelt vorzubeugen.

Zudem sollten

- › alle relevanten Genom-Daten, die Aufschluss über die genaue Veränderung geben, öffentlich zugänglich in Datenbanken gesammelt werden;
- › Kennzeichnung vorgeschrieben und Maßnahmen zum Schutz der herkömmlichen Produktion ergriffen werden, um die Wahlfreiheit für ZüchterInnen, LandwirtInnen und VerbraucherInnen zu sichern;
- › staatliche Programme unter Beteiligung der Zivilgesellschaft (insbesondere der Bereiche Natur-, Umwelt- und Verbraucherschutz) zur Festlegung von Zielen in Forschung und Entwicklung sowie zur begleitenden Risikoforschung auf den Weg gebracht werden.

Quellen

- Bauer-Panskus, A., Breckling, B., Hamberger, S., Then, C.** (2013) Cultivation-independent establishment of genetically engineered plants in natural populations: current evidence and implications for EU regulation. *Environmental Sciences Europe*, 25(1): 34.
- Belfield, E. J., Ding, Z. J., Jamieson, F. J. C., Visscher, A. M., Zheng, S. J., Mithani, A., & Harberd, N. P.** (2018) DNA mismatch repair preferentially protects genes from mutation. *Genome Res*, 28(1), 66-74. doi: 10.1101/gr.219303.116
- Chandler C.H., Chari S., Dworkin I.** (2013) Does your gene need a background check? How genetic background impacts the analysis of mutations, genes, and evolution, *Trends in Genetics*, Vol. 29, No. 6: 358-364
- Cho, S., Yu, S. I., Park, J., Mao, Y., Zhu, J. K., Yun, D. J., & Lee, B. H.** (2017) Accession-Dependent CBF Gene Deletion by CRISPR/Cas System in Arabidopsis. *Front Plant Sci*, 8, 1910. doi: 10.3389/fpls.2017.01910
- Choi, K., Zhao, X., Tock, A. J., Lambing, C., Underwood, C. J., Hardcastle, T. J., ... Henderson, I. R.** (2018). Nucleosomes and DNA methylation shape meiotic DSB frequency in Arabidopsis thaliana transposons and gene regulatory regions. *Genome Res*, 28(4), 532-546. doi: 10.1101/gr.225599.117
- Colombo, S. M., Campbell, L. G., Murphy, E. J., Martin, S. L., Arts, M. T.** (2018) Potential for novel production of omega-3 long-chain fatty acids by genetically engineered oilseed plants to alter terrestrial ecosystem dynamics. *Agric. Syst.* 164, 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2018.03.004>
- Daer, R. M., Cutts, J. P., Brafman, D. A., & Haynes, K. A.** (2017) The Impact of Chromatin Dynamics on Cas9-Mediated Genome Editing in Human Cells. *ACS Synth Biol*, 6(3), 428-438. doi: 10.1021/acssynbio.5b00299b
- Duensing N., Sprink T., Parrott W.A., Fedorova M., Lema M.A., Wolt J.D., Bartsch D.** (2018) Novel Features and Considerations for ERA and Regulation of Crops Produced by Genome Editing, *Front. Bioeng. Biotechnol.* 6:79, doi: 10.3389/fbioe.2018.00079 www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2018.00079/full
- EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO)**, (2010) Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified plants. *EFSA J.* 8, n/a-n/a. doi:10.2903/j.efsa.2010.1879
- Fang, J., Nan, P., Gu, Z., Ge, X., Feng, Y.-Q., Lu, B.-R.** (2018) Overexpressing Exogenous 5-Enolpyruvylshikimate-3-Phosphate Synthase (EPSPS) Genes Increases Fecundity and Auxin Content of Transgenic Arabidopsis Plants. *Frontiers in plant science*, 9: 233. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00233>
- Hilscher, J., Bürstmayr, H., Stoger, E.** (2017) Targeted modification of plant genomes for precision crop breeding. *Biotechnol. J.* 12, n/a-n/a. doi:10.1002/biot.201600173
- Jupe F., Rivkin A.C., Michael T.P., Zander M., Motley S.T., Sandoval J.P., Slotkin R.K., Chen H., Castanon R., Nery J.R., Ecker J.R.** (2019) The complex architecture and epigenomic impact of plant T-DNA insertions. *PLoS Genet* 15(1): e1007819. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007819>
- Kosicki, M., Tomberg, K., & Bradley, A.** (2018) Repair of double-strand breaks induced by CRISPR-Cas9 leads to large deletions and complex rearrangements. *Nat Biotechnol*, 36(8), 765-771. doi: 10.1038/nbt.4192
- Krämer, L.** (2018) The genome editing technique is covered by Directive 2001/18 Comment on Advocate Bobek's Opinion in case C-528/16, *Environmental Law Network International*, elni 1/2018
- Lin, T., Zhu, G., Zhang, J., Xu, X., Yu, Q., Zheng, Z., et al.** (2014) Genomic analyses provide insights into the history of tomato breeding. *Nat Genet* 46(11), 1220-1226. doi: 10.1038/ng.3117.
- Makova, K. D., & Hardison, R. C.** (2015) The effects of chromatin organization on variation in mutation rates in the genome. *Nat Rev Genet*, 16(4), 213-223. doi: 10.1038/nrg3890

- Mullis M.N., Matsui T., Schell R., Foree R., Ehrenreich I.M.** (2018) The complex underpinnings of genetic background effects, *NATURE COMMUNICATIONS*, 9:3548, DOI: 10.1038/s41467-018-06023-5
- OECD** (1992) *Biotechnology, Agriculture and Food*, 1992, Published by OECD Publishing, Publication, 28 July 1992, OECD Code: 931992031P1, ISBN 92-64-13725-4
- Rogozin, I. B., & Pavlov, Y. I.** (2003) Theoretical analysis of mutation hotspots and their DNA sequence context specificity. *Mutat Res*, 544(1), 65-85.
- Sanchez-Leon, S., Gil-Humanes, J., Ozuna, C. V., Gimenez, M. J., Sousa, C., Voytas, D. F., & Barro, F.** (2018). Low-gluten, nontransgenic wheat engineered with CRISPR/Cas9. *Plant Biotechnol J*, 16(4), 902-910. doi: 10.1111/pbi.12837).
- Semon M. & Wolfe K.H.** (2007) Consequences of genome duplication, *Current Opinion in Genetics & Development* 2007, 17:505–512
- Si, W., Yuan, Y., Huang, J., Zhang, X., Zhang, Y., Zhang, Y., ... Yang, S.** (2015) Widely distributed hot and cold spots in meiotic recombination as shown by the sequencing of rice F2 plants. *New Phytol*, 206(4), 1491-1502. doi: 10.1111/nph.13319
- Tang, W., Tang, A.Y.** (2017) Applications and roles of the CRISPR system in genome editing of plants. *J. For. Res.*, 28: 15–28. doi:10.1007/s11676-016-0281-7
- Tan, W., Proudfoot, C., Lillico S.G., Whitelaw, C.B.A.** (2016) Gene targeting, genome editing: from Dolly to editors. *Transgenic Research*, doi:10. 1007/s11248-016-9932-x
- Taning, C.N.T., Van Eynde, B., Yu, N., Ma, S., Smagghe, G.** (2017) CRISPR/Cas9 in insects: Applications, best practices and biosafety concerns. *J. Insect Physiol.* 98, 245–257. doi:10.1016/j.jinsphys.2017.01.007
- Then C. & Tippe R.** (2018) Neue Gentechnikverfahren: zunehmende Monopolisierung von Landwirtschaft und Züchtung, Auswirkungen betreffen auch konventionelle Züchtung TESTBIOTECH Hintergrund 29 - 06 - 2018, www.testbiotech.org/node/2219
- Wang, L., Yang, L., Guo, Y., Du, W., Yin, Y., Zhang, T., Lu, H.** (2017) Enhancing Targeted Genomic DNA Editing in Chicken Cells Using the CRISPR/Cas9 System. *PLOS ONE*, 12: e0169768. doi:10.1371/journal.pone.0169768
- Vicient, C. M., & Casacuberta, J. M.** (2017) Impact of transposable elements on polyploid plant genomes. *Ann Bot*, 120(2), 195-207. doi: 10.1093/aob/mcx078
- Waltz, E.** (2016) CRISPR-edited crops free to enter market, skip regulation, *Nature Biotechnology*, 34, 582.
- Waltz, E.** (2018) With a free pass, CRISPR-edited plants reach market in record time, *Nature Biotechnology* Vol. 36, No 1: 6-7
- Zhang, Y., Massel, K., Godwin, I.D., Gao, C.** (2018) Applications and potential of genome editing in crop improvement. *Genome Biology*, 19(1): 210.
- Zhu, C., Bortesi, L., Baysal, C., Twyman, R.M., Fischer, R., Capell, T., Schillberg, S., Christou, P.** (2017) Characteristics of Genome Editing Mutations in Cereal Crops. *Trends in Plant Science*, 22: 38–52. doi:10.1016/j.tplants.2016.08.009
- Zsögön, A., Čermák, T., Naves, E.R., Notini, M. M., Edel, K. H. Weinl, S., Freschi, L., Voytas, D.F., Kudla, J., Peres, L. E. P.** (2018) De novo domestication of wild tomato using genome editing, *Nature Biotechnology*, <https://doi.org/10.1038/nbt.4272>