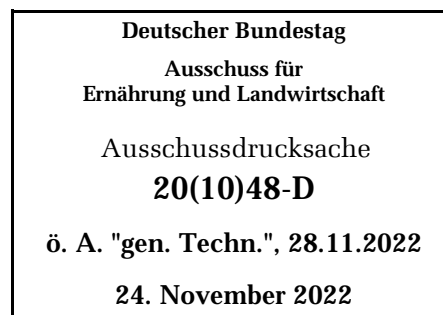


Stellungnahme des Einzelsachverständigen

Prof. Dr. Nicolaus von Wirén



für die 23. Sitzung des Ausschusses für Ernährung und Landwirtschaft

öffentliche Anhörung

zu:

Antrag der Fraktion der CDU/CSU

„Landwirtschaftliche Produktion zukunftsfähig gestalten –
Innovationsrahmen für neue genomische Techniken schaffen“
(BT-Drs. 20/2342)

am Montag, dem 28. November 2022,

15:00 Uhr bis 17:00 Uhr

Die an den Deutschen Bundestag übermittelte Ursprungsdatei ermöglichte keine Weiterverarbeitung zu einer barrierefreien Ausschussdrucksache.

Öffentliche Anhörung im Ausschuss für Ernährung und Landwirtschaft (EL-Ausschuss) des Deutschen Bundestags am 28. November 2022

zum Antrag der CDU/CSU Fraktion:

„Landwirtschaftliche Produktion zukunftsfähig gestalten – Innovationsrahmen für neue genomische Techniken schaffen“ (BT-Drs. 20/2342)

Stellungnahme von Prof. Dr. Nicolaus von Wirén
(Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung)

Ausgangslage

Der Verlust an Biodiversität in der Kulturlandschaft aufgrund fehlender Strukturelemente, intensiven chemischen Pflanzenschutzes und hohem Einsatz an organischen und synthetischen Düngemitteln, der fortschreitende Klimawandel u.a. mit ausgedehnten Trockenperioden sowie stark gestiegene Betriebsmittelkosten, insbesondere für Energie und Stickstoffdünger, erfordern eine rasche Umstellung in der landwirtschaftlichen Pflanzenproduktion. Diese kann nur über vielfältige Lösungsansätze effektiv erreicht werden, die Maßnahmen und Entwicklungen auf allen Ebenen einschliessen, d.h. im Boden- und Bestandesmanagement, in der Agrartechnik, dem Pflanzenschutz und der Pflanzenernährung.

Derartig drastisch veränderte Anbaubedingungen erfordern zudem eine genetische Anpassung der Kulturpflanzen, die in der konventionellen Pflanzenzüchtung über Kreuzung und Selektion erzielt wird. In der Regel dauert es 8-12 Jahre, um über konventionelle Züchtung eine neue Sorte auf den Markt zu bringen. Sollen Genvarianten aus Wildformen oder verwandten Wildarten eingekreuzt werden, verlängert sich der Zeitraum bis zur Zulassung erheblich, da zeitaufwändige Rückkreuzungsschritte erforderlich sind. Im Einzelfall sind Gene aus Wildarten aufgrund von Sterilitätsbarrieren überhaupt nicht für die Verbesserung von mit ihnen verwandten Kulturarten zugänglich.

Vor diesem Hintergrund fordert der vorliegende Antrag die Bundesregierung auf, sich für eine gezielte Nutzung und Weiterentwicklung Neuer Genomischer Techniken (NGT) in der

Landwirtschaft einzusetzen und dafür den rechtlichen Rahmen auf nationaler und EU-Ebene zu schaffen. Zu den NGT gehört die Cas-Endonuklease (CRISPR/Cas)-Technologie, die es erlaubt, an definierter Position in der genomischen DNA einer Pflanze einen Doppelstrangbruch zu induzieren, dessen nachfolgende Reparatur über zelleigene Systeme zu Mutationen an dieser Position führen. Durch die Sequenzierung der betreffenden genomischen Region in mehreren Nachkommen werden solche identifiziert, die eine gewünschte Mutation tragen und dadurch eine veränderte Eigenschaft ausbilden.

Substanzielle Bewertung der Anwendung von NGTs

Einordnung der ‚Natürlichkeit‘: Die beiden entscheidenden Elemente der Cas-Endonuklease-Technologie, das Cas-Protein (Genschere) und die von ihr gebundene zielführende RNA („guide-RNA“), sind nicht von Menschen entwickelt, sondern der Natur entlehnt worden. Ursprünglich sind sie Komponenten der adaptiven Immunität wie sie Bakterien und Archäen im Lauf der Evolution gegen Viren entwickelt haben. D.h. CRISPR/Cas-vermittelte Genveränderungen spielen sich in weiter Verbreitung ständig in der Natur ab, meist als Folge allgegenwärtigen horizontalen Gentransfers (Koonin & Makarova, 2019).

Um an bestimmter Position in der pflanzlichen DNA Mutationen über die CRISPR/Cas-Technologie zu erzeugen, muss die DNA in Kontakt mit dem Cas-Enzym und der interagierenden guide-RNA kommen. Dies kann zum einen durch stabile Transformation der Pflanze mit DNA-Sequenzen erfolgen, die für das Cas-Enzym und die guide-RNA codieren. Diese Sequenzen können in den Nachkommen wieder herausgekreuzt werden, um weitere Aktivität der Endonuklease zu unterbinden. Eine zweite Möglichkeit besteht darin, solche codierenden DNA-Sequenzen über transiente Expression in Pflanzenzellen zu übertragen, so dass Cas-Endonuklease und guide-RNA entstehen ohne dass die eingebrachte DNA in das pflanzliche Genom integriert wird. Des Weiteren können gezielte Mutationen auch ohne jegliche Übertragung von DNA erzeugt werden, d.h. durch das Einbringen von rekombinanter Endonuklease und in-vitro transkribierter guide-RNA in pflanzliche Zellen, aus denen ganze Pflanzen regeneriert werden (Kim et al., 2017). In allen diesen Fällen handelt es sich um eine Weiterentwicklung der Gentechnik, bei der ein natürlicher Prozess zu einem zielgerichteten Verfahren modifiziert wurde. Es können dabei Pflanzen hergestellt werden, die keine artfremde oder synthetische DNA enthalten.

Das **Ausmaß genetischer Veränderungen**, die durch CRISPR-Cas-Technologie erzeugt werden, hängt von der Methode ab, mit der der natürliche Vorgang der Reparatur des Doppelstrangs begleitet wird. Im Regelfall folgt die Zelle dem „non-homologous end-joining“ (nicht-homologe Endverknüpfung), d.h. die beiden voneinander getrennten Enden des DNA-Doppelstrangs werden zusammengefügt, wobei es in wenigen Fällen zum fehlerhaften Einfügen oder zum Verlust eines oder einiger Nukleotide kommt (SDN1). Größere Deletionen entstehen hingegen entweder durch simultane Schnitte an benachbarten Stellen der pflanzlichen DNA und Verlust des dazwischen liegenden Abschnitts (ebenfalls durch nichthomologe Endverknüpfung) oder durch "Homology-mediated end joining" (Homologie-vermittelte Endverknüpfung), bei der beidseitig des Doppelstrangbruches vorhandene Sequenzwiederholungen dazu dienen, gegenüberliegende DNA-Stränge mittels Basen-Komplementarität aneinanderzulagern und zu verknüpfen, wobei zumeist der Abschnitt zwischen diesen Sequenz-Wiederholungen sowie eine der Wiederholungen selbst verloren geht. Wird im Verfahren zusätzlich eine DNA-Sequenz als Vorlage eingebracht, kann die Reparatur durch homologe Rekombination (HR) erfolgen, d.h. die in der Vorlage vorgegebenen Nukleotide werden in die Zielsequenz hineinkopiert (SDN2).

Von zunehmender Bedeutung ist die gezielte Baseneditierung, wobei die DNA-schneidende Funktion des Cas-Proteins eliminiert wird. Stattdessen wird ein zweites Enzym mit dem Cas-Protein fusioniert, das im DNA-Strang zu einem Basenaustausch führt. Das Cas-Protein erfüllt damit nur noch die Funktion, die Basen-verändernden Enzyme (Cytosin- oder Adenosin-Deaminasen) an die Zielposition zu bringen.

Über alle diese Verfahren können Mutationen erzeugt werden, wie sie spontan allgegenwärtig im pflanzlichen Genom vorkommen, sei es durch Fehler bei der natürlichen Duplikation des

DNA-Strangs als essentielle Voraussetzung von Zellteilungen, durch natürliche ionisierende (z.B. UV-) Strahlung oder durch Transposons, d.h. natürlich vorkommende, springende DNA-Elemente, über die Pflanzen ihre endogene Mutationsrate erhöhen, z.B. um sich rasch an Stress oder veränderte Wachstumsbedingungen anpassen zu können. Diese spontan vorkommenden Mutationen erstrecken sich im Ausmaß von Punktmutationen, d.h. der Eliminierung oder Umwandlung einzelner Basen bis hin zum Re-Arrangement ganzer chromosomaler Abschnitte, die hunderte von Genen überspannen können.

Eine Ausnahme bildet hier die auf homologer Rekombination beruhende Methode in Fällen wo lange DNA-Sequenzen, die aus anderen Organismen stammende Sequenzen enthalten, als Vorlage verwendet werden würden (SDN3). Dies ist mit dem Einbringen von Fremd-DNA unter Verwendung der Cas-Endonuklease-Technologie gleichzusetzen und sollte deshalb rechtlich der Transformation (Übertragung von Transgenen) zugeordnet werden. Davon abzugrenzende Fälle der HR-basierten Methode betreffen allerdings den gezielten Austausch weniger Nukleotide, um vorteilhafte, nicht artfremde allelische Varianten der Zielgene in Elitelinien einzubringen.

Fazit: Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass es in der konventionellen Züchtung beim Kreuzen zweier Eltern zum Austausch ganzer Chromosomenfragmente (über Chiasmata während der Meiose) kommt, sind - mit Ausnahme von SDN3 - die o.g. genetischen Veränderungen über die CRISPR-Cas-Technologie als naturäquivalent zu bewerten.

Bewertung der Chancen und Risiken von über NGT erzeugten Pflanzenlinien

Chancen der Anwendung von NGT in der Pflanzenzüchtung

- Die Anwendung der Cas-Endonuklease-Technologie (über die NHEJ-Methode) erlaubt es gegenüber konventioneller Züchtung in deutlich kürzerer Zeit eine gewünschte Eigenschaft in Elitelinien einzubringen. Dieser Vorteil ist entscheidend, wenn es um die Nutzung allelischer Varianten aus dem sekundären Genpool und um eine rasche Anpassung von Kulturpflanzen an die Folgen des Klimawandels geht.
- Die Cas-Endonuklease-Technologie erlaubt es, gezielt Veränderungen in einer Gensequenz vorzunehmen. Sie ist damit präziser und führt zu weit weniger unnötigen und unbekannt bleibenden genetischen Veränderungen als die konventionelle Züchtung.
- Über Cas-Endonuklease-Technologie können der Nachteil der Kopplung benachbarter Genvarianten überwunden und damit neue Merkmalskombinationen erzeugt werden, wie sie konventionell kaum erreichbar sind. Dies ist insbesondere beim Einbringen von Genen aus Wildformen (sog. genetische Ressourcen) von Bedeutung.
- Die Cas-Endonuklease-Technologie ist kostengünstig durchführbar und eröffnet damit auch kleineren, privaten Züchtungsunternehmen den Zugang und die Nutzung dieser Technologie – vorausgesetzt Lizenzen für Verfahrenspatente sind erschwinglich oder nicht erforderlich und die erzeugten Linien werden von der GVO-Regulierung ausgenommen, so dass die Zulassung nicht dieselben hohen Kosten erfordert wie die Zulassung von GVO.
- Konkrete Beispiele für vorhandene Kulturpflanzenlinien, die über CRISPR-Cas minimale Veränderungen der genomischen DNA erfahren haben, sind: u.a. Virus-resistente Gerstenlinien (Hoffie et al. 2022); stickstoff-effizienter Reis und Weizen (Hu et al. 2015, Li et al. 2018, Zhang et al. 2021), wassernutzungseffizienter Mais (Blankenagel et al., 2022), Mehltau-resistenter Weizen (Brauer et al. 2020).

Risiken der Anwendung von NGT in der Pflanzenzüchtung

- Die Cas-Endonuklease-Technologie kann auch off-target-Effekte, d.h. Mutationen außerhalb der Zielsequenz auslösen. Solche off-target-Effekte kommen in geringem Ausmaß vor und werden auch bei Weiterentwicklung der Technologie (präzisere Cas-Varianten und bioinformatische Vorhersage von off-target Positionen) nie vollständig ausgeschlossen werden können. Off-target-Mutationen sind jedoch um Größenordnungen seltener als die der ungerichtet induzierten (von der GVO-Regulierung ausgenommenen) Mutagenese oder der allgegenwärtig und spontan in allen Organismen vorkommenden genetischen Veränderungen.
- Auswirkung auf Mensch und Umwelt: i) Pflanzen aus der ungerichteten Mutagenesezüchtung (über Strahlung oder Chemikalien) werden vom europäischen Gesetzgeber als seit Jahrzehnten „sichere“ GVO eingestuft und sind daher von der GVO-Regulierung ausgenommen. Derart behandelte Pflanzen weisen je nach Behandlungsverfahren zwischen 5.000 und 15.000 zufällig über das Genom verteilte Mutationen auf. Sie können ohne Einschränkungen als Sorte zugelassen oder in Kreuzungsprogramme eingesetzt werden. Bei einer konsequenten Anwendung des Vorsorgeprinzips unter Abwägung der Chancen und Risiken müsste induzierte Mutagenese und NGT gleichgesetzt und von einer Regulation durch das Gentechnikgesetz ausgenommen werden. ii) Ebenso sind nach fast 30 Jahren der weltweiten Anwendung von über klassische Gentechnik erzeugten transgenen Nutzpflanzen in der Landwirtschaft keine technologieinhärenten Risiken für Mensch, Natur und Umwelt nachgewiesen worden (Leopoldina 2019).

Fazit: Genetische Veränderungen bei der der CRISPR-Cas-Technologie sind um ein Vielfaches geringer als bei dem etablierten Verfahren der induzierten Mutagenese durch Bestrahlung oder chemische Behandlung von Saatgut. Im Gegensatz zur induzierten Mutagenese ist die Genomeditierung zielgerichtet. Das Ergebnis ist absehbar und wird nicht, wie bei der induzierten Mutagenese dem Zufall überlassen. Die Verwendung NGT entspricht somit einer konsequenten Weiterentwicklung bisheriger Züchtungstechniken.

Das Ausmaß der erzeugten genetischen Modifikation ist dem natürlicher Mutationen gleichzusetzen (Ausnahme: HR mit längeren Gensequenzen, SDN3). Von solchen genomeditierten Pflanzen geht dasselbe potenzielle Risiko für Mensch und Umwelt aus wie bei zufälligen Mutationen, die bei der Kreuzungszüchtung entstehen. Dagegen ist das Risiko geringer als beim Einsatz von Mutagenen (z.B. energiereiche Strahlung oder Chemikalien), die deutlich mehr off-site-Effekte bewirken und deren Anwendung dennoch als sicher gilt.

Aus naturwissenschaftlicher Sicht gibt es keinen Grund, über NGT erzeugte Pflanzen anders zu bewerten als solche, die über spontane oder ungerichtet induzierte Mutagenese erzeugt wurden. Insofern basieren die im Antrag formulierten Forderungen auf wissenschaftlich belegten Fakten. Es ist auch höchstwahrscheinlich, dass insbesondere Nachhaltigkeitsziele (u.a. Reduzierung von Düngung, Wasserverbrauch und chemischem Pflanzenschutz) durch die Einbeziehung von NGT in das vorhandene Instrumentarium der Pflanzenzüchtung rascher und effektiver erreicht werden können. Diese Einschätzung wird auch von den Wissenschaftsakademien und der DFG geteilt (Leopoldina 2019).

Literatur:

- Blankenagel et al. 2022. Natural alleles of the abscisic acid catabolism gene ZmAbh4 modulate water use efficiency and carbon isotope discrimination in maize. *Plant Cell* 4: 3860–3872.
- Brauer E.K., Balcerzak M., Rocheleau H., Leung W., Scherthner J., Subramaniam R., Ouellet T. (2020) Genome editing of a deoxynivalenol-Induced transcription factor confers resistance to *Fusarium graminearum* in wheat. *Mol. Plant-Microb. Interact.* 33, 553-560.
- Hoffie R., Perovic D., Habekuß A., Ordon F., Kumlehn J. (2022) Novel resistance to the Bymovirus BaMMV established by targeted mutagenesis of the PDIL5-1 susceptibility gene in barley. *Plant Biotechnol. J.*, doi.org/10.1111/pbi.13948
- Hu B., Wang W., Ou S., Tang J., Li H., Che R., Zhang Z., Chai X., Wang H., Wang Y., Liang C., Liu L., Piao Z., Deng Q., Deng K., Xu C., Liang Y., Zhang L., Li L., Chu C. (2015) Variation in NRT1.1B contributes to nitrate-use divergence between rice subspecies. *Nat. Genet.* 47: 834
- Kim, H., Kim et al. (2017) CRISPR/Cpf1-mediated DNA-free plant genome editing. *Nat Commun.* 8: 14406
- Koonin EV, Makarova KS. (2019) Origins and evolution of CRISPR-Cas systems. *Phil. Trans. R. Soc. B* 374: 20180087.
- Leopoldina (2019). Wege zu einer wissenschaftlich begründeten, differenzierten Regulierung genomeditierter Pflanzen in der EU. Herausgeber: Nationale Akademie der Wissenschaften Leopoldina, Union der deutschen Akademien der Wissenschaften und Deutsche Forschungsgemeinschaft (84 Seiten, ISBN: 978-3-8047-4064-8). https://www.leopoldina.org/uploads/tx_leopublication/2019_Stellungnahme_Genomeditierte_Pflanzen_web.pdf
- Li J., Zhang X., Sun Y., Zhang J., Du W., Guo X., Li S., Zhao Y., Xia L. (2018) Efficient allelic replacement in rice by gene editing: A case study of the *NRT1.1B* gene. *J. Integr. Plant Biol.* 60: 536– 540.
- Zhang J., Zhang H., Li S., Li J., Yan L., Xia L. (2021) Increasing yield potential through manipulating of an ARE1 ortholog related to nitrogen use efficiency in wheat by CRISPR/Cas9. *J. Integr. Plant Biol.* 63: 1649-1663.