

hintergrund

Bund für
Umwelt und
Naturschutz
Deutschland



Ökologische Risiken der neuen Gentechnikverfahren

Zusammenfassung

Mit neuer Gentechnik (z. B. CRISPR/Cas9) erzeugte Pflanzen sollen vielfältige Probleme der Landwirtschaft lösen, unter schwierigen Anbaubedingungen (Stichwort Klimawandel) hohe Erträge bringen und zudem bessere Lebensmittel und maßgeschneiderte Rohstoffe für die Wirtschaft liefern. Da der Ort der gentechnischen Veränderung präziser zu adressieren ist als bei der bisherigen alten Gentechnik, soll die Nutzung der neuen Superpflanzen mit weniger Risiken für Mensch und Umwelt verbunden sein. Gentechnik-spezifische Regelungen, wie sie in der EU gelten, seien deshalb für Genom-editierte Pflanzen nicht erforderlich, so die Lesart der Biotech-Industrie. Demgegenüber urteilte der Europäische Gerichtshof (EuGH) im Juli 2018, dass auch die neue Gentechnik wie die bisherige dem EU-Regelwerk unterworfen ist.

Die auch als Genom-Editierung bezeichneten neuen Gentechnikverfahren beruhen im Wesentlichen auf der Nutzung spezifischer Nukleasen, die die DNA an bestimmten Stellen schneiden. Über die zelleigene Reparatur des Doppelstrangbruchs werden Veränderungen erzeugt, die zum „knock-out“ (Funktionsverlust) von Genen führen können oder unter bestimmten Bedingungen (z. B. Vorliegen homologer DNA-Sequenzen) eine DNA-Sequenz „reparieren“ bzw. neue Gene einfügen können. Doch ein präziseres Adressieren des Genomortes bedeutet nicht notwendigerweise, dass die daraus erwachsende genetische Veränderung ohne Risiko ist. Unerwartete Effekte am Zielort der Veränderung (on-target) und an anderen Stellen des Genoms (off-target) wurden vielfach beschrieben. Es kann so zur Bildung veränderter Proteine und Produkte kommen, die den Pflanzenstoffwechsel beeinflussen und neue, unbekannte, nicht selten unerwünschte Eigenschaften mit sich bringen.

Weltweit werden zahlreiche Projekte der neuen Gentechnik mit einer Vielzahl von Pflanzenarten verfolgt. Es geht dabei neben den in der Agrogentechnik wichtigsten Pflanzen wie Soja, Baumwolle, Mais und Raps um weitere Ackerpflanzen (z. B. Reis, Weizen, Kartoffeln), aber auch um Gemüse (v. a. Tomate) und zuneh-

mend um Obstbäume, Zierpflanzen und verschiedene Gehölzarten. Die angestrebten Eigenschaften reichen von der bisher in der Gentechnik am stärksten verfolgten Herbizidresistenz über Ertragssteigerung, Resistenz bzw. Toleranz gegen biotische (Pathogene) und abiotische (Hitze, Trockenheit etc.) Stressfaktoren bis zu höherer Lebensmittelqualität und veränderter Blütenfarbe bei Blumen. Doch im Fokus stehen die auf großen Flächen angebauten, sogenannten cash crops und agronomisch und industriell nutzbare Eigenschaften.

Die mit neuen GVO und deren neuen Eigenschaften verbundenen ökologischen Risiken sind vielfältig – mindestens vergleichbar denen der bisherigen GVO. Neu ist, dass mehrere Eigenschaften gleichzeitig verändert werden können (Multiplexing), was die Risikoabschätzung erheblich erschwert. Negative Auswirkungen des Anbaus herbizidresistenter Pflanzen sind lange bekannt, zu möglichen Umwelteffekten stress-toleranter Pflanzen oder solcher mit neuen Inhaltsstoffen fehlen hingegen häufig Daten. Steigern die neuen Eigenschaften die Fitness der Pflanzen, erhöht sich die Wahrscheinlichkeit einer ungewollten Ausbreitung. Gentransfer lässt sich im Freiland, das zeigt die Erfahrung mit bisherigen GVO, nicht sicher verhindern. Je mehr Pflanzenarten der gentechnischen Veränderung zugänglich werden, darunter auch solche, die langlebig sind, zahlreiche Verwandte unter Wildarten haben und sich über große Entfernungen auskreuzen und verbreiten können, desto größer ist das Risiko für unerwartete und unerwünschte Effekte auf die Umwelt. Das Vorsorgeprinzip muss deshalb uneingeschränkt Gültigkeit behalten. Dies gilt in ganz besonderem Maße für Gene Drive Organismen, die zum Aussterben von Populationen bzw. zum Ersatz natürlicher Populationen durch gentechnisch veränderte führen sollen. Ihre Freisetzung darf folglich nicht erlaubt werden, auch nicht zu Naturschutzzwecken.

Vielmehr wird behauptet, die neuen Methoden führten zu naturidentischen Ergebnissen, die auch mit erheblich höherem Aufwand mit konventioneller Züchtung erreichbar seien. Doch neue Gentechnik ist Gentechnik

und entspricht nicht der bisherigen Züchtung: Während die herkömmliche Züchtung die genetische Vielfalt der Sorten nutzt, um durch Kreuzung und anschließende Selektion der Nachkommen neue Pflanzensorten mit gewünschten Eigenschaften zu entwickeln, ist Ziel der neuen Gentechnik, mit einem technischen Verfahren einzelne Gene zu verändern. Weitere Unterschiede sind, dass mit CRISPR/Cas Et Co gleichzeitig mehrere Kopien eines Gens verändert und Kopplungsgruppen eng benachbarter Gene unterbrochen werden können. Neue Gentechnik kann so zu Organismen mit neuen Kombinationen von Eigenschaften führen, die bislang nicht möglich waren. Die Darstellung, die durch CRISPR-/Cas herbeigeführten genomischen Veränderungen oder allelen Kombinationen seien allgemein den natürlicherweise auftretenden Veränderungen gleichzusetzen, stellt deshalb eine grob irreführende Vereinfachung dar. Um Kennzeichnung, Rückverfolgbarkeit und Monitoring von mit Genom-Editierung erzeugten Pflanzen und Produkten zu sichern, sind geeignete Nachweisverfahren zu entwickeln und den EU-Mitgliedstaaten und Marktbeteiligten zur Verfügung zu stellen.

Das EuGH-Urteil vom Juli 2018 ist umzusetzen, die neuen Gentechnikverfahren und daraus entstehende Organismen und Produkte sind mindestens nach denselben Regeln wie die bisherige Gentechnik zu bewerten und zu kennzeichnen. Ein Ausschluss würde dem Vorsorgeprinzip zuwiderlaufen, zu dessen Umsetzung die EU-Richtlinie dient. Dies gilt insbesondere auch aus ökologischer Sicht, denn da die neuen Verfahren die Erzeugung genetisch veränderter Sorten „in einem ungleich größeren Tempo und Ausmaß als bei der Anwendung herkömmlicher Methoden der Mutagenese“¹ ermöglichen, würden sie Ökosysteme weiteren nicht abschätzbaren Risiken aussetzen.

¹ <https://curia.europa.eu/jcms/upload/docs/application/pdf/2018-07/cp180111de.pdf>

Einleitung

Bisherige Methoden der gentechnischen Veränderung von Organismen beruhen auf dem Transfer von – aus unterschiedlichen Organismen stammenden – DNA-Sequenzen. Der Einbau der übertragenen Sequenzen im Empfänger-genom führt zu gentechnisch veränderten Organismen (GVO), die so neue Eigenschaften erhalten sollen. Die bekanntesten Beispiele für gentechnisch veränderte Pflanzen, die weltweit angebaut werden, sind herbizid- und insektenresistente Soja, Mais- und Baumwollpflanzen. Ihnen wurden bakterielle DNA-Sequenzen übertragen, die häufig mit Markergenen verknüpft sind, die der Selektion der veränderten (transformierten) Zellen dienen. Regulatons-elemente, aus Pflanzenviren oder anderen Organismen stammend, sollen für die korrekte Ablesung der Fremd-gene und starke Ausprägung der neuen Eigenschaften sorgen. So entstandene Pflanzen werden auch als transgen bezeichnet, da ihnen Gene einer anderen Art transferiert wurden.

Die kommerzielle Nutzung der Gentechnik in der Landwirtschaft begann in den 1990er Jahren und spielt inzwischen insbesondere auf dem amerikanischen Kontinent eine große Rolle. In der EU findet GVO-Anbau kaum statt, denn der einzige GVO mit Anbauzulassung (insektenresistenter Mais MON810) kommt zwar in Spanien und Portugal auf die Felder, sein Anbau ist aber in vielen anderen EU-Ländern incl. Deutschland verboten. Seit Mitte der neunziger Jahre, als erstmals herbizidresistente Soja und insektenresistente Baumwolle in den USA auf den Markt kamen, hat sich die Palette der gentechnisch erzeugten Eigenschaften nicht wesentlich verändert: Nahezu 100% der laut ISAAA (International Service for the Acquisition of Agribiotech Applications, einer Industrie-gesponserten Organisation) global auf ca. 190 Millionen Hektar angebauten gentechnisch veränderten Pflanzen (im Wesentlichen Soja, Mais, Baumwolle und Raps) sind weiterhin resistent gegen Herbizide und/oder gegen Insekten.² Die vielfach prognostizierten Superpflanzen mit höherem Ertrag, Stresstoleranz und besserer Lebensmittelqualität sind nicht dabei.

Doch seit neue gentechnische Verfahren, gerne auch als Genom Editierung oder „gezielte“ Mutagenese bezeichnet, entwickelt werden, wecken viele Akteure in Wirtschaft, Politik und Wissenschaft die Hoffnung, dass die neue Gentechnik zu den lange versprochenen neuen, maßgeschneiderten Eigenschaften bei Pflanzen (und Tieren) führen werde. Und das präziser und sicherer als mit der alten Gentechnik, weshalb es vieler existierender gesetzlicher Regelungen im Gentechnikbereich nicht bedürfe. Um dem Klimawandel zu begegnen, höhere Erträge zu erzielen, krankheitsresistente Pflanzen und bessere Lebensmittel zu erzeugen, soll die neue Gentechnik massiv gefördert und gleichzeitig die Akzeptanz für Agrogentechnik in der Öffentlichkeit erhöht werden.

Gänzlich neu sind Überlegungen, Gentechnik im Naturschutz einzusetzen, um etwa durch die Veränderung ganzer Wildpopulationen bestimmte Naturschutzziele wie die Bekämpfung invasiver Arten zu erreichen. Neben weitreichenden Herausforderungen im Bereich der Umweltrisikoprüfung würden dadurch auch konzeptionelle Fragestellungen z. B. zum Verhältnis von Natur und Technik berührt (Schell et al. 2019). Ansätze dieser Art (auch Gene Drives genannt) und deren ökologische Risiken können im Rahmen dieses Textes nur eingeschränkt behandelt werden, umfangreiche Reviews hierzu wurden veröffentlicht (CSS – ENSSER – VDW 2019).

Laut Urteil des EuGH vom 25. 07. 2018 sind auch Organismen, die mit neuen Mutagenese-Verfahren verändert wurden, gentechnisch veränderte Organismen (GVO) und damit dem EU-Gentechnikrecht (Freisetzungsrichtlinie 2001/18/EG und Verordnung (EG) 2003/1829 über genetisch veränderte Lebensmittel und Futtermittel sowie Verordnung (EG) 2003/1830 zur Rückverfolgbarkeit und Kennzeichnung von GVO und daraus hergestellten Lebens- und Futtermitteln) unterworfen.³ Diese Entscheidung wurde von Umwelt- und Verbraucherverbänden und Zivilgesellschaft begrüßt, jedoch von Befürworter*innen der neuen Gen-

² <https://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/55/default.asp>
³ <https://curia.europa.eu/jcms/upload/docs/application/pdf/2018-07/cp180111de.pdf>

technik in Wirtschaft, Politik, Wissenschaft und Medien teilweise heftig kritisiert.

Am 29. April 2021 veröffentlichte die EU-Kommission ihren von den Mitgliedstaaten in Auftrag gegebenen Bericht zum Status neuer genomischer Techniken unter EU-Recht.⁴ Die Kommission kommt zum Schluss, neue Gentechnik könne zu nachhaltigeren Lebensmittelsystemen beitragen und für viele gesellschaftliche Bereiche von Nutzen sein, Bedenken gegenüber Erzeugnissen der neuen Gentechnik seien untersucht worden. Es gebe deutliche Hinweise, dass die geltenden GVO-Rechtsvorschriften für einige der neuen Gentechnikverfahren nicht zweckmäßig seien und an den wissenschaftlichen und technischen Fortschritt angepasst werden müssten. Beispielsweise fehlten Mechanismen, um die Entwicklung von Produkten zu fördern, die den Nachhaltigkeitszielen des Europäischen Green Deal und der Farm-to-Fork und Biodiversitäts-Strategie der EU dienen. Im Herbst 2021 fand eine erste Phase der öffentlichen Konsultation statt, an der sich über 70.000 Bürger*innen und Organisationen beteiligten, eine zweite Konsultation folgte im Sommer 2022.⁵ Die Kommission hat angekündigt, im zweiten Quartal 2023 einen Vorschlag zur Regulierung vorzulegen. Die Debatte um die künftige Regelung der neuen Gentechnik in der EU ist damit eröffnet.

⁴ https://ec.europa.eu/food/plants/genetically-modified-organisms/new-techniques-biotechnology/ec-study-new-genomic-techniques_en

⁵ https://ec.europa.eu/info/law/better-regulation/have-your-say/initiatives/13119-Legislation-for-plants-produced-by-certain-new-genomic-techniques_en

Was ist neue Gentechnik?

Die neue Gentechnik verspricht, die genetische Sequenz lasse sich wie ein Text präzise umschreiben – „editieren“ –, sie wird deshalb häufig auch als Genom-Editierung (genome editing) bezeichnet. Nutzer*innen und Anwender*innen argumentieren, da der Ort der Änderung bekannt sei, gehe Genom-Editierung mit einer größeren Genauigkeit und deshalb weniger Risiken einher als der bisherige zufällige Einbau von Fremd-DNA.

Bei den neuen gentechnischen Verfahren geht es vorzugsweise um den Einsatz von Endonukleasen (DNA-spaltenden Enzymen), die DNA an bestimmten Erkennungssequenzen schneiden (englisch: site-directed nucleases) (Hilscher et al. 2016). Voraussetzung für all diese Verfahren ist, dass die entsprechenden DNA-Sequenzen bekannt sind. Die so entstehenden Doppelstrangbrüche der DNA werden durch zelleigene Reparatursysteme „geheilt“, wobei häufig Fehler (Mutationen) entstehen. Der vorwiegend auftretende Reparaturprozess wird als **Non-Homologous End Joining** (NHEJ, nicht-homologe Endverknüpfung) bezeichnet. Bei dieser vom Experimentator nicht zu steuernden Reparatur können Veränderungen (Mutationen) der DNA-Sequenz entstehen, indem z. B. falsche Basen eingefügt werden, kleinere Sequenzen eingebaut werden oder auch verloren gehen (indels: insertions, deletions). Dadurch können – in jedem Einzelfall unterschiedlich – die Leseraster der betroffenen Gene verändert werden, was zum Ausschalten der Genfunktion führen kann (knock-out), aber auch zur Veränderung des Genprodukts. Selten scheint ein weiteres Reparatursystem aktiv zu sein, das in der Zelle vorliegende DNA-Sequenzen als Vorlage nimmt und als HDR (**H**omology-**D**irected **R**epair) bezeichnet wird. Da HDR nur in einer bestimmten Phase des Zellzyklus erfolgt, werden die meisten DNA-Schäden durch die zu zufälligen Veränderungen führende nicht-homologe Endverknüpfung (NHEJ) repariert.

Die älteren Verfahren TALEN (**T**ranscription **A**ctivator-**L**ike **E**ffector **N**uclease) und ZNF (**Z**inc-**F**inger **N**uclease) nutzen Proteine, die sowohl Bereiche zur Erkennung

bestimmter DNA-Sequenzen als auch solche mit Nuklease-Funktion besitzen (Townsend et al. 2009). Die Proteine funktionieren als Dimer, d. h. es müssen jeweils zwei TALEN bzw. ZFN Proteine vorhanden sein, die an die DNA binden und einen Doppelstrangbruch herbeiführen. Beim MN-Verfahren (**M**eganuclease) werden Nukleasen mit längeren Erkennungssequenzen eingesetzt, die statistisch im Genom nur einmal vorhanden sein sollen – die erforderliche Sequenzlänge hängt damit von der Genomgröße ab, zudem scheint das „nur einmal vorhanden sein“ nur theoretisch erreichbar. Da Design bzw. Konstruktion von Proteinen mit jeweils spezifischen Erkennungssequenzen besondere Erfahrung benötigt und entsprechend langwierig ist, erfuhren diese Verfahren, obwohl schon länger bekannt, keine sehr breite Anwendung. Eine weitere Technik ist ODM (**O**ligonucleotide-**D**irected **M**utagenesis) – hier werden kurze, synthetisch hergestellte einzelsträngige DNA-Abschnitte (Oligonucleotide), die bis auf kleine Abweichungen komplementär zu bestimmten DNA-Sequenzen sind, in die Zellen eingebracht. Mutationen sollen so gezielt erzeugt werden, wobei die zellulären Vorgänge, die dies bewerkstelligen, nicht im Einzelnen verstanden sind. Der herbizidresistente Raps der Firma Cibus soll so entstanden sein.

Seit einigen Jahren haben jedoch neue Verfahren Einzug in Forschung und Entwicklung gehalten: CRISPR/Cas (**C**lustered **R**egularly **I**nterspaced **S**hort **P**alindromic **R**epeats)/Cas (**C**RISPR-**a**ssociated)). Die Systeme stammen aus Bakterien und dienen dort der Immunabwehr gegen eindringende Viren. Dabei werden Fragmente aus dem Erbgut der Viren (in Form eines regelmäßigen Musters sich wiederholender und umgekehrt angeordneter Sequenzen) ins bakterielle Erbgut integriert, um dann in RNA-Schnipsel umgesetzt zu werden. Bei einer wiederkehrenden Infektion können Bakterien mit Hilfe des CRISPR/Cas-Systems das virale Genom erkennen und zerschneiden. Vergleichbare Abwehrsysteme mit jeweils eigenen strukturellen und enzymatischen Eigenschaften kommen in vielen Bakteriengattungen vor (Nishimasu und Nureki 2017). Das am häufigsten genutzte

CRISPR/Cas-System ist CRISPR/Cas9 aus dem Bakterium *Streptococcus pyogenes*. Von den „Erfinderinnen“ Doudna und Charpentier (2014) wurde erkannt, dass es auch als molekularbiologische Methode genutzt und in verschiedenen Organismen angewandt werden kann. Die beiden Wissenschaftlerinnen erhielten hierfür 2020 den Nobelpreis für Chemie. In zahlreichen Publikationen der letzten Jahre wurde gezeigt, dass sich das System vergleichsweise leicht an neue Ziele und Organismen anpassen lässt. Diese Flexibilität hat zu einer beispiellosen Ausweitung der Anwendung geführt. Ein im Auftrag der EU-Kommission erstellter „State-of-the-Art“ Bericht nennt Methoden und Ziele der Veränderung von Pflanzen, Tieren und Mikroorganismen (Broothaerts et al. 2021).

Funktionsweise von CRISPR/Cas9

CRISPR/Cas9-Systeme bestehen aus RNA-Protein-Komplexen, die mittels einer synthetischen RNA (guide RNA) eine Komponente zur Erkennung spezifischer DNA-Sequenzen und – mit dem Cas9 Enzym – eine Nuklease aufweisen. Über die guide RNA wird das Cas-Protein an die sequenzmäßig passende gewünschte Stelle der DNA geleitet und in Position gebracht. Dort schneidet die Nuklease den DNA-Doppelstrang, sofern direkt angrenzend eine spezifische kurze PAM-Sequenz (**Protospacer Adjacent Motif**) im Genom vorhanden ist. Diese PAM-Sequenz ist charakteristisch für jedes Cas-Enzym und für die Öffnung des Doppelstrangs erforderlich. Passt die davor liegende DNA-Sequenz zur guide RNA, wird Cas9 aktiv und schneidet den Doppelstrang. Die jeweils aktiven zelleigenen Reparatursysteme verknüpfen anschließend die DNA wieder. Dieser nach dem Zufallsprinzip stattfindende Prozess (als **Site-Directed Nuclease 1, SDN 1** bezeichnet) ist fehlerbehaftet.

Da es wesentlich einfacher ist, eine zur anvisierten DNA-Sequenz passende RNA zu synthetisieren, als ein Protein an eine bestimmte DNA-Sequenz anzupassen, wurde die Methode der gentechnischen Veränderung durch CRISPR/Cas rasch in vielen Labors übernommen und auf zahlreiche Organismen ausgeweitet, z. B. Mikroorganismen, tierische und menschliche Zellen und vermehrt auch Pflanzen. Dies zeigt sich in der stark anwachsenden Zahl wissenschaftlicher Publikationen, die den Einsatz von CRISPR/Cas allein bei Pflanzen beschreiben und die die Zahl der Berichte über die älteren Verfahren ZFN und TALEN rasch um ein Vielfaches überschritten (Modrzejewski et al. 2019).

Vergleichsweise selten können bei der DNA-Reparatur auch DNA-Sequenzen zum Vorbild genommen werden, die mit dem Zielbereich der DNA bis auf die gewünschte Veränderung homolog sind (**HDR Homology-Directed Repair**, von Sequenzhomologie abhängige Reparatur). Werden solche Sequenzen zusammen mit CRISPR/Cas in die Zelle eingeschleust und von den

zelleigenen Reparatursystemen als Vorlage erkannt, kann die DNA-Reparatur nach dem Doppelstrangbruch gezielter erfolgen. Dieser Fall wird als **Site-Directed Nuclease 2 (SDN 2)** bezeichnet. Der ebenfalls auf HDR beruhende Fall **SDN 3 (Site-Directed Nuclease 3)** beschreibt Verfahren, bei denen eine wesentlich größere DNA-Vorlage mit CRISPR/Cas in die Zelle eingebracht wird. Es sollen sich so ganze (auch fremde) Genabschnitte einführen lassen. Die jeweilige Veränderung kann bei diploiden Organismen an einem der Chromosomen (heterozygot) oder auch an beiden Chromosomen (homozygot) erfolgen (Zhu et al. 2017).

Durch die Nutzung verschiedener guide RNAs lassen sich mehrere unterschiedliche DNA-Zielsequenzen ansteuern und damit mehrere Gene gleichzeitig verändern bzw. ausschalten – sogenanntes **Multiplexing** (Cong et al. 2013, Li et al. 2017). Mittels zweier guide RNAs sollen sich zwischen Target-Sequenzen auch Deletionen definierter Größe erzeugen lassen (Wada et al. 2020). Andere Cas-Systeme können zur Erzeugung von Insertionen eingesetzt werden (Pickar-Oliver und Gersbach 2019). Bei Pflanzen mit mehr als zwei Chromosomensätzen wie Weizen oder Kartoffeln lassen sich mehrfach vorhandene Gene (etwa Gliadin-Gene) gleichzeitig verändern. Sanchez-Leon et al. (2018) berichten, so eine starke Reduktion des Gluten-Gehalts bei Weizen erreicht zu haben. Mit Hilfe von CRISPR/Cas9 sollen sogar ganze Chromosomenbereiche wechselseitig auszutauschen sein: Millionen Basenpaare umfassende vererbte Translokationen zwischen den Chromosomen 1 und 2 bzw. 1 und 5 wurden für *Arabidopsis thaliana* beschrieben (Beying et al. 2020). Die Kopplung von Genen (genetic linkage) in benachbarten Genombereichen ließe sich so brechen und „chromosome engineering“ ermöglichen (Rönspies et al. 2021). Auch Inversionen (in umgekehrter Reihenfolge integrierte DNA-Sequenzen), die die Paarung und den genetischen Austausch zwischen homologen Chromosomen verhindern, könnten rückgängig gemacht werden, wie am Beispiel von *Arabidopsis thaliana* gezeigt wurde (Schmidt et al. 2020).

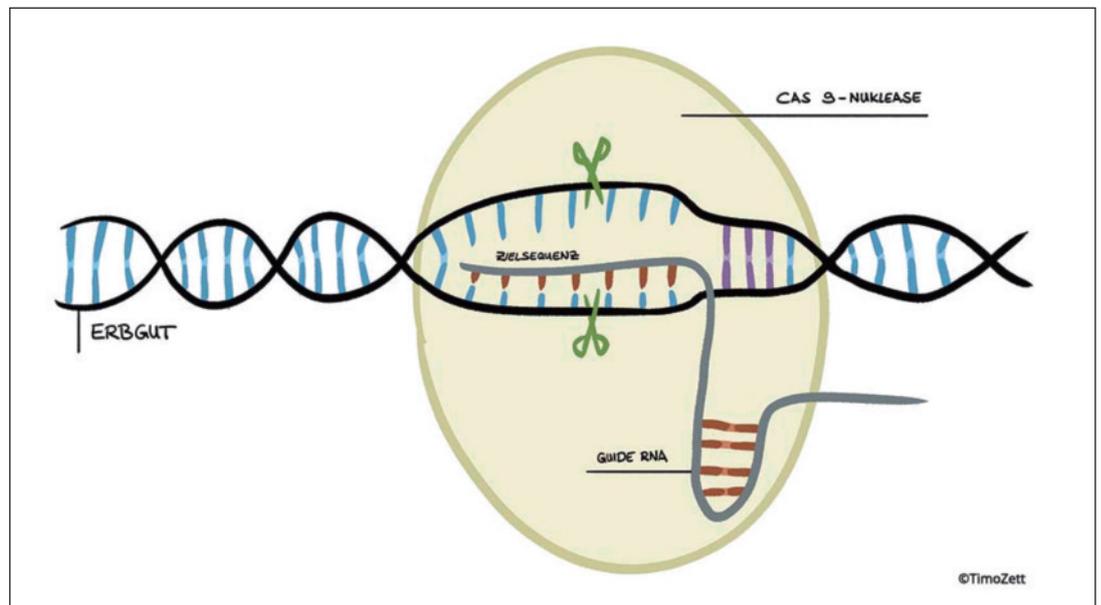


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Arbeitsweise von CRISPR/Cas: CRISPR/Cas wird durch eine spezifische guide RNA an die Zielsequenz im Erbgut des Zielorganismus geleitet und führt dort einen Doppelstrangbruch ein. In Lila ist die PAM (engl.: protospacer adjacent motif)-Sequenz dargestellt. Sie fungiert als anfängliche Erkennungssequenz für die Genschere. Passt die davor liegende Sequenz zur guide RNA, wird Cas9 aktiv und schneidet dort. (https://fachstelle-gentechnik-umwelt.de/wp-content/uploads/Hintergrundpapier_CRISPRCas_Erklaerung_der_Technik.pdf)

Die Änderung einzelner Basen wird ebenfalls angestrebt, sogenanntes Base-Editing (BE). Hier geht es darum, über einen Austausch von DNA-Basen eine echte Punktmutation zu erreichen und beispielsweise aus einem G-C Paar (Guanin-Cytosin) über Zwischenschritte ein A-T Paar (Adenin-Thymin) bzw. aus einem A-T Paar ein G-C Paar zu erzeugen (Mishra et al. 2019). Rees und Liu (2018) beschreiben darüber hinaus auch Base-Editing der RNA.

Zahlreiche Weiterentwicklungen des CRISPR/Cas Systems und in anderen Mikroorganismen gefundene Systeme sollen die Anwendung der neuen Gentechnik bei Pflanzen vereinfachen und erleichtern oder seltener zu Schnitten an unerwünschter Stelle führen. Durch Änderung des Cas-Proteins bzw. Ankopplung weiterer Komponenten könnten sich DNA-Einzelstrangbrüche erzeugen lassen oder auch die Veränderung von RNA (RNA editing). Ein aus den Bakterien *Prevotella* und *Francisella* stammendes Cas Protein (Cpf bzw. Cas12a genannt) hat eine andere PAM-Sequenz und kann mit

kleineren guide RNAs verbunden werden, zudem macht es keine glatten Schnitte in der DNA, sondern um 4–5 Nukleotide versetzte, was eine HDR-Reparatur begünstigen soll (Zetsche et al. 2015). Dass Cas12a seltener zu Schnitten an unerwünschter Stelle führt, wurde von Murugan et al. (2020) jedoch nicht bestätigt. Optimierte CRISPR/Cas9 Systeme sollen die Bildung von mehr Cas9-Enzym und die Einführung vieler verschiedener guide RNAs ermöglichen (Murovec et al. 2017, Wada et al. 2020). Ziel ist zudem, mehr Gene gleichzeitig auszuschalten, z. B. bis zu 12 Gene bei der Ackerschmalwand (Stuttman et al. 2021).

Gene Drives

Sogenannte Gene Drives stellen eine spezielle Anwendung von CRISPR/Cas dar: Mit ihrer Hilfe sollen sich neu eingefügte Transgene in Wildpopulationen entgegen den Mendelschen Gesetzen verbreiten. Die in ein Chromosom eingebauten DNA-Sequenzen für CRISPR/Cas (plus weitere Gene, sogenannte Effektorgene) sollen in jeder Generation dafür sorgen, dass die neuen Sequenzen auch im homologen Chromosom auftreten. Weisen beide Chromosomen eines Paares die genetische Veränderung auf, kann sie auf alle Kreuzungsnachkommen vererbt werden. Abhängig von der Art der Effektorgene könnte im Extremfall die Gene Drive Technologie zum Aussterben von Populationen bzw. zum Ersatz natürlicher Populationen durch gentechnisch veränderte führen (CSS – ENSSER – VDW 2019). Propagiert werden Gene Drives zur Bekämpfung der Malaria (Gantz et al. 2015) oder zur Ausrottung invasiver Arten, z. B. Mäuse und Ratten auf Inseln oder graue Eichhörnchen in Großbritannien, aber auch zur Kontrolle von Pflanzenschädlingen wie der Kirschessigfliege⁶ und unliebsamen Beikräutern, indem beispielsweise herbizidresistente Wildpopulationen wieder empfindlich werden (Neve 2018). Gene Drive Organismen sind zweifellos GVO – und unterliegen als solche dem EU-Gentechnikrecht.

Die einzubauenden Sequenzen für die Cas-Nuklease und guide RNA sowie für Regulations- und Effektorgene werden dabei flankiert von Bereichen, die homolog zur adressierten Integrationsstelle (Erkennungssequenz) im jeweiligen pflanzlichen oder tierischen Genom sind. So wird die Wahrscheinlichkeit für die ansonsten selten stattfindende DNA-Reparatur durch HDR (homology directed repair) erhöht (entspricht dem Fall SDN 3). Abhängig vom jeweiligen Regulationssystem werden die integrierten CRISPR/Cas Sequenzen aktiviert und Cas-Protein und guide RNA gebildet (Hammond et al. 2021). Die Erkennungssequenz auf dem homologen Chromosom wird angesteuert und geschnitten. Bei der Reparatur des Doppelstrangbruchs durch HDR werden dann die CRISPR/Cas Sequenzen

(incl. der Effektorgen-Sequenzen) als Vorlage verwendet. Das soll sich in jeder Generation wiederholen. Laut Gantz et al. (2015) wiesen nahe 100 % der Nachkommen von Kreuzungen zwischen Gene Drive *Anopheles stephensi* Mücken und Wildtypen die gentechnischen Veränderungen ebenfalls auf. Die in diesem Fall mit transferierten Effektorgene sollen die Übertragung der Malaria-Erreger behindern. Gemäß den Mendelschen Vererbungsregeln würden nur ca. 50 % der Kreuzungsnachkommen eine solche Veränderung tragen.

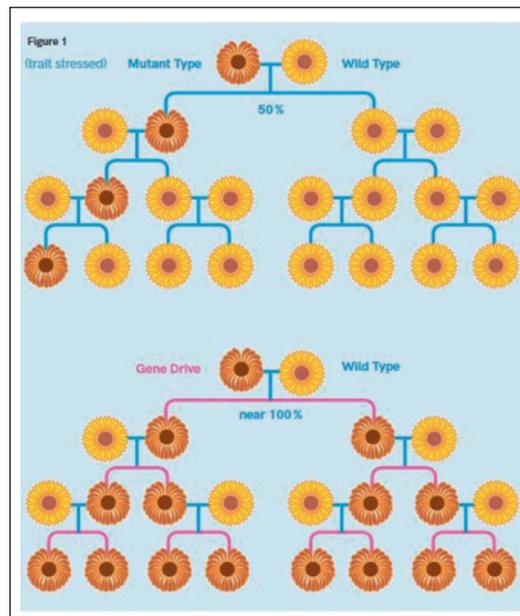


Abbildung 2: Gene Drives – Vergleich mit Mendelscher Vererbung (Nach CSS – ENSSER – VDW 2019, S. 23): Eine Mutation, die keinen Fitnessvorteil mit sich bringt, wird nach den Mendelschen Regeln (Vererbungsrate von 50 %) rasch aus einer Population verschwinden. Ein synthetisches Gene Drive System mit einer Vererbungsrate von nahe 100 % sorgt hingegen für die Ausbreitung der Eigenschaft, selbst wenn damit keine klaren Fitnessnachteile verbunden sind. Aktuell beziehen sich die Gene Drive Ansätze vorwiegend auf Tiere, insbesondere Insekten.

⁶ <https://www.technologyreview.com/2017/12/12/147135/farmers-seek-to-deploy-powerful-gene-drive/>

Mit neuer Gentechnik veränderte Pflanzenarten

Seit den ersten Berichten über eine gentechnische Veränderung von Pflanzen mit Hilfe des CRISPR/Cas9 Systems (Shan et al. 2013, Li et al. 2013, Nekrasov et al. 2013) wurden allein bis 2018 weit über tausend wissenschaftliche Studien zur Genom Editierung bei Pflanzen veröffentlicht (Liu et al. 2017, Modrzejewski et al. 2019). Stand anfänglich die Modell-Pflanze *Arabidopsis thaliana* im Zentrum, sind inzwischen nahezu alle wichtigen Kulturpflanzen Objekte der Genom-Editierung.

Die meisten Studien erschienen zu Reis, gefolgt von *Arabidopsis thaliana* und mit Abstand Tabak, Tomate, Mais, Weizen und Soja. Bearbeitet wurden auch Kartoffel, Raps, Gerste, Klee, Baumwolle und Obstarten (Apfel, Zitrusfrüchte, Wein, Banane, Kiwi, Erdbeere oder Melone). Vereinzelt Arbeiten bezogen sich auf Leindotter, Luzerne, Gurke, Erdnuss, Pilze, Kohl, Salbei, Mohn, Salat, Flachs, Maniok, Zuckerrohr, Kakao, Senf und Karotte; auch Wildpflanzen wurden genannt, etwa Pappel, Algen, Moos und Bambus. Die Übersicht von Erpen-Dalla Corte et al. (2019) zum Einsatz von CRISPR/Cas9 bei Obst-, Gemüse- und Zierpflanzen nennt im Wesentlichen die gleichen Pflanzenarten, ergänzt durch Blumen wie Chrysantheme, Prunkwinde, Lilie, Petunie, Orchidee und Clownsgesicht. Freisetzung mit genom-editierten Pflanzen fanden jedoch eher selten statt, zumeist betraf es Reis in China (Metje-Sprink et al. 2020).

Geht es nicht nur um „proof of concept“, sondern um Marktorientierung, werden vornehmlich Reis, Tomate, Mais, Kartoffel, Weizen, Soja und Raps bearbeitet. Die Tomate spielt eine wichtige Rolle, u. a. aufgrund ihrer ökonomischen Bedeutung und weil sie einfach gentechnisch zu verändern ist. In Japan wurden ab 2021 Tomaten mit höherem Gehalt an GABA (-Aminobuttersäure, die blutdrucksenkend wirken soll) kostenlos verteilt und dann auch verkauft, die zuständige Behörde hatte Ende 2020 grünes Licht gegeben (Waltz 2021).

Besonderes Potential wird der neuen Gentechnik bei Pflanzen für den Gartenbau (Li et al. 2020) und Arten mit vegetativer Vermehrung wie Kartoffel, Wein, Apfel, Banane, Zuckerrohr oder Erdbeere zugeschrieben, da sich langwierige Kreuzungsvorgänge umgehen ließen (Nadakuduti et al. 2018). Bei ein- und mehrjährigen Nutzpflanzen soll auch DNA-freie Genom Editierung möglich sein (Metje-Sprink et al. 2019). Der Einsatz von CRISPR/Cas erstreckte sich bereits auf 45 Pflanzengattungen (Mitglieder von 24 Familien) – und künftig wohl noch auf erheblich mehr, z. B. polyploide Arten mit mehr als zwei Chromosomensätzen (Shan et al. 2020) oder Bäume (Pak & Li 2022). Mit dem Ziel Kommerzialisierung werden überwiegend die „cash crops“ Raps, Soja und Mais, Kartoffeln und Weizen bearbeitet (Gelinsky 2020). Die wichtigsten Akteure dabei sind die US-Unternehmen Cibus, Calyxt, Corteva und Simplot.

Im Gegensatz zu mit neuer Gentechnik veränderten Tieren (Solomon 2020) werden in den USA „Genomeditierte“ Pflanzen mit kleinen Veränderungen, wie sie in der Natur auftreten könnten, nicht reguliert. Sie gelten als „non-regulated article“, die keiner eingehenden Prüfung bedürfen (Then 2019, Kawall et al. 2020). „Non-regulated“ sind Linien von „cash crops“ oder von Zitruspflanzen, aber auch der „non-browning“ Champignon. Im Mai 2020 wurden die US-Regeln weiter vereinfacht: Entwickler können nun selbst über „regulated“ bzw. „non-regulated article“ entscheiden und darüber, ob sie die zuständige Behörde USDA überhaupt informieren.

Eigenschaften neuer gentechnisch veränderter Pflanzen (Forschung, Pipeline, Marktzulassung)

Die Liste der mittels neuer Gentechnik angestrebten Eigenschaften ist groß und wächst ständig (Gelinsky 2020), hohe Erwartungen werden geweckt (Hüdig et al. 2022). Laut Modrzejewski et al. (2019) bezogen sich die meisten Projekte auf agronomische Eigenschaften und veränderte Lebensmittel- und Futtermittelqualität. Angestrebt wurden auch Toleranz gegen Schadorganismen und Stressfaktoren, Herbizidresistenz und industriell nutzbare Eigenschaften. Aktuelle Angaben finden sich auf Seiten des Joint Research Center (JRC) bzw. von EU-SAGE.⁷

Zu **agronomisch relevanten Eigenschaften** zählen höherer Ertrag, rascheres Wachstum, frühere Blüte und Reife, veränderte Fruchtfarbe und Wuchsform oder verbesserte Lagerfähigkeit. Obstbäume, die eine mehrjährige Jugendphase haben, sollen früher blühen (Erpen-Dalla Corte et al. 2019); mehr Ertrag soll durch größeres Samen- bzw. Fruchtgewicht, mehr Samen und verbesserte Photosynthese und Stickstoffbindung erreicht werden. Die Tomatenernte soll vereinfacht werden, indem sich die Früchte leichter vom Stiel ablösen (Gomez Roldan et al. 2017). Bei Blumen geht es vor allem darum, mittels CRISPR/Cas9 die Farbe, Haltbarkeit und Entwicklung von Blüten zu verändern bzw. zu erhöhen (Erpen-Dalla Corte et al. 2019).

Projekte zur verbesserten **Lebensmittel- und Futtermittelqualität** zielen häufig auf die Veränderung des Fettsäurestoffwechsels. So soll zwecks Haltbarkeit und Stabilität von Sojaöl der Gehalt an einfach-ungesättigter Ölsäure erhöht und der an mehrfach-ungesättigten Fettsäuren (Linol- und Linolensäure) reduziert werden, indem die Aktivität wichtiger Enzyme verringert bzw. ausgeschaltet wird (Demorest et al. 2016). In den USA wurde die von Calyxt entwickelte „high oleic low linolenic (HOLL) Soja als non-GMO auf den US-Markt gebracht,⁸ sie gilt als „non-regulated article“⁹. Anteile von etwa 80% Ölsäure (oleic acid) und

nur noch 10% mehrfach ungesättigter Fettsäuren sollen eine Härtung des Öls erübrigen (Demorest et al. 2016). Aufgrund des geringeren Ertrags scheinen Farmer allerdings nur mäßiges Interesse zu zeigen.¹⁰ Für Leindotter, Raps, Erdnuss und Reis wird ebenfalls eine veränderte Fettsäure-Zusammensetzung angestrebt (Modrzejewski et al. 2019).

Sojaöl hat normalerweise einen Anteil an einfach ungesättigter Ölsäure von 20% und einen mehr als dreifach so hohen Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren (Linolensäure 55% und Linolensäure 8%). Da der hohe Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren eine geringere Stabilität und Haltbarkeit (v. a. bei Frittieren) mit sich bringt, wird Sojaöl üblicherweise partiell gehärtet, wobei die sogenannten Transfette entstehen. Diese gelten ihrerseits als gesundheitsgefährdend, da sie zu erhöhten Cholesterolverwerten (v. a. des „schlechten“ LDL low-density lipoprotein) im Blut beitragen können. In den USA müssen seit 2003 Transfette gekennzeichnet werden und in der EU dürfen laut VO 2019/649 Transfette¹¹ in Lebensmitteln seit 01.04. 2021 nur noch maximal 2 Gramm pro 100 Gramm Fett ausmachen.¹²

Champignons (CRISPR/Cas9)¹³ und Kartoffeln (TALEN)¹⁴, die nicht oder nicht so schnell braun werden sollen, gelten ebenfalls als „non-regulated article“ (Then 2019). Entwickelt werden samenlose (Klap et al. 2017) und lange haltbare Tomaten (Yu et al. 2017) oder solche mit vorgeblich gesundheitlichem Nutzen wie höheren Gehalten des Antioxidans Lycopin (Li et al. 2018). Die GABA-Tomate (Nonaka et al. 2017) wurde in Japan bereits verteilt bzw. auf den Markt gebracht.¹⁵ Aus Tomaten-Wildarten sollen binnen kurzem Lycopin-reiche Zuchtformen mit mehr und größeren Früchten entstehen (Zsögön et al. 2018). Modrzejewski et al. (2019) bzw. Erpen-Dalla Corte et al. (2019) nennen Projekte wie geringere Schwermetallgehalte beim Reis, weniger toxische Alkaloide in Kartoffeln oder weniger Phytat im Mais (der Phosphorhaltige Inhaltsstoff Phytat bindet wich-

⁷ https://datam.jrc.ec.europa.eu/datam/mashup/NEW_GENOMIC_TECHNIQUES/index.html, <https://www.eu-sage.eu/genome-search>

⁸ <https://www.the-scientist.com/news-opinion/gene-edited-soybean-oil-makes-restaurant-debut-65590>

⁹ https://www.aphis.usda.gov/biotechnology/downloads/reg_loi/20-066-01-air-response-signed.pdf

¹⁰ <https://www.gmwatch.org/en/news/latest-news/19784>

¹¹ <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/small-entity-compliance-guide-trans-fatty-acids-nutrition-labeling-nutrient-content-claims-and>

¹² https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/fs_labellin_g-nutrition_transfats_factsheet-2019.pdf

¹³ https://www.aphis.usda.gov/biotechnology/downloads/reg_loi/15-321-01_air_inquiry.pdf

¹⁴ https://www.aphis.usda.gov/biotechnology/downloads/reg_loi/16-090-01_air_inquiry_cbidel.pdf

¹⁵ <http://www5d.biglobe.ne.jp/~cbic/english/2021/journal2101.html>, <https://sanatech-seed.com/en/210427-2/>

tige Mineralstoffe) und veränderten Weinsäuregehalt bei Weintrauben.

Der Gluten-Gehalt im Weizen soll reduziert werden, um Menschen mit Zöliakie (einer entzündlichen Darm-erkrankung, die mit einer Überreaktion des Immunsystems auf Gluten in Verbindung steht und ca. 1 % der Bevölkerung betrifft) zu helfen. Ziel ist, die mehrfach im Weizen genom vorhandenen Gene für Gliadin (Bestandteil des Klebereiweißes Gluten) per Multiple-plexing gleichzeitig zu verändern. Über eine starke Reduktion des Gluten-Gehalts durch knock-out wurde berichtet (Sanchez-Leon et al. 2018), doch da selbst geringe Mengen von Gluten Krankheitssymptome auslösen können, wären solche Weizenlinien nicht sicher für Betroffene.

Resistenz / Toleranz gegen biotische und abiotische Stressfaktoren werden besonders häufig als Ziel der neuen Gentechnik genannt. Zahlreiche Projekte beziehen sich auf Resistenzen gegen pilzliche (z. B. echten Mehltau) und bakterielle (z. B. Bakterienbrand) Krankheitserreger bei Weizen, Reis, Mais, Kartoffeln, Tomaten, Zitrusfrüchte, Wein, Apfel und Kakao (Wang et al. 2014a, Borrelli et al. 2018, Modrzejewski et al. 2019, Hüdig et al. 2022). Resistenzen gegen Viren werden etwa bei Reis, Gurken, Tabak, Kartoffel, Cassava und Gerste angestrebt (Zhao et al. 2020).

Die gentechnische Anpassung von Pflanzen an den Klimawandel und an damit einhergehende abiotische Stressfaktoren wie Hitze, Trockenheit, Nässe oder höherer Salzgehalt im Boden¹⁶ wird seit langem verfolgt, bislang jedoch mit mäßigem Erfolg. CRISPR/Cas9 soll das ändern. Ziel ist insbesondere Toleranz gegen Trockenheit und/oder gegen hohen Salzgehalt im Boden bei den cash crops Mais, Reis, Soja und Weizen (Shi et al. 2017, Modrzejewski et al. 2019, Hüdig et al. 2022). Da die Stresstoleranz jedoch auf einem komplexen Wechselspiel vieler Gene in Reaktion auf Umweltbedingungen beruht und auf verschiedenen Ebenen reguliert wird (Haak et al. 2017), ist nicht damit zu rechnen, dass die Änderung einzelner Gene

tatsächlich zum Erfolg führt (ENSSER 2021).

Industriell nutzbare Eigenschaften sollen verstärkt entwickelt werden. Projekte umfassen beispielsweise veränderte Öle für die industrielle Nutzung, reduzierte Ligningehalte bei Luzerne, Pappel oder anderen Nutzpflanzen (Modrzejewski et al. 2019) oder veränderte Stärke bei Mais, Reis und Kartoffeln, z. B. Wachsmais von Pioneer, der als Rohstoff für die Lebensmittel- und Papierindustrie nur Amylopektin enthält.¹⁷ Im Rahmen der Bioökonomie-Strategie investiert die Bundesregierung von 2020 bis 2024 bis zu 3,5 Milliarden Euro in Zukunftstechnologien,¹⁸ wie weit auch die neue Gentechnik damit gemeint ist, ist aktuell nicht ersichtlich.

Herbizidresistenz ist – neben der Insektenresistenz – seit Jahren die vorherrschende gentechnisch erzeugte Eigenschaft (88 % der global angebauten GVO, teils kombiniert mit Insektenresistenz, 12 % der GVO besitzen „nur“ eine Insektenresistenz).¹⁹ Die Kehrseite dieses „Erfolgs“ ist eine massive Zunahme der eingesetzten Menge an Herbiziden, eine Reduktion der Artenvielfalt auf und neben den Äckern sowie zahlreiche herbizidresistente Beikrautarten (Schütte et al. 2017). Pflanzen werden deshalb zunehmend mit mehreren HR-Genen ausgestattet, und das auch mit neuer Gentechnik. Die Arten Soja, Mais, Baumwolle und Raps stehen dabei im Vordergrund, aber auch Flachs, Kartoffel und Cassava – und erneut die Resistenz gegen Glyphosat sowie die Resistenz gegen ALS-Inhibitoren (Modrzejewski et al. 2019).

¹⁶ https://www.aphis.usda.gov/biotechnology/downloads/reg_loi/17-219-01_air_inquiry.pdf

¹⁷ https://www.aphis.usda.gov/biotechnology/downloads/reg_loi/15-352-01_air_inquiry_cbid1.pdf

¹⁸ <https://biooekonomie.de/nachrichten/bundesregierung-setzt-auf-biooekonomie>

¹⁹ <https://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/55/executive-summary/default.asp>

Risiken der neuen Gentechnik

Technikbedingte Risiken

Die neue Gentechnik nimmt für sich in Anspruch, mittels „site-directed nucleases“ Veränderungen gezielt herbeizuführen, d. h. präziser zu wirken und damit dem Zufallsprozess der bisherigen Gentechnik zu entkommen. Doch die Stelle des Eingriffs genauer adressieren zu können, bedeutet keineswegs, dass diese Art der gentechnischen Veränderung ohne Risiko ist (Eckertorfer et al. 2019, Agapito-Tenzen et al. 2018). Der zelleigene Reparaturmechanismus, der nach einem DNA-Doppelstrangbruch aktiviert wird, lässt sich nicht steuern – und ist auch nicht wirklich verstanden.²⁰ Die Reparatur ist fehleranfällig, kann unterschiedlich lange dauern und unterscheidet sich von der Reparatur nach einem natürlich entstandenen DNA-Doppelstrangbruch (Brinkman et al. 2018). Jede Reparatur ist deshalb ein Einzelereignis – und in ihrer Wirkung nicht vorherzusehen. Das bedeutet, es kann durch den Verlust (Deletion) oder durch Einfügen von Nukleotiden (Insertion, zusammen gerne Indels genannt) zur Veränderung des Leserasters kommen. Ein verändertes Leseraster in einem Strukturgen führt häufig zum Ausschalten von Genen (knock-out), da die mRNA-Synthese vorzeitig abgebrochen oder die Bildung eines funktionsfähigen Proteins nicht unterstützt wird. Nicht alle vermeintlichen knock-outs verhindern jedoch die Proteinexpression, es können auch verkürzte Proteine entstehen (Smits et al. 2019).

Die unerwartete Veränderung regulatorischer DNA-Sequenzen ist ebenfalls möglich. Dies kann zur Bildung der entsprechenden Proteine / Enzyme am falschen Ort (Gewebe) und/oder zum falschen Zeitpunkt / Entwicklungsstadium in falschem Ausmaß führen, was wiederum erhebliche Auswirkungen auf pflanzliche Stoffwechsel- und Entwicklungsprozesse sowie die daraus entstehenden Produkte haben kann. Epigenetische Steuerungsmechanismen (Regulierung der Genaktivität ohne Änderung der DNA-Sequenz, z. B. durch Bindung / Entfernung von Methylgruppen) bringen zusätzliche Unsicherheiten mit sich. Zudem sind viele Eigenschaften von Pflanzen genetisch sehr komplex

und beruhen auf der (meist nur unvollständig verstandenen) Wechselwirkung mehrerer bis vieler Gene und ihrer Produkte.

Parallelen zur bisherigen Gentechnik zeigen sich, bei der sich die meist durch *Agrobacterium tumefaciens* oder Partikelbeschuss eingeführten DNA-Sequenzen nach dem Zufallsprinzip ins Genom integrieren. Dabei lässt sich nicht steuern, wie viele Kopien der Transgenkassette ganz oder partiell und an welcher Stelle integriert werden und wie sich die Integrationsorte verändern. Aus einer Vielzahl von Transformanten werden diejenigen für die weitere Entwicklung ausgewählt, die dem Ziel der Transformation am nächsten kommen. Jeder GVO ist deshalb einzigartig (ein sogenannter Event) mit seinen jeweiligen Besonderheiten und unbeabsichtigten Eigenschaften (von Wilson 2020 *unintended traits* genannt). Dies drückt sich in der jeweiligen Bezeichnung der gentechnisch veränderten Pflanzensorten aus, Beispiele sind der insektenresistente MON810 Mais, der Glyphosat-resistente Mais NK603 und die Glyphosat-resistente Soja MON40-3-2.

On-target Effekte

On-target Effekten wurde zunächst wenig Aufmerksamkeit geschenkt, da es zumeist darum ging, ein Gen auszuschalten (knock-out). Wurde das entsprechende Protein nicht mehr gebildet bzw. nachgewiesen, galt dies als hinreichender Beleg für die erfolgreiche Genom-Editierung. Wesentliche Erkenntnisse über die Unwägbarkeit des Reparaturprozesses wurden v. a. an tierischen und menschlichen Zellkulturen gewonnen – wird hier doch intensiver geprüft, da beim eventuellen Einsatz neuer Gentechnikverfahren in der Medizin eine besonders große Sorgfalt erforderlich ist.

Die ungenaue Reparatur des DNA-Doppelstrangbruchs durch das bei SDN 1 (site-directed nuclease 1) vorherrschende non-homologous end-joining (NHEJ) ist regelmäßig mit (kleinen) Deletionen oder Insertionen

²⁰ Zitat: „While on the surface CRISPR-Cas9 is a simple genome editing tool, it relies on DNA repair to work, a process that is horribly complex.“ <https://www.the-scientist.com/news-opinion/crispr-can-create-unwanted-duplications-during-knock-ins-67126>

(Indels) verbunden. Dadurch u. U. entstehende Verschiebungen des Leserasters des Dreiercodes der DNA (frame-shift) können zum Abbruch der mRNA-Synthese führen und so die Bildung eines funktionsfähigen Proteins verhindern (knock-out). Statt eines knock-out kann ein frame-shift jedoch auch bewirken, dass die Reifung (Prozessierung)²¹ der an der Vorlage der „editierten“ DNA gebildeten mRNA anders verläuft – z. B. für die Proteinbildung erforderliche Sequenzen (Exons) verloren gehen – und so neue mRNA-Versionen entstehen, die ihrerseits zur Bildung neuartiger, evtl. verkürzter und in ihrer Funktion unbekannter Proteine führen (Kapahnke et al. 2016, Lalonde et al. 2017, Mou et al. 2017, Smits et al. 2019).

Der Verlust von Exons (Exon Skipping) ist laut Sharpe und Cooper (2017) eine häufige Konsequenz der Genom-Editierung durch CRISPR/Cas9. In ca. 50% der von Tuladhar et al. (2019) untersuchten kommerziell erworbenen menschlichen Zelllinien mit knock-outs für bestimmte Gene wurden unerwartete Veränderungen der mRNA Prozessierung und der Proteinsynthese – mit der Folge aberranter Proteine – nachgewiesen, nach Ansicht der Autoren durch on-target Effekte bedingt. Nicht ausgeschlossen ist auch, dass im Zuge der DNA-Reparatur – unter Einhaltung des Leserasters – größere Bereiche eines Gens verloren gehen, sodass zwar ein Protein gebildet werden kann, doch möglicherweise mit veränderter Funktion. Nach Behandlung menschlicher Zellen mit CRISPR/Cas9 fanden Park et al. (2022) sehr große unbeabsichtigte Deletionen (mehrere Kilobasen). Da solch große Deletionen nicht einfach nachzuweisen sind, wurden sie möglicherweise lange nicht erkannt. Kosicki et al. (2018) beobachteten nach Behandlung von embryonalen Stammzellen der Maus und menschlichen Zelllinien mit CRISPR/Cas9 große Deletionen (bis zu 9,5 Kilobasen) und komplexe Umordnungen der Zielregionen. Sie betonen, dass die umfangreichen on-target Effekte in ihren genetischen Konsequenzen nicht zwingend auf die Target-Region beschränkt sind, da im Falle des Verlustes von Allelen u. U. wichtige Gene nur noch einfach im Genom vorhanden sein könnten.

²¹ In höheren Zellen wird die von der DNA transkribierte mRNA vor der Umsetzung der Information in Proteine geschnitten und neu zusammengesetzt. Dabei werden nicht-kodierende Sequenzen (Introns) entfernt, die für die Proteinbildung notwendigen Sequenzen (Exons) werden zusammengesetzt. Bei diesem auch als Splicing bezeichneten Prozess können Exons unterschiedlich zusammengesetzt werden, sodass die Bildung unterschiedlicher Proteine möglich ist.

Wird mit dem CRISPR/Cas-System eine DNA-Sequenz (Donor-DNA) übertragen, die zum Zielbereich der DNA bis auf die gewünschte Veränderung homolog ist, kann es nach dem Doppelstrangbruch zur sogenannten Homologie-abhängigen Reparatur (HDR homology-directed repair) kommen. Dieser als SDN 2 (site-directed nuclease 2) bezeichnete Fall gilt als präziser in den Ergebnissen als SDN 1 – und bevorzugt anzustreben etwa bei Projekten zur Gentherapie. Doch unerwartete und unerwünschte Effekte können auch hier auftreten, wie die umfangreiche Analyse von knock-out Mäusen ergab, bei denen häufig die Integration von Mehrfachkopien der Donor-DNA nachgewiesen wurde – ein Ergebnis, das nach Ansicht der Autoren für alle Organismen von Bedeutung ist, da Duplikationen zu gefährlichen frame-shift Mutationen und zu deformierten Proteinen führen können (Skryabin et al. 2020). Mit gewöhnlichen PCR-Verfahren wären sie kaum entdeckt worden. Auch im Falle menschlicher Stammzellklone erbrachten genauere Analysen den Nachweis großer Deletionen und Insertionen (im Kilobasen-Bereich) – und zwar unabhängig davon, wie CRISPR/Cas und die für HDR eingesetzte zusätzliche DNA-Sequenz eingeführt wurden (Weisheit et al. 2020).

Da die zellulären Prozesse der DNA-Reparatur nach einem Doppelstrangbruch in Eukaryoten in ähnlicher Weise ablaufen, ist davon auszugehen, dass sich die hier beschriebenen on-target Effekte nicht auf tierische und menschliche Zellen beschränken, sondern dass es auch bei Pflanzen zu vielfältigen Effekten in der Zielregion der Genom-Editierung durch CRISPR/Cas oder andere Nuklease-Systeme kommt. So fanden Biswas et al. (2020a) bei mehreren Genom-editierten Reislinien unerwünschte on-target und off-target Veränderungen und große Deletionen (bis zu mehr als 500 Basenpaaren). Zudem können – analog zu bisherigen Verfahren der Gentechnik – Sequenzen der Vektor-Konstrukte an verschiedenen Genomorten eingebaut werden, wie an CRISPR/Cas-verändertem Raps beobachtet wurde (Braatz et al. 2017). Das bedeutet, dass obwohl der Ort des Eingriffs vermeintlich präzise ange-

sprochen wird, häufig mit unerwarteten und unbeabsichtigten Veränderungen der jeweiligen Region(en) zu rechnen ist. Dies kann zu unerwünschten Effekten auf die Aktivität der adressierten Gene und auch benachbarter Gene führen, wobei auch der genetische Hintergrund der Sorten eine Rolle spielen kann (Biswas et al. 2020a).

Off-target Effekte

Off-target Effekte der Genom-Editierung werden seit längerem diskutiert, wurde doch gezeigt, dass das CRISPR/Cas9 System nicht so spezifisch wie angenommen nur die adressierte DNA-Sequenz schneidet, sondern eine gewisse Fehlertoleranz aufweist²² (Hahn und Nekrasov 2019, Li et al. 2019). Zudem besitzen insbesondere Pflanzen häufig Genfamilien mit ähnlichen DNA-Sequenzen. Da Doppelstrangbrüche an anderen Stellen als der adressierten DNA-Sequenz mit den aktuellen Screeningverfahren nicht sicher erfasst werden, dürften sie häufiger auftreten als in der Literatur beschrieben. Tang et al. (2019) sprechen von einer „höheren Toleranz“ für off-target Effekte bei Pflanzen (im Vergleich zu Tieren), da dadurch bedingte negative Eigenschaften im Verlauf der phänotypischen Selektion während des Züchtungsprozesses eliminiert würden.

Die Erwartung, ein anderes Cas-Enzym (Cas12a, auch als Cpf1 bezeichnet) führe seltener zu off-target Schnitten, wurde von Murugan et al. (2020) nicht geteilt, sie stellten außerdem fest, dass Cpf1 dazu neigt, Einzelstrangsnitte oder sog. „nicks“ (Kerben) bei off-target-Schnitten durchzuführen. Solche „nicks“ wurden an Stellen der DNA erzeugt, die im Vergleich zur Zielsequenz bis zu vier andere Basenpaare enthielten. Zudem wurden bei Cpf1 relativ große Deletionen beobachtet (Mansor 2017).

Auch beim Einsatz von Base-Editing, das darauf beruht, dass eine „amputierte“ Cas9 Nuklease mit

Desaminasen verknüpft wird, sind off-target Effekte möglich (Tang et al. 2019, Rees und Liu 2018). Base-Editing für Cytosin führte beim Reis, im Gegensatz zu Base-Editing für Adenin, zu einer Vielzahl nicht-vorhersehbarer Punktmutationen (C->T), die bevorzugt in aktiv transkribierten (abgeschriebenen) Genregionen auftraten (Jin et al. 2019); nur umfangreiche Nachweisverfahren wie die Sequenzierung des Gesamtgenoms (WGS whole genome sequencing) würden Aussagen über das Auftreten solcher off-target Effekte erlauben. Base-Editing kann in der transkribierten RNA zu umfangreichem Austausch von Cytosin durch Uracil führen, was bei menschlichen Zellen sowohl Proteinkodierende als auch nicht-kodierende Genbereiche betraf und unabhängig von den angestrebten DNA-Veränderungen zu beobachten war (Grünwald et al. 2019). Eine veränderte Proteinbildung ist zu erwarten.

Sowohl on-target als auch off-target Effekte können Aktivität und Funktion verschiedener Gene und damit den Pflanzenstoffwechsel beeinflussen und zur Bildung neuer Toxine oder Allergene bzw. zu veränderten Wechselwirkungen der GVO mit ihrer Umwelt führen (Eckerstorfer et al. 2019). Darüber hinaus werden durch Genom-Editierung unter Umständen verborgene Mutationen offenbar, die unerwartete Effekte auf Eigenschaften haben und nur in Kombination mit anderen Mutationen wirksam werden, sodass die Ergebnisse keineswegs den Erwartungen entsprechen müssen (Soyk et al. 2019).²³

Transfer von CRISPR/Cas-Sequenzen

Zur Einführung von CRISPR/Cas in Pflanzen wird zumeist das auch in der bisherigen Gentechnik breit eingesetzte Bakterium *Agrobacterium tumefaciens* genutzt – laut Liu et al. (2017) in 88% der analysierten Fälle bzw. in 23 von 24 CRISPR/Cas9 Projekten bei Obstpflanzen und in 29 von 34 bei Gemüsepflanzen (Erpen-Dalla Corte et al. 2019). Das zuvor gentechnisch veränderte Bakterium überträgt mit Hilfe seines T-

²² Für Bakterien, aus denen das zur Abwehr von sich genetisch rasch verändernden Phagen dienende System stammt, könnte die Fehlertoleranz der Cas9-Nuklease von Vorteil sein, da eine „fehlertolerante“ Cas9-Nuklease auch Phagen-Sequenzen schneidet, die neu auftreten und eine gewisse Homologie zu bereits bekannten Sequenzen aufweisen (Li et al. 2019).

²³ <https://www.sciencedaily.com/releases/2019/05/190506124059.htm>

Plasmids die DNA für das CRISPR/Cas-System (kodierende Sequenz für Cas plus RNA) in Pflanzenzellen. Ein weiteres Verfahren der bisherigen Gentechnik, die Übertragung von DNA mittels Partikelbeschuss, findet ebenfalls, jedoch deutlich seltener, Anwendung. Den genannten Transformations-Verfahren ist gemeinsam, dass der Einbau der DNA-Sequenzen im Genom zufällig und nicht selten an mehreren Stellen erfolgt und in der Regel aus den gentechnisch veränderten (transgenen) Pflanzenzellen erst ganze Pflanzen regeneriert werden müssen. Bekannt ist, dass die Integration fremder DNA-Sequenzen häufig zu unerwarteten Veränderungen der genetischen Sequenzen und Genaktivität führt und die Integrationsorte starke Umordnungen erfahren (Reviews von Wilson et al. 2006, Mertens 2008, Jupe et al. 2019, Wilson et al. 2020).

Insbesondere bei der Transformation mit *Agrobacterium* kommt es nicht selten zu zusätzlichem unerwünschtem Transfer und Einbau bakterieller DNA-Sequenzen unterschiedlicher Längen an verschiedenen Stellen des Genoms (Jupe et al. 2019). Sie können in Genomeditierten Pflanzen verbleiben (z. B. in Reis, Biswas et al. 2020a) und lassen sich v. a. bei Integration an verschiedenen Genomorten nicht ohne weiteres durch Kreuzung entfernen (Michno et al. 2020). Wird das Cas9-Gen weitervererbt und bleibt aktiv, kann es in den Nachkommen weitere Veränderungen bewirken.

Da solcherart erzeugte gentechnisch veränderte Pflanzen der Gentechnikregelung nicht nur der EU, sondern auch der anderer Länder unterworfen sind und dies den Einsatz der Genom Editierung behindern könnte, wird vorgeschlagen, transferierte DNA-Sequenzen im Verlauf der Weiterzüchtung aus den Nachkommen zu entfernen. Doch das wäre (theoretisch) am ehesten zu erreichen, wenn es einen einzigen Integrationsort der transgenen DNA-Sequenzen gibt und das den Integrationsort tragende Chromosom in den Nachkommen nicht mehr vorhanden ist. He und Zhao (2019) diskutieren deshalb auch andere Verfahren, etwa dass sich Transgene mittels Selbstmord-Funktionen eliminieren, nachdem CRISPR/Cas aktiv war.

DNA-freie Genom-Editierung soll verhindern, dass überhaupt transgene Pflanzen entstehen (Tsanova et al. 2020). So werden Protoplasten (nackte Pflanzenzellen) mit PEG (Polyethylenglykol) behandelt, um sie für CRISPR/Cas9 Komplexe aufnahmefähig zu machen (Metje-Sprink et al. 2019, Wada et al. 2020). Auch die Einführung des DNA-freien CRISPR/Cas9 Komplexes in Maiszellen per Partikelbeschuss (Svitashev et al. 2016) wurde beschrieben wie auch die vorübergehende (transiente) Expression von CRISPR/Cas9 DNA bzw. mRNA, die in Zellen von tetra- und hexaploiden Weizenarten per Partikelbeschuss eingeführt wurden (Zhang et al. 2016 – teilweise wurden in den regenerierten Weizenpflanzen keine Transgensequenzen mehr gefunden). Diese Verfahren stellen jedoch nicht sicher, dass keine Fremd-DNA eingebaut wird, wie Andersson et al. (2018) zeigten: 80 % der Kartoffelsprosse mit bestätigten Mutationen wiesen an der Stelle des Doppelstrangbruchs unbeabsichtigte Insertionen auf, die aus nicht völlig abgebauter DNA aus dem Herstellungsprozess des Cas-Proteins sowie aus genomischer Kartoffel-DNA stammten.

Eine zusätzliche Hürde für die alte wie die neue Gentechnik ist die erforderliche Regeneration der veränderten Zellen zu Pflanzen, die auf den Einsatz von Wachstumshormonen (z. B. Auxin und Cytokinin) baut, aber nicht für alle Pflanzenarten bzw. Sorten etabliert ist. Regenerationsverfahren führen bekanntermaßen häufig zu unerwarteten Veränderungen der Genaktivität und des Phänotyps, was als somaklonale Variation bezeichnet wird (Arencibia et al. 2019, Skirvin et al. 1994). Eine erfolgreiche Regeneration gilt denn auch oft als schwieriger als die gentechnische Veränderung an sich, deshalb wird intensiv nach Alternativen zur Zell- bzw. Gewebekultur gesucht (Altpeter et al 2016), beispielsweise, indem gentechnische Veränderungen direkt am Teilungsgewebe (Meristem) der Pflanzen vorgenommen werden sollen (Maher et al. 2020).

Gene Drives

Gene Drives sind mit vielfältigen Risiken für Ökosysteme verbunden (CSS – ENSSER – VDW 2019). Dabei geht es um die Risiken der gentechnischen Veränderung und der Nutzung von CRISPR/Cas an sich wie auch um direkte und indirekte Effekte von Gene Drive Organismen auf Ökosysteme und um deren ungebremste Ausbreitung. So wären Ansätze, Insektizidresistenzen bei (Schad-)Insekten aufzuheben (Kaduskar et al. 2022), geeignet, den Insektizidverbrauch wieder zu erhöhen.

Auch wenn aktuell keine Freisetzungen von Gene Drive Organismen bekannt sind, wird in der EU und nicht zuletzt auf internationaler Ebene, z. B. im Rahmen der Konvention zur Biologischen Vielfalt, vermehrt über einen möglichen Einsatz bzw. dessen Regulierung diskutiert (Devos et al. 2021). Auch die IUCN (International Union for Conservation of Nature) debattiert seit 2016 über die Anwendungsmöglichkeiten von Gene Drive Organismen zu Naturschutzzwecken, beispielsweise der Ausrottung invasiver Arten. Die IUCN-Publikation „Genetic Frontiers for Conservation“ von 2019²⁴ wurde von vielen Verbänden und Mitgliedsorganisationen, darunter dem BUND Naturschutz in Bayern, als einseitig und nicht dem Vorsorgegedanken der früheren IUCN-Resolution entsprechend kritisiert.²⁵ Die daraufhin entworfenen „Principles on Synthetic Biology and Biodiversity Conservation“ standen zwar auf der Tagesordnung des IUCN-Kongresses 2021, doch angesichts der kontroversen Debatte wurde die Entscheidung vertagt. Bis zum IUCN-Kongress 2024 soll nun eine breit zusammengesetzte Arbeitsgruppe eine Vorlage erarbeiten.²⁶

Inzwischen werden zwar Vorschläge entwickelt, wie die unerwünschte Ausbreitung von Gene Drive Organismen oder mit ihrem Einsatz verbundene negative Effekte begrenzt werden könnten (Hammond et al. 2021, Taxiarchi et al. 2021), doch einmal freigesetzt, werden sich solche Organismen nicht mehr vollständig zurückholen lassen. Insbesondere Tiere (z. B. Moskitos

oder Nager) sind aufgrund ihrer hohen Mobilität nicht beherrschbar. Selbst ein einmaliges (zufälliges) Entkommen aus dem Labor kann zu einer umfangreichen Ausbreitung des Gene Drive Organismus führen (Simon et al. 2018). Wie v. Gleich und Schröder (2020) feststellen, wird mit dem Einsatz „sich selbst-replizierender künstlicher genetischer Elemente“ ein qualitativ neuer Stand der Entwicklung gentechnischer Methoden erreicht – eine Wiederherstellung des vorherigen Zustandes von Ökosystemen und Genotypen ist nicht zu erreichen.

Bei der „alten Gentechnik“ ging es darum, dass transgene Nutzpflanzen auf den Anbauflächen verbleiben und die Auskreuzung auf nicht-GVO und Ausbreitung auf nicht-landwirtschaftliche Flächen verhindert wird. Gene Drive Organismen hingegen sollen mit dem Ziel in die Umwelt entlassen werden, ihre Wirkung über große Zeiträume und Areale mit vielfältigen Ökosystemen zu entfalten – Auskreuzung bzw. Ausbreitung sind explizit beabsichtigt. Dabei sind Wildpopulationen, die mit Gene Drives verändert werden sollen, genetisch weitaus diverser als Nutzpflanzen und befinden sich mit zahlreichen anderen Organismen in (vielfach unbekannter) Wechselwirkung, sodass die Interaktionen zwischen Transgenen und genetischem Hintergrund sowie die der GVO mit den unterschiedlichen Umwelten extrem komplex und nicht vorhersehbar sind (Simon et al. 2018). Die Bedeutung der zu verändernden bzw. „auszulöschenden“ Arten für ihre Ökosysteme dürfte größtenteils unbekannt, zumindest unzureichend untersucht sein.

Gene Drives müssen nicht notwendigerweise einen Selektionsvorteil vermitteln, um sich unbegrenzt in der geographischen Region der betroffenen Art auszubreiten – mit möglicherweise fatalen Konsequenzen für die betreffenden Arten und Ökosysteme und deren Nahrungsketten (CSS – ENSSER – VDW 2019). Die Gentechnik-spezifischen Verfahren der Risikoabschätzung sind schon für bisherige GVO nicht befriedigend und sie sind erst recht unzureichend, wenn es um Gene Drive Organismen geht. Eine Freisetzung von Gene

²⁴ <https://portals.iucn.org/library/node/48408>

²⁵ http://www.genewatch.org/uploads/f03c6d66a9b354535738483c1c3d49e4/IUCN_let_16July2019.pdf

²⁶ <https://www.iucncongress2020.org/motion/075>

Drive Organismen ist aus diesen Gründen nicht zu rechtfertigen, eine Position, die vom Europäischen Parlament unterstützt wird. In ihrem Bericht zur EU-Biodiversitätsstrategie für 2030 forderten die Parlamentarier im Juni 2021,²⁷ dass „im Einklang mit dem Vorsorgeprinzip keine Freisetzungen von gentechnisch veränderten Gene Drive Organismen erlaubt werden sollten, auch nicht zu Naturschutzzwecken.“

Ökologische Risiken von GVO

Die EU-Freisetzungsrichtlinie (2001/18/EG) verlangt, im Zulassungsverfahren für eine Freisetzung bzw. ein Inverkehrbringen von GVO eine Umweltverträglichkeitsprüfung durchzuführen. Dabei sollen direkte, indirekte, sofortige und spätere Folgen des Ausbringens von GVO auf die menschliche Gesundheit und die Umwelt geprüft werden. Direkte Auswirkungen beziehen sich auf Effekte, die durch die GVO selbst, indirekte auf Effekte, die durch eine Kausalkette von Ereignissen (Wechselwirkungen mit anderen Organismen, Gentransfer oder veränderte Nutzung) ausgelöst werden. Auswirkungen, seien sie direkt oder indirekt, können sofort, d. h. während des Zeitraums der Freisetzung/des Anbaus der GVO, beobachtet werden oder in einer späteren Phase. Zudem ist eine Analyse der mit der Freisetzung und dem Inverkehrbringen zusammenhängenden kumulativen langfristigen Auswirkungen (z. B. auf Flora und Fauna, Bodenfruchtbarkeit, Abbau organischer Stoffe im Boden, Nahrungskette, biologische Vielfalt und Gesundheit von Tieren und Menschen) durchzuführen.

Zu direkten Effekten von GVO zählen solche, die durch die intendierten neuen Eigenschaften bedingt sind, aber auch solche, die aufgrund der Gentechnik-inhärenten Risiken und Unwägbarkeiten (on- und off-target Effekte) auftreten. In beiden Fällen können sich die Interaktionen der GVO mit ihrer Umwelt (z. B. Mikroorganismen, Tiere, andere Pflanzen) in nicht vorhersehbarer und/oder unerwünschter Weise verändern.

Die Geschichte der Gentechnik liefert hier verschiedene Beispiele (Latham et al. 2006, Mertens 2008) und zeigt auch, dass Ergebnisse aus dem Labor bzw. Gewächshaus nicht unmittelbar auf das Freiland übertragbar sind, weil sich GVO im Freiland und unter Stressbedingungen häufig anders verhalten (Zeller et al. 2010, Trtikova et al. 2015). Indirekte Effekte sind etwa die Veränderungen von Anbausystemen, die als Folge des GVO-Anbaus auftreten. Bekanntestes Beispiel hierfür dürften herbizidresistente GVO sein, deren breiter Anbau nicht nur zum stark vermehrten Einsatz von Herbiziden führt und Monokulturen begünstigt, sondern auch die Resistenzentwicklung bei Beikrautarten verstärkt, was wiederum den Herbizidverbrauch steigern lässt (Schütte et al. 2017).

Nicht wenige Reviews der vergangenen Jahre befassten sich mit den möglichen Risiken für die Umwelt (für Biodiversität, Nichtzielorganismen, Bodenflora und -fauna, Gewässer etc.) die mit dem Einsatz der Agrogentechnik verbunden sind (z. B. Schütte et al. 2017, Hilbeck und Otto 2015, Venter & Bohn 2017, Bauer-Panskus et al. 2020). Einen Schwerpunkt bildeten dabei Studien zum Anbau herbizidresistenter und insektenresistenter Pflanzen und zu Fragen des Gentransfers, da GVO mit diesen Eigenschaften bzw. Eigenschaftskombinationen vorherrschen und der Gentransfer im Freiland nicht zu vermeiden ist. Der Fokus in unseren Breiten lag auf Mais und Raps. Erfahrungen mit dem Anbau von GVO mit anderen Eigenschaften sind nur bedingt vorhanden. Deshalb ist es besonders schwierig, ökologische Risiken von GVO, die mit neuer Gentechnik erzeugt werden und künftig einen Strauß an neuen, wenig untersuchten Eigenschaften aufweisen sollen, abzuschätzen. Dies gilt umso mehr, als die neue Gentechnik über Multiplexing erlaubt, in kurzer Zeit Mehrfachveränderungen in Pflanzen zu erzeugen, die zu ganz neuen, unerprobten Kombinationen von Eigenschaften führen. Es bedarf hier verbesserter Umweltisikoanalysen (Eckerstorfer et al. 2021), wie sie auch schon für die bisherige Gentechnik gefordert wurden (Hilbeck et al. 2020).

²⁷ <https://www.stop-genedrives.eu/europaeisches-parlament-fordert-verbot-der-freisetzung-von-gene-drive-organismen/>

Heinemann et al. (2021) weisen zudem darauf hin, dass die Breite der Anwendung neuer GVO von nicht zu unterschätzender Bedeutung ist. Denn im Falle einer Nicht-Regelung dürfte die Einfachheit der Genomeditierungs-Verfahren dazu verlocken, eine große Vielfalt in der jeweiligen Pflanzenart nicht erprobter Eigenschaften in unterschiedlichsten Pflanzenarten zu erzeugen und diese GVO anschließend in großer Zahl und in kurzer Zeit in die verschiedensten Ökosysteme einzuführen. Doch mit einem solchen zeitlichen und räumlichen Ausmaß der Veränderung verschiedenster Organismen, deren Wechselwirkungen in der Regel nicht bekannt sind, gibt es keinerlei Erfahrung. Die „mit den neuen Verfahren mögliche Erzeugung genetisch veränderter Sorten in einem ungleich größeren Tempo und Ausmaß als bei der Anwendung herkömmlicher Methoden der Mutagenese“ diente dem EuGH unter anderem auch als Begründung für sein Urteil vom Juli 2018.²⁸

Da die aktuell genutzte Insektenresistenz durch den Transfer von Genen für insektentoxische Proteine wie das Bt-Toxin (aus dem Bakterium *Bacillus thuringiensis* stammend) unbestritten herkömmliche Gentechnik darstellt und viele Arbeiten zu ökologischen Wirkungen von Bt-Pflanzen erschienen sind (z. B. Hilbeck & Otto 2015, Trtikova et al. 2015, Venter & Bohn 2016, Lövei et al. 2020), andererseits Ansätze zur Insektenresistenz über Genom-Editierung bislang eher selten sind, wird auf die Insektenresistenz hier nicht eigens eingegangen.

Herbizidresistenz

Die aktuell wichtigsten Eigenschaften von GVO sind Resistenzen gegen Herbizide und Insekten. Nahe 100% der global auf ca. 190 Millionen Hektar angebauten GVO tragen eine oder mehrere der entsprechenden Resistenzen.²⁹ Denn zunehmend sind GVO nicht nur resistent gegen einen herbiziden Wirkstoff, sondern gegen zwei, drei oder gar vier verschiedene, auch die Insektenresistenzgene werden kombiniert, „stacked

traits“ wurden sehr üblich. Obwohl die Problematik herbizidresistenter (HR) Pflanzen hinlänglich bekannt ist und in vielen Studien gezeigt wurde, dass ihr Anbau zu erheblichen negativen Effekten auf die Biodiversität führt und den Herbizideinsatz massiv erhöht (Schütte et al. 2017), werden weiterhin HR-Pflanzen entwickelt, inzwischen auch mittels neuer Gentechnik (Modrzewski et al. 2019). Sie sind möglicherweise sogar, da einfacher zu erzeugen, eine bevorzugte Variante.

In der Risikobewertung für GVO vernachlässigt/nicht berücksichtigt, aber aus BUND-Sicht ein wesentlicher Bestandteil des mit der Gentechnik verbundenen Risikos sind Effekte, die aus dem Anbau des GVO und der Nutzung der „traits“ entstehen. Herbizide, insbesondere das beim Anbau der meisten HR-Pflanzen eingesetzte Glyphosat, sind aus ökologischen und gesundheitlichen Gründen sehr umstritten, ein Ausstieg bzw. Verbot, zumindest eine starke Reduktion des Einsatzes, wird seit langem gefordert. Dass Risikoanalysen und EU-Zulassungsregeln für Pestizide allgemein, und damit auch für Herbizide, zwingend zu verbessern sind, wurde in einer aktuellen Studie erneut dargelegt (Robinson et al. 2020). Herbizide sind nicht nur toxisch für Pflanzen, sondern für eine Vielzahl von Organismen. Sie schädigen Mikroorganismen und beeinträchtigen das Bodenleben (van Bruggen et al. 2021, Ruuskanen et al. 2022), sie vernichten Beikräuter und nehmen der Tierwelt die Nahrungsgrundlage und tragen damit zum dramatischen Artenverlust bei. So wird der massive Rückgang der Monarchfalter-Populationen in den USA mit dem flächenhaften Verschwinden der Futterpflanze *Asclepias syriaca* (Seidenpflanze) infolge des Anbaus von HR-Pflanzen auf Millionen von Hektar in Verbindung gebracht (Saunders et al. 2017). Im Zuge des Anbaus von HR-Pflanzen stieg der Glyphosatverbrauch global um ein Vielfaches (Benbrook 2016), was das Auftreten Glyphosat-resistenter Beikräuter begünstigte. Inzwischen wurden weltweit 55 Glyphosat-resistente Beikrautarten beschrieben sowie 5 bzw. 41, die gegen Glufosinat bzw. synthetische Auxine resistent sind und sogar 169 Arten, die resistent sind gegen ALS-Inhibitoren (Hemmer der Acetolactat-

²⁸ <https://curia.europa.eu/jcms/upload/docs/application/pdf/2018-07/cp180111de.pdf>

²⁹ https://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/55/executive_summary/default.asp

Synthase).³⁰ Nicht wenige davon sind resistent gegen mehrere Herbizide.

Der vermeintlich naheliegende Schluss: GVO sollen gegen mehr Herbizide resistent sein, um die Applikation von Herbizid-Cocktails zu ermöglichen. Doch so verstärken sich die toxischen Effekte der Wirkstoffe auf Mensch und Umwelt und der Verlust der Artenvielfalt beschleunigt sich. Der Fall der in den USA auf mehreren Millionen von Hektar angebauten Dicamba-resistenten Baumwoll- und Sojapflanzen zeigt: Dicamba, ein sehr flüchtiges synthetisches Analogon des Pflanzenhormons Auxin (Indol-3-Essigsäure), schädigt zweikeimblättrige nicht-resistente Kulturpflanzen noch in großer Entfernung – und zwingt Nachbarn quasi, auf ihren Flächen zwecks Schadensbegrenzung ebenfalls Dicamba-resistente Pflanzen anzubauen.

Die von den Dicamba-Herstellern BASF und Monsanto billigend in Kauf genommenen immensen Schäden an nicht-resistenten Kulturpflanzen (neben Soja und Baumwolle auch Tomaten, Wein, Obst etc.) wurden Gegenstand gerichtlicher Auseinandersetzungen (Gillam 2020). Die Schäden an Wildpflanzen in Agrarökosystemen – und in der Folge an deren Artenvielfalt (Mortensen et al. 2012) – sind in diesen Auseinandersetzungen jedoch eher selten Thema. Dabei ist angesichts der großen Anbaufläche Dicamba-resistenter GVO von einem enormen Schadensausmaß auszugehen. Indiz dafür sind die Klagen von Obstbauern und Imkern betroffener US-Regionen über massive Ernteverluste und Schäden an Bienenvölkern, sodass Imker sogar zur Aufgabe der Imkerei gezwungen seien.³¹ Die Auseinandersetzungen führten inzwischen zu Auflagen durch die zuständigen Behörden.³²

Resistenzen gegen weitere Herbizide, z. B. Glufosinat, ALS-Inhibitoren oder 2,4-D (2,4-Dichlorphenoxyessigsäure, ein synthetisches Auxin), wie sie auch mit Genom-Editierung (teilweise in Kombination mit herkömmlicher Gentechnik) angestrebt werden (Modrzejewski et al. 2019), führen nicht zu einer nachhaltigeren Landwirtschaft. Auch diese HR-Systeme erhöhen den Verbrauch und damit die Rückstände von Herbiziden in Böden und Gewässern sowie in Lebens- und Futtermitteln, gefährden zahlreiche Organismen, reduzieren die Artenvielfalt und verstärken die gesundheitlichen Risiken für Mensch und Tier.

Andere Effekte einer Herbizidresistenz sind ebenfalls zu beachten. Die Wirkung von Glyphosat beruht auf der Hemmung der 5-Enolpyruvylshikimat-3-Phosphat-Synthase (EPSPS), die eine zentrale Rolle im Stoffwechselweg zu aromatischen Aminosäuren (z. B. Tryptophan) und weiteren wichtigen Pflanzeninhaltsstoffen (z. B. Auxin) spielt. Die Glyphosat-Resistenz beruht in aller Regel darauf, dass die Pflanzen eine nicht von Glyphosat gehemmte bakterielle EPSPS im Übermaß produzieren. Resistente Pflanzen überstehen aber nicht nur die Spritzung auf dem Feld, sondern haben auch im Falle einer Verwilderung einen Selektionsvorteil, wenn sie von Glyphosat-Abdrift betroffen sind. So wurden gentechnisch veränderte Glyphosat-resistente Rapspflanzen außerhalb von Äckern an Feldrainen oder Straßenrändern gefunden (Schulze et al. 2014).

Glyphosat-Resistenz kann selbst dann einen Fitnessvorteil mit sich bringen, wenn das Herbizid gar nicht eingesetzt wird. Beispielsweise zeigten Nachkommen transgener Glyphosat-resistenter *Arabidopsis thaliana* Pflanzen auch ohne Glyphosatbehandlung eine deutlich erhöhte Fitness: sie wurden größer, bildeten größere Blätter und mehr Biomasse und Samen, die selbst unter Hitze- und Trockenheitsstress besser keimten (Fang et al. 2018). Auch waren die Konzentrationen von Tryptophan und Auxin signifikant erhöht. Bekannt ist, dass das Pflanzenhormon Auxin bei Wachstum, Entwicklung und möglicherweise Stresstoleranz von Pflanzen eine große Rolle spielt und in wenigen Stoffwechselschritten aus Tryptophan gebildet wird (Zhao et al. 2012). Höhere Auxin-Gehalte, die mit der verstärkten EPSPS-Produktion (und höheren Tryptophangehalten) zusammenhängen, könnten deshalb die

³⁰ <http://www.weedscience.org/Pages/SOASummary.aspx>

³¹ <https://www.revealnews.org/article/bees-face-yet-another-lethal-threat-in-dicamba-a-drift-prone-pesticide/>

³² <https://investigatmidwest.org/2020/10/29/epa-documents-show-dicamba-damage-worse-than-previously-thought/>

höhere Fitness der Glyphosat-resistenten Pflanzen zumindest teilweise erklären. Veränderte Hormongehalte könnten auch die Interaktion mit Insekten verändern, wie Experimente mit wilder Baumwolle, in der das EPSPS-Transgen nachgewiesen wurde, nahelegen (Vazquez-Barrios et al. 2021).

Sind GVO fitter und produzieren mehr Samen als nicht-GVO, und dies insbesondere unter Stressbedingungen, steigt aber das Risiko für ihre Ausbreitung und Etablierung in Ökosystemen sowie für die Produktion durchsetzungsfähiger Kreuzungsnachkommen. So wurde bereits vor einigen Jahren berichtet, dass transgene Nachkommen einer Kreuzung von Glyphosat-resistentem Reis und wildem Reis eine höhere Fitness (mit mehr Keimlingen und höherer Photosyntheserate) aufweisen, was die unerwünschte Ausbreitung der Glyphosat-Resistenz in Wildarten begünstigen würde (Wang et al. 2014b). Unerwartete Effekte zeigten sich auch im Falle der Resistenz gegen Glufosinat: Das in Pflanzen neu gebildete Enzym BAR (bialaphos resistance), das Glufosinat acetyliert und damit als Herbizid wirkungslos macht, agiert nicht so spezifisch wie angenommen, sondern acetyliert auch endogene Aminosäuren wie Tryptophan (Christ et al. 2017).

Resistenz gegen Krankheitserreger

Mit dem Ziel der Resistenz gegen Pathogene wird gerne für neue Gentechnik geworben, sollen so doch Fungizide und Bakterizide eingespart werden, bzw. auch Insektizide, wenn es um die Bekämpfung von Insekten geht, die Überträger von Pathogenen sind (Modrzejewski et al. 2019, Hüdig et al. 2022). Abwehrmechanismen von Pflanzen gegen Krankheitserreger sind sehr vielfältig und stehen in engem Zusammenhang mit Umweltbedingungen (Andersen et al. 2018). Dies gilt auch für die Pathogene und ihre Vermehrung sowie die Bildung von Toxinen. Temperatur, Feuchtigkeit, CO₂ Konzentration und andere Umweltparameter üben, abhängig von Pflanzenart und Pathogen, positive, neu-

trale oder negative Effekte auf das Krankheitsgeschehen aus (Velásquez et al. 2018). So kann beispielsweise mehr CO₂ in der Luft nicht nur die Photosyntheseleistung und den Ertrag von Pflanzen steigern, sondern auch deren Empfindlichkeit gegen Pilze. Gleichzeitig kann sich die Pathogenität der Pilze erhöhen, wie Studien mit Fusarien-Pilzen und Weizensorten, die an hohe CO₂ Gehalte angepasst waren, zeigten, wobei sogar resistente Sorten Ertragseinbrüche aufwiesen (Váry et al. 2015). Wie weit Pathogenresistenzen unter Bedingungen des Klimawandels mit höheren Temperaturen und CO₂ Gehalten stabil sind und wie sie sich auswirken werden, ist demzufolge schwer vorherzusagen.

Da Details der Pathogenresistenzen vielfach nicht gut verstanden sind und in Wechselwirkung mit anderen Genen/Stoffwechselprozessen stehen, können gentechnisch erzeugte Resistenzen Nebeneffekte haben (pleiotrope Effekte). So vermögen Pilzresistenzen Wachstums- und Alterungsprozesse zu beeinflussen. Beispielsweise wurde für Gerste mit der züchterisch breit genutzten Resistenz gegen echten Mehltau (die durch den Funktionsverlust des mlo-Gens bedingt ist) eine vorzeitige Alterung mit frühzeitigem Chlorophyllabbau beschrieben (Kusch & Panstruga 2017). Dies deutet darauf hin, dass die mlo Genfamilie in eine Reihe wichtiger, im Einzelnen nicht bekannter, physiologischer Prozesse eingebunden ist, weshalb ein Knock-out des Gens mit Fitness-Kosten für die Pflanze verbunden sein kann. Außerdem wurde beobachtet, dass die mlo-Resistenz Pflanzen anfälliger gegen andere Schadpilze zu machen scheint (McCann et al. 2014). Da das pflanzliche Abwehrsystem in enger Wechselbeziehung mit dem Mikrobiom der Pflanzen steht (Hacquard et al. 2017), könnten auch die natürliche Mikroflora von Pflanzen und Boden und nützliche Mycorrhiza-Pilze durch gentechnisch vermittelte Pilzresistenzen beeinflusst werden. Zudem sind Interaktionen zwischen Pathogenen und Pflanzenschädlingen nicht ausgeschlossen, diese können bei gleichzeitigem Befall antagonistisch (gegenläufig) oder auch synergistisch (verstärkend) sein (Heimes et al. 2015).

Hinzu kommt, dass sich GVO im Freiland aufgrund variabler und nicht vorhersehbarer Umweltbedingungen nicht selten anders verhalten als im Gewächshaus, wie das Beispiel transgener GV-Weizenlinien zeigte. Im Freiland hatten die im Gewächshaus als mehltauresistent erkannten Linien bis zu 56% weniger Ertrag und eine bis zu 40fach höhere Empfindlichkeit gegen den toxischen Mutterkornpilz (Zeller et al. 2010). Die Autoren betonten, dass, abhängig vom Insertionsevent, ein Transgen große Effekte auf den Phänotyp der Pflanze haben kann und dass sich diese Effekte im Freiland umkehren können, wobei die zugrundeliegenden Mechanismen unbekannt sind.

Auch ist zu fragen, wie stabil Pathogenresistenzen bei breiter Nutzung sein können. Sollten aufgrund der Komplexität der Resistenzmechanismen zunächst vor allem auf einfacher genetischer Grundlage beruhende Resistenzen auf den Markt gebracht werden, könnten diese bei massenhaftem Anbau rasch durch unempfindliche Erregerbiotypen überwunden werden.³³

Bisher spielen virusresistente GVO kommerziell keine große Rolle, gibt es doch nur geringen Anbau von transgenen virusresistenten Pflanzen (z. B. Papaya auf Hawaii und Kartoffel bzw. Squash/Zucchini in den USA).³⁴ Ein Grund mag darin liegen, dass der gerne verwendete Ansatz der RNA-Interferenz (Wechselwirkung kurzer RNA-Sequenzen mit homologer mRNA, die zur Inaktivierung von Genen führt oder der Bekämpfung eindringender Viren dient) von Viren vergleichsweise leicht überwunden werden kann (Burgyan und Havelda 2011). Die neue Gentechnik soll nun Instrumente liefern, um der großen Vielfalt pflanzenpathogener Viren (mit Genomen aus RNA oder einzel- oder doppelsträngiger DNA) besser begegnen zu können. Ein knock-out eines für die Virusvermehrung wichtigen Wirtsfaktors kann jedoch auch zu verringertem Wachstum führen oder die Pollenbildung verhindern (Zhao et al. 2020).

Da Viren eine hohe Mutationsrate haben, ist zudem damit zu rechnen, dass sie auch der mit neuer Gen-

technik vermittelten Resistenz entkommen können. So wurde berichtet, dass virusresistente Pflanzen zur Entstehung neuer Viren beitragen können (Mehta et al. 2019). In transgenen Cassava-Pflanzen, die konstitutiv (dauerhaft) das Cas-Enzym und eine gegen Viren gerichtete guide RNA bilden (und so virale DNA nach Infektion zerschneiden sollten), zeigten bis zu 48% der editierten Virusgenome eine Mutation, die sie resistent gegen die Spaltung durch CRISPR/Cas machten. Schon nach 8 Wochen entstanden so neue Virustypen, die von der gentechnisch vermittelten Resistenz nicht mehr erfasst wurden. Wie die Autoren betonen, sind deshalb an Pflanzen, die konstitutiv ein gegen Viren gerichtetes CRISPR-Cas System ausprägen, besondere Sicherheitsanforderungen zu stellen.

Neue/veränderte Inhaltsstoffe

Viele Projekte, die sich mit einer „verbesserten Lebens- bzw. Futtermittelqualität“ befassen, zielen auf die Veränderung des Fettsäurestoffwechsels, z. B. eine Erniedrigung oder auch eine Erhöhung des Anteils an mehrfach ungesättigten Fettsäuren. Das mag auf den ersten Blick als unproblematisch für die Wechselwirkungen des GVO mit seiner Umwelt gelten, doch ein zweiter Blick ist sinnvoll, wie Studien zeigen.

Fettsäuren sind nicht nur wichtige Bestandteile der Zellmembran, sondern dienen auch als Energiereserve. Sie sind von Bedeutung bei der Reaktion auf biotischen und abiotischen Stress und fungieren in Pflanzen als Signalmoleküle während einer Insektenattacke. Die mehrfach ungesättigte Linolensäure dient (über den Octadecanoid-Stoffwechselweg) als Vorläufermolekül der Jasmonsäure, einem u. a. an der Antwort auf Stress und Pflanzenschädlinge beteiligten Hormon (Wasternack et al. 1998, Howe und Jander 2008). Linolensäure wird z. B. nach Verletzung freigesetzt und fördert so die Bildung von Jasmonsäure. Diese bringt Abwehrreaktionen in Gang und spielt eine wichtige Rolle bei der Bildung flüchtiger Stoffe, die Fraßfeinde der Schäd-

³³ <https://www.topagrar.com/acker/news/gentechnik-die-gruene-loesung-fuer-unsere-aecker-12629126.html>

³⁴ <http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/gmtrait/default.asp?TraitID=7&GMTrait=Viral%20disease%20resistance>

linge anlocken (Heil 2008). Jasmonsäure steht zudem bei der Reaktion auf Umweltstress in synergistischer und antagonistischer Wechselwirkung mit anderen Pflanzenhormonen, z. B. Abscisinsäure, Ethylen, Salicylsäure (Wang et al. 2020). Ein reduzierter Linolensäure-Gehalt wie bei den Monsanto- bzw. Calyxt-Produkten Vistive-Gold Soja bzw. HOLL/Calyno-Soja könnte sich somit nicht nur auf die Abwehr von Schadinsekten, sondern auch auf die Stresstoleranz der gentechnisch veränderten Pflanzen auswirken. Am Beispiel des Leindotters (*Camelina sativa*) untersuchte Kawall (2021a) die vielfältigen Wirkungen, die mit durch CRISPR/Cas erzeugten Änderungen des Fettsäurestoffwechsels verbunden sein können: nicht nur die Bildung von sekundären Inhaltsstoffen / Hormonen, sondern auch Wachstum, Stresstoleranz und die Rolle der Pflanzen im Nahrungsnetz können beeinflusst werden.

Sollen die als gesundheitlich besonders wertvoll geltenden, vorwiegend aus aquatischen Organismen stammenden mehrfach-ungesättigten Fettsäuren wie Omega-3-Fettsäuren (z. B. Eicosapentaen-Säure und Docosahexaen-Säure) in Nutzpflanzen gebildet werden, kann dies zu unerwarteten Effekten auf terrestrische Ökosysteme führen. Diese von Algen in aquatischen Systemen gebildeten und über die Nahrungskette weiter gegebenen Fettsäuren spielen eine wichtige physiologische Rolle in Wirbeltieren und nicht-Wirbeltieren, kommen aber in Nutzpflanzen nicht vor. Die gentechnische Veränderung von Raps (*Brassica napus*) oder Leindotter mit dem Ziel der Bildung von Omega-3-Fettsäuren (Napier et al. 2015) könnte deshalb die Interaktionen dieser GVO mit Organismen der Agrarökosysteme verändern.

Larven des Kohlweißlings (*Pieris rapae*) wuchsen bei einer Diät, die Omega-3-Fettsäuren in steigenden Anteilen enthielt (bis zu einem Gehalt, der dem in entsprechenden GVO entsprach), zu adulten Tieren heran, die zunehmend größer waren als die Kontrollen, aber kleinere und häufig deformierte Flügel aufwiesen (Hixson et al. 2016). Nicht auszuschließen ist, dass sich derartige Effekte nicht nur auf Schadschmetterlinge,

sondern auch auf andere Insekten, evtl. sogar auf Nützlinge erstrecken würden. Die Einführung von Fettsäuren, die für terrestrische Ökosysteme neu sind, könnte laut Colombo et al. (2018) die Physiologie und Reproduktion terrestrischer Organismen fundamental ändern – und dies unwiderruflich, da die Kreuzblütler Raps und Leindotter sich leicht mit nicht-GVO der gleichen oder verwandter Arten kreuzen. Dass Raps mit Wildarten fertile Nachkommen produziert, die Samen leicht verbreitet werden und über Jahre keimfähig sind, ist lange bekannt (Joergensen et al. 2009). Bei derartigen gentechnischen Veränderungen wären folglich negative und kaum zu behebende Effekte auf zahlreiche Organismen in der Umwelt wahrscheinlich.

Ein verringerter Ligningehalt der Luzerne (Handelsname HarvXtra³⁵) oder der Pappel wurde bereits mit alter Gentechnik angestrebt – und ist auch Ziel der neuen Gentechnik. So sollen Futterpflanzen eine höhere Qualität erhalten und Pappeln als Rohstoff für eine effizientere Zellstoffherstellung dienen (Jouanin et al. 2000). Lignine üben aber auch wichtige Funktionen bei der pflanzlichen Abwehr von Schädlingen und Pathogenen aus und verlangsamen den Abbau von Holz (Campbell & Sederoff 1996). Eine Veränderung von Gehalt und Zusammensetzung der Lignine könnte deshalb die Fähigkeit von Pflanzen, insbesondere Bäumen, sich gegen biotischen Stress durch Schadorganismen zu wehren, beeinflussen und die Abbaurate beschleunigen (Greiter et al. 2015).

Fitness-steigernde Eigenschaften

Die Superpflanze wird gesucht. Die Nutzpflanzen der Zukunft sollen nicht nur resistent gegen Pathogene sein, sondern angesichts des Klimawandels auch tolerant gegen abiotischen Stress, v. a. gegen Trockenheit und Hitze, aber auch gegen hohen Salzgehalt, Überflutung und Kälte. Zudem sollen sie rascher wachsen und mehr Ertrag bringen. Doch generell gilt, Stresstoleranz und Wachstumsgeschehen sind durch viele

³⁵ <https://www.foragegenetics.com/Products-Technologies/HarvXtra-Alfalfa-old>

Gene und intensive Interaktionen zwischen Pflanzen und Umwelt gesteuerte Prozesse, die auf verschiedenen Ebenen (z. B. mRNA-Bildung, Proteinsynthese, Phosphorylierung von Proteinen etc.) reguliert werden (Haak et al. 2017) und bei denen die Effekte der Veränderung eines Gens schwer vorherzusagen sind.

In bisherigen Ansätzen der gentechnischen Veränderung mit dem Ziel der Stresstoleranz ging es häufig um Gene für Transkriptionsfaktoren, die die Stressantwort regulieren, und diverse, den Stoffwechsel beeinflussende Gene (Liang et al. 2014, Hüdig et al. 2022). Diese Gene zeigen in der Regel ein breites Spektrum an Wirkungen und beeinflussen zumeist nicht nur die Reaktion gegen einen bestimmten abiotischen Stressor, sondern auch gegen andere. Sie sind zudem verbunden mit weiteren Stoffwechselwegen und können einen Fitnessnachteil mit sich bringen. Wechselwirkungen bestehen auch zwischen der Reaktion auf abiotischen Stress und der pflanzlichen Abwehr von Pathogenen (Khan 2011). Diese komplexen Mechanismen könnten auch mit verantwortlich dafür sein, dass die bisherige Gentechnik in der Erzeugung stresstoleranter Pflanzen nicht sehr erfolgreich war.³⁶ Hingegen führt die klassische Züchtung bei der Entwicklung trockenheits- bzw. stresstoleranter Pflanzen durchaus zum Erfolg, wie beispielsweise für Gerste (Wiegmann et al. 2019) oder Mais und Bohnen gezeigt wurde (Gilbert 2014, 2016).

Doch gilt auch, dass diese Eigenschaften, so sie denn vereinzelt erreicht würden, die Fitness der Pflanzen erhöhen, sie wuchskräftiger und persistenter machen, zu mehr Nachkommen führen und ihre vegetative Vermehrung beschleunigen könnten. Ihre Ausbreitung, auch in nicht-Agrarflächen und natürliche Ökosysteme, würde möglicherweise begünstigt. Wie weit sich eine erhöhte Fitness bemerkbar macht, hängt dabei auch von der Selektion durch die jeweiligen abiotischen Stressfaktoren und den Bedingungen der aufnehmenden Ökosysteme ab.

Eine höhere Kältetoleranz von Kulturpflanzen erleichtert beispielsweise die Überwinterung von Pflanzenteilen und Samen, was zu vermehrtem Durchwuchs in Folgejahren führen kann, der wiederum häufig mit Herbiziden bekämpft wird. Im Falle einer Kreuzung mit verwandten Arten und Wildpflanzen können die Nachkommen diese Fitnessvorteile ebenfalls aufweisen. Ihre Ausbreitung in Ökosysteme, in denen die betreffende Pflanzenart bisher nicht vorkam, wäre möglich – mit negativen Effekten auf die Biodiversität. Auch könnten Anbauregionen für Kulturpflanzen erweitert werden, mit der Folge einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für den Gentransfer auf verwandte Arten oder Wildarten, die von ihren bisherigen Anbauregionen isoliert waren.

Eine vermehrte Neigung zu Durchwuchs und Ausbreitung gelten als wesentliche Risikofaktoren für GVO mit Toleranz gegen abiotische Stressfaktoren (Khan 2011). Sollte es sich bei GVO mit Stresstoleranz und/oder höherem Wachstumspotential nicht mehr nur um ein- oder zweijährige Kulturpflanzen handeln, sondern um mehrjährige Pflanzen oder gar Bäume mit einer Lebensdauer von Jahrzehnten bis Jahrhunderten, ließen sich Effekte einer höheren Fitness noch wesentlich schwerer abschätzen. Denn, wie die Erfahrung mit eingeführten Arten lehrt, kann es viele Jahre dauern, bis sich eine in einem Ökosystem neue Art negativ auf dessen Artenvielfalt auswirkt (Kowarik 2003).

Gentransfer: Auskreuzung und Ausbreitung

Der Gentransfer von GVO, erfolge er über die Ausbreitung von reproduktionsfähigem Pflanzenmaterial wie Samen oder Knollen oder über die Kreuzung mit Pflanzen der gleichen oder verwandter Arten, spielt in der Risikoabschätzung von GVO eine große Rolle. Die Erfahrung in Ländern mit GVO-Anbau zeigt, dass sich die Auskreuzung der die neuen Eigenschaften vermittelnden Gene nicht verhindern lässt (z. B. Price und Cotter 2014, Greene et al. 2015). Auch die unerwünschte Ver-

³⁶ <https://ensser.org/wp-content/uploads/2021/04/Greens-EFA-GMO-Study-1.pdf>

breitung von GVO jenseits von Agrarflächen wurde wiederholt beschrieben, z. B. herbizidresistenter Raps in der Schweiz (Schulze et al. 2014) oder in anderen Ländern (Kawata et al. 2013, Schafer et al. 2011).

Kulturpflanzen kreuzen sich, abhängig von ihrem Befruchtungssystem und der Nähe verwandter Arten, durchaus nicht selten mit Wildpflanzen (Ellstrand 2003). Manche dieser kreuzungsfähigen Wildarten gelten als unerwünschte Beikrautarten, z. B. wilder Reis (Wang et al. 2014b). In den vergangenen Jahren wurden diverse Übersichtsartikel zum Gentransfer publiziert, die sich mit verschiedenen Kulturarten (Ellstrand 2003, Mallory-Smith und Zapiola 2008) oder auch speziell mit Raps (Joergensen et al. 2009) befassten.

In den Ursprungsregionen der Kulturpflanzen kommen in der Regel verwandte Wildarten vor, mit denen sich die jeweilige Kulturpflanze kreuzen kann. Dies gilt beispielsweise für Mais in Mittelamerika und Teosinte-Varietäten (*Zea mays* ssp. *mexicana* oder *Euchlaena mexicana*) als Verwandte und in Europa in besonderer Weise für Raps (*Brassica napus*), der nicht nur mit Kulturarten wie Kohl (*Brassica oleracea*) und Rübsen (*Brassica rapa*) verwandt ist, sondern auch mit Wildarten (Jørgensen et al. 2009) wie Hederich (*Raphanus raphanistrum*), der sich wiederum mit Retticharten kreuzt (Snow et al. 2001). Über solche Brückenarten könnten Transgene und veränderte Gene demnach sogar auf weiter entfernte Wildarten übertragen werden. Abhängig von der durch die neuen Gene vermittelten Eigenschaft können Wildarten so ihre Fitness steigern und Inhaltsstoffe bilden, die in ihren jeweiligen Ökosystemen neu sind. Effekte auf Mikrobiom, Bodenleben und Interaktionen mit Insekten und anderen Tieren sind zu erwarten. Aus Mexico wurde berichtet, dass eine Einkreuzung des EPSPS-Transgens in wilde Baumwolle dazu führen kann, dass sich aufgrund damit zusammenhängender Veränderungen pflanzlicher Hormone die Reaktion auf Umweltbedingungen verändert.

Sollte der Einsatz von CRISPR/Cas künftig, wie vielfach beschworen (Shan et al. 2020), auf zahlreiche andere

Pflanzenarten ausgedehnt werden, stellen sich Fragen nach Auskreuzung und Überdauerung verschärft. Zum einen dürften die Befruchtungsverhältnisse und Auskreuzungsdistanzen bei vielen der ins Visier genommenen Arten (seltener angebaute Kulturpflanzen, Zierpflanzen, mehrjährige Pflanzen, Bäume) nicht so gut untersucht sein wie bei den Kulturpflanzen, die bisher gentechnisch verändert wurden, und zum anderen erweitert sich der Reigen möglicher Kreuzungspartner enorm. Als besonders problematisch gelten in diesem Zusammenhang gentechnisch veränderte mehrjährige Pflanzen, v. a. Gehölze und solche, die Eigenschaften invasiver Arten aufweisen.

Gehölze sind kaum domestiziert, haben oft verwandte Wildarten und zeigen einen ausgeprägten genetischen Austausch innerhalb ihrer Populationen und das über große Entfernungen. Kreuzungen über Distanzen von erheblich mehr als 10 km wurden bei verschiedenen Baumarten nachgewiesen. Dies gilt nicht nur für Windblütler (Kremer et al. 2012), bei denen Distanzen von 40 bis über 100 km beobachtet wurden, sondern auch für Insekten-bestäubte Bäume wie den Speierling (*Sorbus domestica*), bei dem sich noch in Distanzen von 12–16 km Pollentransfer fand (Kamm et al. 2009). Bei Pappeln lagen die beobachteten Auskreuzungsdistanzen deutlich über den erwarteten Werten (Slavov et al. 2009). Zudem produzieren Bäume große Mengen an Samen, die v. a. durch Wind und Tiere ebenfalls über mehrere Kilometer verbreitet werden (Kremer et al. 2012).

Gehölze interagieren mit einer Vielzahl von Organismen, z. B. Destruenten, pathogene und symbiotische Pilze, Insekten, Vögel, Säuger etc., und spielen eine wichtige Rolle bei biogeochemischen Prozessen, die dem Austausch chemischer Elemente zwischen Organismen und Umwelt (Gesteine, Boden, Luft, Wasser) dienen (Greiter et al. 2015). Da Bäume außerdem lange leben und zumeist erst nach Jahren Nachkommen produzieren, sind bei der Abschätzung möglicher Effekte des Gentransfers auf die Ökosysteme nicht nur sehr große räumliche, sondern auch zeitliche Distanzen zu

berücksichtigen. In Zeiten des Klimawandels ist es schwierig bis unmöglich, zu prognostizieren, wie sich die Umweltbedingungen (Temperatur, Trockenheit, Niederschläge, Stürme, Pathogene etc.), die den Gentransfer über Auskreuzung und Samenverbreitung beeinflussen und die Interaktionen mit der Umwelt mit bedingen, entwickeln werden.

Neben der Verbreitung von vermehrungsfähigem Pflanzenmaterial durch Wind, Wasser und Tiere spielt die Verbreitung durch den Menschen eine große Rolle. Menschliche Aktivitäten sind für die meisten absichtlichen und unabsichtlichen Einführungen fremder invasiver Arten verantwortlich, und das oft über große Entfernungen. In Zeiten der Globalisierung haben Handel, Transport, Reisen und Tourismus (trade, transport, travel, tourism) die Rate der Artenausbreitung erheblich beschleunigt (Shine et al. 2000). Beabsichtigt oder unbeabsichtigt werden diese 4 „Ts“ auch die Ausbreitung bzw. den Eintrag von GVO in viele Ökosysteme beschleunigen. So wurden in der Schweiz insbesondere entlang von Bahnstrecken transgene Glyphosat-resistente Rapspflanzen nachgewiesen – obwohl im Land weder ein Anbau noch Freisetzungsversuche von Gentech-Raps stattfanden (Schulze et al. 2014, EPA-Network 2019). Bekannt ist, dass auch sogenannte sekundäre Einträge über den Transport von Erde, Pflanzenabfällen, Saatgut, Baumschulmaterial oder Setzlingen bei der Etablierung von invasiven Arten eine nicht zu vernachlässigende Rolle spielen (Kowarik 2003).

Wolfenbarger und Phifer (2000) wiesen darauf hin, dass – selbst bei Übertragung kleiner DNA-Sequenzen – der aus einer gentechnischen Veränderung erwachsende Phänotyp durch die neuen erwarteten (und nicht selten unerwarteten) Eigenschaften einen für das Netzwerk der ökologischen Wechselwirkungen neuen Organismus darstellen kann. Daraus leiteten sie ab, dass transgene Pflanzen schwere und irreversible Effekte auf Ökosysteme ausüben können, indem sie sich beispielsweise leichter ausbreiten oder Fitnessvorteile unter Selektionsdruck aufweisen. Dies gilt

grundsätzlich auch für die neue Gentechnik. Die Risiken mit Hilfe neuer Gentechnik produzierter Pflanzen könnten sich sogar noch erhöhen, da angesichts der neuen Möglichkeiten, mehrere Veränderungen – und damit neue Eigenschaften – gleichzeitig oder kurz hintereinander in Pflanzen zu erzeugen, die Unwägbarkeiten hinsichtlich ihrer Effekte auf Ökosysteme erheblich zunehmen.

Sollten gar, wie teilweise vorgeschlagen, neue GVO zu Naturschutzzwecken entwickelt und außerhalb landwirtschaftlicher Flächen eingesetzt werden, würde damit der unkontrollierten Verbreitung bewusst das Feld eröffnet. Doch Auswirkungen gentechnischer Eingriffe in wild lebenden Organismen sind aufgrund der Komplexität der biologischen Vielfalt – von der molekularen bis zur ökosystemaren Ebene – mit den derzeit zur Verfügung stehenden Methoden nicht hinreichend abschätzbar, wie das Bundesamt für Naturschutz (BfN) vor kurzem festgestellt hat.³⁷

³⁷ <https://www.bfn.de/publikationen/positionspapier/gentechnik-naturschutz-und-biologische-vielfalt>

Unterscheidbarkeit der Produkte der neuen Gentechnikverfahren von natürlichen Kreuzungen

Die große Erzählung der neuen Gentechnik lautet, einzelne Gene können erfolgreich und ohne negative Effekte verändert werden und dadurch lassen sich Organismen nach menschlichen Vorstellungen verändern und eigenen Wünschen anpassen. Was bisher Zufallsprozessen der genetischen Veränderung und der Anpassung an Umweltbedingungen unterworfen war, soll nun durch die neuen Gentechnikverfahren gezielt und auf Ebene einzelner Gene erreicht werden. Und doch soll neue Gentechnik zu Ergebnissen führen, die auch natürlicherweise entstehen könnten, z. B. infolge von spontanen Mutationen oder durch chemische bzw. physikalische Mutagenese. Argumentiert wird, kleine Sequenzänderungen (z. B. Punktmutationen) ließen sich mit modernen Methoden zwar nachweisen, doch der Nachweis sage nichts über ihre Entstehung aus. Eine gesetzliche Regelung für neue Gentechnik sei deshalb nicht sinnvoll und behindere den Fortschritt.

Doch, ähnlich wie die bisherige Gentechnik, unterscheidet sich die neue Gentechnik von bisherigen Verfahren der Züchtung. Die klassische Züchtung nutzt die genetische Vielfalt der Sorten (und verwandter Wildarten), um durch Kreuzung und anschließende Selektion der Nachkommen neue Pflanzensorten mit höherem Ertrag und/oder erwünschten Eigenschaften zu entwickeln. Zwecks Erhöhung der Mutationsrate wurden Mitte des letzten Jahrhunderts Verfahren der sogenannten induzierten Mutagenese mittels Strahlenbehandlung oder Chemikalien (Ethylmethansulfonat EMS) eingeführt. Im EU-Recht gelten solche Pflanzen zwar als genetisch verändert, sind aber von GVO-spezifischen Regelungen (insbesondere Zulassungsverfahren und Kennzeichnung) ausgenommen, da sie, wie der EuGH in seinem Urteil 2018 feststellte,³⁸ „herkömmlich bei einer Reihe von Anwendungen verwendet wurden und seit langem als sicher gelten“.

Bei nach dem Zufallsprinzip auftretenden (natürlichen und induzierten) Mutationen werden zelluläre Reparaturprozesse aktiv, die die genetische Integrität erhalten und möglicherweise bestimmte Genbereiche besonders vor Veränderung schützen (Kawall 2019).

Natürliche Mutationen scheinen sich in bestimmten Genregionen (Anfang und Ende) zu häufen, wohingegen zentrale Genbereiche durch epigenetische Markierungen und direkte Reparatur geschützt werden, Genbereiche, deren Mutation vermutlich eher schädlich wäre. Monroe et al. (2022) zeigten vor kurzem, dass bei *Arabidopsis thaliana* Mutationen innerhalb von Genen halb so häufig auftreten wie in Bereichen zwischen den Genen und in essentiellen Genen sogar noch seltener (um zwei Drittel reduziert). Doch die neuen Gentechnikverfahren, deren Nukleasen einzelne DNA-Sequenzen adressieren, können diese Schutzmechanismen umgehen, wodurch die Wahrscheinlichkeit für genetische Veränderungen erhöht wird. Damit werden Genbereiche, die bisherigen Methoden nicht zugänglich waren, der Veränderung eröffnet (Kawall 2019, Kawall 2021b). Dass die Reparaturprozesse nach Doppelstrangbrüchen durch CRISPR/Cas nicht unbedingt denen nach natürlichen Doppelstrangbrüchen entsprechen, wurde von Brinkman et al. (2018) gezeigt.

Ein weiterer Unterschied liegt darin, dass mit CRISPR/Cas gleichzeitig mehrere Kopien eines Gens verändert werden können, seien sie Mitglieder von Genfamilien oder auf weiteren Chromosomensätzen vorhanden. Das CRISPR-Cas System kann an allen komplementären Sequenzen DNA-Doppelstrangbrüche und Veränderungen erzeugen, unabhängig davon, wie viele Genkopien vorhanden sind, wobei jeweils unterschiedliche on-target Effekte auftreten können. Mit natürlichen und induzierten Mutationen sind derartige Veränderungen nicht erreichbar, da sie auf Zufallsprozessen gründen. Auch die durch CRISPR-Cas mögliche gleichzeitige oder sukzessive Veränderung verschiedener Gene durch Multiplexing ist mit herkömmlichen Züchtungsmethoden nicht möglich.

CRISPR/Cas erlaubt zudem, Kopplungsgruppen (genetic linkage) zu durchbrechen. Zur Erinnerung: eng benachbarte Gene werden in der Regel gemeinsam vererbt, wohingegen weiter auseinander liegende Gensequenzen durch Crossing-over der homologen Chromosomen³⁹ während der Reifeteilung (Meiose) getrennt

³⁸ <https://curia.europa.eu/jcms/upload/docs/application/pdf/2018-07/cp180111de.pdf>

³⁹ Crossing-over: Gegenseitiger Austausch von einander entsprechenden Abschnitten der homologen Chromosomen während der Reifeteilung der Keimzellen, der zur Neukombination der genetischen Information führt. Das Auftreten von Crossing-over hängt von verschiedenen Faktoren wie Distanz, bestimmte DNA-Sequenzen u. a. ab.

werden können. Sind Gene für erwünschte Eigenschaften mit solchen für weniger erwünschte Eigenschaften gekoppelt, stellt dies die Züchtung vor Herausforderungen, lassen sich solche Genombereiche doch nur schwer trennen. Mittels CRISPR/Cas lassen sich hingegen einzelne Gene adressieren und verändern. Kwall (2019, 2021b) betont denn auch, dass Genom Editierung zu Organismen mit neuen Kombinationen von Eigenschaften führen könne, die so bislang nicht möglich waren und dass die Behauptung, die durch CRISPR/Cas herbeigeführten genomischen Veränderungen oder allelen Kombinationen seien allgemein den natürlicherweise auftretenden Veränderungen gleichzusetzen, eine irreführende Vereinfachung darstelle.

Debatte über Nachweisverfahren

Der GVO-Nachweis in Futter- und Lebensmitteln erfolgt allgemein über den Event-spezifischen Nachweis der DNA-Veränderung mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Antragsteller für das Inverkehrbringen von GVO müssen Verfahren zum Nachweis und zur Identifizierung des GVO sowie Materialproben zur Verfügung stellen. Dies gilt grundsätzlich auch für neue GVO. Für mit neuer Gentechnik erzeugte GVO bedeutet jedoch der spezifische GVO-Nachweis eine Herausforderung, da laut ENGL (European Network of GMO Laboratories) Methoden für deren Event-spezifische Identifikation nicht unmittelbar zur Verfügung stehen.⁴⁰ Mit dieser Begründung wurde häufig gefordert, auf den Nachweis neuer GVO und deren Kennzeichnung ganz zu verzichten, was möglichst auch die der Zulassung vorgeschaltete Risikoprüfung umfassen solle. Sicherheitsprüfung und Wahlfreiheit von Landwirten, Verarbeitern und Verbrauchern blieben in diesem Falle dann außen vor.

Expert*innen, die sich mit Nachweisverfahren befassen, entwickelten hingegen Vorschläge, wie die neuen GVO mit einem sogenannten Matrix-Approach nachgewiesen werden können. So schlug Bertheau (2019)

vor, neben etablierten Methoden zum Nachweis veränderter Sequenzen (und Beobachtung des Phänotyps) für neue Gentechnik charakteristische Aspekte bzw. Spuren im Erbgut in die Beurteilung einzubeziehen. Das könnten beispielsweise PAM-Sequenzen in der Nachbarschaft nachgewiesener Sequenzänderungen sein, die gleichzeitige Veränderung von Allelen oder Reste der Transgenintegration. Sollte zur Vermeidung von unerwünschter Transgenintegration das CRISPR/Cas System als RNA-Protein-Komplex in Pflanzen eingeführt werden, wäre zu prüfen, ob auch in diesen Fällen nicht völlig abgebaute DNA aus dem Herstellungsprozess des Cas-Proteins integriert wurde (Andersson et al. 2018), was sich nachweisen lassen könnte. Auch die Sequenzierung des Gesamtgenoms kann sehr aufschlussreich sein. Biswas et al. (2020b) beschreiben ein Multiplex-Verfahren zum gleichzeitigen Nachweis von Mutationen der Zielsequenzen (on-target und off-target), die sich auch von natürlicher Variation entsprechender Genombereiche unterscheiden lassen. Unbekannte off-target Effekte und Veränderungen außerhalb der Zielregion lassen sich so allerdings nicht erkennen. Auch Metabolomics-Verfahren (Kernspinresonanz und Gas- oder Flüssigkeits-Massenspektrometrie) und deren Weiterentwicklung werden empfohlen, um Veränderungen im Stoffwechsel von Genom-editierten Pflanzen nachzuweisen (Fraser et al. 2020). Bislang sind diese Verfahren jedoch sehr aufwendig und für Routineverfahren nicht geeignet.

Für eine der ersten mittels neuer Gentechnik (ODM) entwickelten und auf den kanadischen und US-amerikanischen Markt gebrachten Pflanze, den herbizidresistenten Cibus-Raps, entwickelten Chhalliyill et al. (2020) ein spezifisches Nachweisverfahren; sie wurden dabei von Verbänden der Gentechnik-freien Lebensmittelkette und Umweltverbänden unterstützt. Laut Bundesamt für Verbraucherschutz (BVL) könnte der PCR-Test grundsätzlich geeignet sein, eine Punktmutation im Genom nachzuweisen und die Sensitivität der Methode genüge den ENGL-Anforderungen. Die Methode sei aber weder ausreichend spezifisch noch robust genug, weitere Forschung sei deshalb nötig.⁴¹

⁴⁰ <https://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/doc/JRC116289-GE-report-ENGL.pdf>

⁴¹ https://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/06_Gentechnik/Ergebnisbericht_Ueberpruefung-und-Beurteilung-Nachweismethoden-fuer-herbizidtoleranten-Raps.pdf?__blob=publicationFile&etv=4

Sollten Antragsteller bei der EU einen Antrag auf Inverkehrbringen neuer GVO stellen, wären sie wie alle Antragsteller für GVO verpflichtet, Event-spezifische Nachweisverfahren zu liefern und entsprechendes Probenmaterial bereitzustellen. Die Verordnung 1830/2003/EG über die Rückverfolgbarkeit und Kennzeichnung von aus GVO bestehenden oder GVO enthaltende Produkte sowie daraus hergestellte Lebensmittel und Futtermittel besagt, dass all diese Produkte kennzeichnungspflichtig sind, es dabei aber keine Rolle spielt, ob diese Anwendung im Endprodukt nachweisbar ist. Zur plausiblen Überprüfung gilt das Prinzip der Rückverfolgbarkeit, d. h. es müssen für jeden GVO geeignete „Rückverfolgbarkeitssysteme“ entwickelt werden. Diese Regeln gelten auch für neue GVO und daraus hergestellte Produkte, d. h. die Kennzeichnungspflicht ist nicht allein vom Nachweis abhängig.

Dessen ungeachtet sind EU-Kommission und Mitgliedsstaaten aufgefordert, geeignete Nachweisverfahren zu entwickeln. Auch sind die Voraussetzungen zu schaffen, dass die mit GVO-Nachweisen betrauten staatlichen und privaten Laboratorien für mit neuer Gentechnik entwickelte Pflanzen zertifizierte Nachweisverfahren anwenden können. Verunreinigungen durch nicht-zugelassene GVO – beispielsweise in importiertem Saatgut – stellen besondere Herausforderungen dar. Da sich die gesetzlichen Regelungen global durchaus unterscheiden und eine Offenlegung von Daten über neue GVO (derzeit) nicht allgemein zwingend ist, schlagen Ribarits et al. (2021) ein international koordiniertes Vorgehen und die Nutzung öffentlich zugänglicher Daten zu Forschungs- und Entwicklungsprojekten vor. Hierunter fallen z. B. die Biosafety Clearing House Plattform des UN-Biosicherheitsprotokolls⁴², die Euginius-Datenbank⁴³, wissenschaftliche Arbeiten oder auch Patente. Darüber hinaus muss sich die EU für ein internationales, öffentlich zugängliches Register für **alle** neuen GVO einsetzen, die in Freisetzung getestet und auf den Markt gebracht werden sollen. Vorschläge zur Entwicklung von Nachweisverfahren finden sich auch in der Studie des Bundesamts für Naturschutz (Ribarits et al. 2022).

⁴² <https://bch.cbd.int/en/registries>

⁴³ <https://euginius.eu/euginius/pages/home.jsf>

Schlussfolgerung

Mit Blick auf die angestrebten Veränderungen durch Genom-Editierung und vor dem Hintergrund der Erfahrungen der letzten 25 Jahre GVO-Anbau lassen sich unterschiedliche Risiken identifizieren:

- durch die Technik und deren Unwägbarkeiten bedingte Risiken
- Risiken, die im Zusammenhang mit unerwünschten Veränderungen / Eigenschaften auftreten, aber auch das Risiko
- dass es trotz Ausprägung erwünschter Eigenschaften zu unerwünschten Effekten kommt, indem beispielsweise die Wechselwirkungen der Pflanzen mit anderen Organismen und die Nahrungsketten verändert werden. Und schließlich bestehen
- Risiken durch die Veränderung der Agrarsysteme, wie sie inzwischen im Fall der Herbizidresistenz zur Genüge zu beobachten sind. Darüber hinaus könnten
- gentechnisch veränderte Organismen mit einer Vielzahl neuer Eigenschaften und in einem bislang räumlich und zeitlich nicht bekannten Ausmaß in Ökosysteme eingebracht werden.

Ein Abbau der gesetzlichen Regelungen ist deshalb keinesfalls angezeigt: Die neue Gentechnik und die daraus entstehenden Organismen und Produkte müssen mindestens den gleichen Regelungen wie die alte Gentechnik unterworfen bleiben.

Forderungen an politische Entscheidungsträger*innen

Neue gentechnische Verfahren müssen im Rahmen der Freisetzungsrichtlinie gesetzlich reguliert bleiben. Das Vorsorgeprinzip muss auch für Pflanzen, deren Genom durch neue gentechnische Techniken verändert wurde, ohne Abstriche gelten. Die Vorgaben der Freisetzungsrichtlinie zur Genehmigungspflicht mit umfassender Risikobewertung, Rückverfolgbarkeit und Kennzeichnung der GVO und daraus hergestellter Lebens- und Futtermittel sowie die Erfassung in einem öffentlich zugänglichen Standortregister sind beizubehalten. Damit wird auch das EuGH-Urteil von Sommer 2018 umgesetzt.

Verbesserung der Zulassungsprüfung und Risikoabschätzung von GVO allgemein. Statt einer Aufweicheung des Gentechnik-Regulierungsrahmens ist eine deutliche Ausweitung der Risikobewertung für GVO – alt und neu – erforderlich. In den letzten Jahren gingen nur 1,6% der EU-Forschungsausgaben in die Entwicklung von Nachweismethoden, Risikobewertung und Überwachung für neue GVO.⁴⁴ Und seit Jahren werden auf EU-Ebene GVO zugelassen, gegen die es erhebliche ökologische Bedenken gibt, die jedoch in der Prüfung kaum berücksichtigt werden. Die neue Gentechnik beinhaltet zudem spezifische Risiken, u. a. ermöglicht sie umfassendere und schnellere Veränderungen als die bisherige Gentechnik.

Sicherstellung der Kennzeichnung und Rückverfolgbarkeit, Entwicklung von Nachweisverfahren. Die Entwicklung von Nachweisverfahren für neue GVO und daraus hergestellte Lebens- und Futtermittel wurde sträflich vernachlässigt, wohingegen erhebliche öffentliche Mittel in die Anwendungsforschung mit neuen GVO geflossen sind.⁴⁵ Bundesregierung und EU-Kommission sind dringend aufgefordert, hier nachzusteuern und dafür zu sorgen, dass die Sicherstellung von Nachweisen vergleichbares Gewicht bekommt.

Verbesserung der Kennzeichnungsregeln für GVO-Futter- und Lebensmittel (inkl. tierische Produkte), Nulltoleranz nicht zugelassener GVO in Lebensmitteln und Saatgut wahren. Produkte von Tieren, die

mit gentechnisch veränderten Futterpflanzen gefüttert wurden, müssen gekennzeichnet werden. Dazu ist eine Änderung des EU-Rechts notwendig. Dafür muss Deutschland aktiv auf die EU-Kommission zugehen und unter den Mitgliedstaaten Verbündete suchen. An der Nulltoleranz für nicht zugelassene GVO-Bestandteile in Lebensmitteln sowie an der Saatgutreinheit darf nicht gerüttelt werden. Dem Bestreben von GVO-Produzenten, Schwellenwerte für nicht zugelassene GVO einzuführen, ist ein Riegel vorzuschieben.

Keine Freisetzung von Gene Drive-Organismen. Deutschland muss sich international für Regelungen für ein Verbot der Freisetzung von Gene Drive-Organismen stark machen.

Förderung ökologischer Innovationen. Gentechnik ist keine Antwort auf die drängenden Nachhaltigkeitsprobleme der Landwirtschaft. Gebot der Stunde ist hingegen die massive Förderung der Agrarwende und ökologischer Innovationen (Stärkung Agrarökologie, Verbot von Pestiziden, Ausbau Bioanbau, ökologische Saatgutzüchtung, Schutz der Biodiversität etc., vergl. BUND-Position Landwirtschaft). Das gilt für deutsche und europäische Forschungs- und Förderprogramme gleichermaßen.

⁴⁴ Et ⁴⁵ <https://martin-haeusling.eu/presse-medien/pressemitteilungen/2814-neue-gentechnik-mehr-forschung-in-risiken-und-nachweisverfahren-investieren.html>

- Agapito-Tenfen, S.Z., Okoli, A.S., Bernstein, M.J., Wikmark, O.G., Myhr, A.I. (2018) Revisiting risk governance of GM plants: The need to consider new and emerging gene-editing techniques. *Front Plant Sci* 9:1874, doi: 10.3389/fpls.2018.01874
- Altpeter, F., Springer, N.M., Bartley, L.E., Blechl, A.E., Brutnell, T.P. et al. (2016) Advancing Crop Transformation in the Era of Genome Editing. *Plant Cell* 28:1510–1520, doi: 10.1105/tpc.16.00196
- Andersen, E.J., Ali, S., Byamukama, E., Yen, Y., Nepal, M.P. (2018) Disease resistance mechanisms in plants. *Genes* 9:339, doi: 10.3390/genes9070339
- Andersson, M., Turesson, H., Olsson, N., Fält, A.S., Ohlsson, P., Gonzalez, M.N. et al. (2018) Genome editing in potato via CRISPR-Cas9 ribonucleoprotein delivery. *Physiol Plant* 164:378–384, doi: 10.1111/ppl.12731
- Arencibia, A.D., D'Afonseca, V., Charavarthi, M., Castiglione, S. (2019) Learning from transgenesis: Advanced gene editing technologies should also bridge the gap with traditional genetic selection. *J Biotechnol* 41:22–29
- Bauer-Panskus, A., Miyazaki, J., Kawall, K., Then, C. (2020) Risk assessment of genetically engineered plants that can persist and propagate in the environment. *Environ Sci Eur* 32:32, doi: 10.1186/s12302-020-00301-0
- Benbrook, C.M. (2016) Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environ Sci Eur* 28:3, doi: 10.1186/s12302-016-0070-0
- Bertheau, Y. (2019) New breeding techniques: detection and identification of the techniques and derived products. In: *Encyclopedia in food chemistry. Reference Module in Food Science*, Publisher: Elsevier, doi: 10.1016/B978-0-08-100596-5.21834-9
- Beying, N., Schmidt, C., Pacher, M., Houben, A., Puchta, H. (2020) CRISPR-Cas9-mediated induction of heritable chromosomal translocations in Arabidopsis. *Nature Plants* doi: 10.1038/s41477-020-0663-x
- Biswas, S., Tian, J., Li, R., Chen, X., Luo, Z., Chen, M. et al. (2020a) Investigation of CRISPR/Cas9-induced SD1 rice mutants highlights the importance of molecular characterization in plant molecular breeding. *J Genetics Genomics*, doi: 10.1016/j.jgg.2020.04.00
- Biswas, S., Li, R., Hong, J., Zhao, X., Yuan, Z., Zhang, D., Shi, J. (2020b) Effective identification of CRISPR/Cas9-induced and naturally occurred mutations in rice using a multiplex ligation-dependent probe amplification-based method. *Theor Appl Genetics*, doi: 10.1007/s00122-020-03600-5
- Borrelli, V.M.G., Brambilla, V., Rogowsky, P., Marocco, A., Lanubile, A. (2018) The enhancement of plant disease resistance using CRISPR/Cas9 technology. *Front Plant Sci*, doi: 10.3389/fpls.2018.01245
- Braatz, J., Harloff, H. J., Mascher, M., Stein, N., Himmelbach, A., Jung, C. (2017) CRISPR-Cas9 targeted mutagenesis leads to simultaneous modification of different homoeologous gene copies in polyploid oilseed rape (*Brassica napus*). *Plant Physiol* 174: 935–942, doi:10.1104/pp.17.00426
- Brinkman, D.K., Chen, T., de Haas, M., Holland, H.A., Akhtar, W., van Steensel, B. (2018) Kinetics and fidelity of the repair of Cas9-induced double-strand DNA breaks. *Mol Cell* 70:801–813, doi: 10.1016/j.molcel.2018.04.016
- Broothaerts, W., Jacchia, S., Angers, A., Petrillo, M., Querci, M. et al. (2021) New Genomic Techniques: State-of-the-Art Review. doi:10.2760/710056, JRC121847
- Burgyan, J., Havelda, Z. (2011) Viral suppressors of RNA silencing. *Trends Plant Sci* 16:265–272
- Campbell, M.M., Sederoff, R.R. (1996) Variation in lignin content and composition. *Plant Physiol* 110:3–13
- Chhalliyil P, Ilves H, Kazakov S.A, Howard S.J, Johnston B.H, Fagan J. (2020) A real-time quantitative PCR method specific for detection and quantification of the first commercialized genome-edited plant. *Foods* 9(9):1245, doi: 10.3390/foods9091245
- Christ, B., Hochstrasser, R., Guyer, L., Francisco, R., Aubry, S., Hörtensteiner, S. Weng, J.K. (2017) Nonspecific activities of the major herbicide-resistance gene BAR. *Nat Plants* 3:937–945, doi:10.1038/s41477-017-0061-1
- 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. *Agri Syst* 164:31–37
- Cong, L., Ran, F.A., Cox, D., Lin, S., Barretto, R., Habib, N. et al. (2013) Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science* 339:819–823
- Corte, L.E.D., Mahmoud, L.M., Moraes, T.S., Mou, Z., Grosser, J.W., Dutt, M. (2019) Development of improved fruit, vegetable, and ornamental crops using the CRISPR/Cas9 genome editing technique. *Plants* 8:601; doi:10.3390/plants8120601
- CSS – ENSSER – VDW (2019) Gene Drives. A report on their science, applications, social aspects, ethics and regulations. <https://ensser.org/publications/2019-publications/gene-drives-a-report-on-their-science-applications-social-aspects-ethics-and-regulations/>
- Demorest, Z.L., Coffman, A., Baltés, N.J., Stoddard, T.J., Clasen, B.M. et al. (2016) Direct stacking of sequence-specific nuclease-induced mutations to produce high oleic and low linoleic soybean oil. *BMC Plant Biology* 16:225. doi: 10.1186/s12870-016-0906-1
- Devos, Y., Mumford, J.D., Bonsall, M.B., Camargo, A.M., Firbank, L.G., Glandorf, D.C.M., Nogué, F., Paraskevopoulos, K., Wimmer, E.A. (2021) Potential use of gene drive modified insects against disease vectors, agricultural pests and invasive species poses new challenges for risk assessment. *Critic Rev Biotech* doi: 10.1080/07388551.2021.1933891
- Doudna, J.A., Charpentier, E. (2014). Genome editing. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science*, 346(6213), 1258096. doi: 10.1126/science.1258096
- Eckerstorfer, M.F., Heissenberger, A., Reichenbecher, W., Steinbrecher, R.A., Waßmann, F. (2019). An EU perspective on biosafety considerations for plants developed by genome editing and other new genetic modification techniques (nGMs). *Front Bioeng Biotechnol* 7:31 doi: 10.3389/fbioe.2019.00031
- Eckerstorfer, M.F., Grabowski, M., Lener, M., Engelhard, M., Simon, S., Dolezel, M., Heissenberger, A., Lüthi, C. (2021) Biosafety of genome editing applications in plant breeding: Consideration for a focused case-specific risk assessment in the EU. *biotech* 10, <https://doi.org/10.3390/biotech10030010>
- Ellstrand, N.C. (2003) *Dangerous liaisons? When cultivated plants mate with their wild relatives.* The Johns Hopkins University Press.
- ENSSER and CSS (2021) Scientific critique of Leopoldina and EASAC statements on genome edited plants in the EU. <https://ensser.org/wp-content/uploads/2021/04/Greens-EFA-GMO-Study-1.pdf>
- EPA-Network (2019) Monitoring of Spontaneous Populations of Genetically Modified Plant Species in the Environment. <https://www.bafu.admin.ch/bafu/de/home/themen/biotechnologie/fachinformationen/ig-gmo.html>
- Erpen-Dalla Corte, L., Mahmoud, L.M., Moraes, T.S., Mou, Z., Grosser, J.W., Dutt, M. (2019). Development of improved fruit, vegetable, and ornamental crops using the CRISPR/Cas9 genome editing technique. *Plants* 8:601 doi: 10.3390/plants8120601
- Fang, J., Peng, N., 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. doi: [org/10.3389/fpls.2018.00233](https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00233)

- Fraser, P.D., Aharoni, A., Hall, R.D., Huang, S., Giovannoni, J.J., Sonnewald, U., Fernie, A.R. (2020) Metabolomics should be deployed in the identification and characterization of gene-edited crops. *Plant J* doi: 10.1111/tpj.14679
- Gantz, V.M., Jasinskiene, N., Tatarenkova, O., Fazekas, A., Macias, V.M., Bier, E., James, A.A. (2015) Highly efficient Cas9-mediated gene drive for population modification of the malaria vector mosquito *Anopheles stephensi*. <https://www.pnas.org/content/112/49/E6736>
- Gelinsky, E. (2020) Neue gentechnische Verfahren: Kommerzialisierungspipeline im Bereich Pflanzenzüchtung und Lizenzvereinbarungen. <file:///C:/Users/marth/Desktop/papers3/Gelinsky%202020,%20Kommerzialisierungspipeline%20im%20Bereich%20neue%20Gentechnik,%20Endbericht-seminar.pdf>
- Gilbert, N. (2014) Cross-bred crops get fit faster. *Nature* 513:292
- Gilbert, N. (2016) Frugal farming – The race to create super-crops. *Nature* 533:308–310
- Gillam, C. (2020) Revealed: Monsanto predicted crop system would damage US farms. <https://www.theguardian.com/us-news/2020/mar/30/monsanto-crop-system-damage-us-farms-documents>
- Gomez Roldan, M.V., Périlleux, C., Morin, H., Fernandez, S.H., David Latrasse et al. (2017) Natural and induced loss of function mutations in SIMBP21 MADS-box gene led to jointless-2 phenotype in tomato. *Scient Rep* 7:4402, doi: 10.1038/s41598-017-04556-1
- Greene, S.L., Kesoju, S.R., Martin, R.C., Kramer, M. (2015) Occurrence of transgenic feral alfalfa (*Medicago sativa* subsp. *sativa* L.) in alfalfa seed production areas in the United States. *Plos One* | doi: 10.1371/journal.pone.0143296
- Greiter, A., Heinze, B., Eckerstorfer, M., Reinisch, C., Mengl, M. et al. (2015) Transgene Bäume – Spezielle Anforderungen an die Umweltrisikoprüfung sowie mögliche Auswirkungen auf den österreichischen Wald in seinen Wirkungen und Funktionen. https://www.umweltbundesamt.at/fileadmin/site/publikationen/REPO_506.pdf
- Grünewald, J., Zhou, R., Garcia, S. P., Iyer, S., Lareau, C. A., Aryee, M. J., Joung, J. K. (2019) Transcriptome-wide off-target RNA editing induced by CRISPR-guided DNA base editors. *Nature*, 569:433–437, doi: 10.1038/s41586-019-1161-z
- Haak, D.C., Fukao, T., Grene, R., Hua, Z., Ivanov, R., Perrella, G., Li, S. (2017) Multilevel Regulation of Abiotic Stress Responses in Plants. *Front Plant Sci*, <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01564>
- Hacquard, S., Spaepen, S., Garrido-Oter, R., Schulze-Lefert, P. (2017) Interplay between innate immunity and the plant microbiota. *Annu Rev Phytopathol* 55:565–89
- Hahn, F., Nekrasov, V. (2019) CRISPR/Cas precision: do we need to worry about off-targeting in plants? *Plant Cell Rep* 38:437–441
- Hammond, A., Karlsson, X., Morianou, I., Kyrou, K., Beaghton, A., Gribble, M., Kranjc, N. et al. (2021) Regulating the expression of gene drives is key to increasing their invasive potential and the mitigation of resistance. *PLOS Genetics* <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1009321>
- He, Y., Zhao, Y. (2019) Technological breakthroughs in generating transgene-free and genetically stable CRISPR-edited plants. *aBIOTECH* doi: 10.1007/s42994-019-00013-x
- Heil, M. (2008) Indirect defence via tritrophic interactions. *New Phytol* 178:41–61. doi: 10.1111/j.1469-8137.2007.02330.x
- Heimes, C., Thiele, J., van Mülken, T., Hauser, T.P. (2015) Interactive impacts of a herbivore and a pathogen on two resistance types of *Barbarea vulgaris* (Brassicaceae). *Oecologia* 177:441–452 doi: 10.1007/s00442-014-3113-5
- Heinemann, J.A., Paull, D.J., Walker, S., Kurenbach, B. (2021) Differentiated impacts of human interventions on nature: Scaling the conversation on regulation of gene technologies. *Elem Sci Anth* 9:1, <https://doi.org/10.1525/elementa.2021.00086>
- Hilbeck, A., Otto, M. (2015) Specificity and Combinatorial Effects of *Bacillus Thuringiensis* Cry Toxins in the Context of GMO Environmental Risk Assessment. *Front Environ Sci*, doi: [10.3389/fenvs.2015.00071](https://doi.org/10.3389/fenvs.2015.00071)
- Hilbeck, A., Meyer, H., Wynne, B., Millstone, E. (2020). GMO regulations and their interpretation: how EFSA's guidance on risk assessments of GMOs is bound to fail. *Environ Sci Eur* 32:54, doi: 10.1186/s12302-020-00325-6
- Hilscher, J., Bürstmayr, H., Stoger, E. (2016) Targeted modification of plant genomes for precision crop breeding. *Biotechnol J* 11. Doi: 10.1002/biot.201600173
- Hixson, S.M., Shukla, K., Campbell, L.G., Hallett, R.H., Smith, S.M., Packer, L., Arts, M.T. (2016) Long-Chain Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids Have Developmental Effects on the Crop Pest, the Cabbage White Butterfly *Pieris rapae*. *PLOS ONE* doi: 10.1371/journal.pone.0152264
- Howe, G. A., Jander, G. (2008) Plant immunity to insect herbivores. *Annu Rev Plant Biol* 59:41–66. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092825.
- Hüdig, M., Laibach, N., Hein, A.C. (2022) Genome editing in crop plant research – alignment of expectations and current developments. *Plants* 11:212 <https://doi.org/10.3390/plants11020212>
- Jin, S., Zong, Y., Gao, Q., Zhu, Z., Wang, Y., Qin, P. et al. (2019). Cytosine, but not adenine, base editors induce genome-wide off-target mutations in rice. *Science* 364:292–295, doi: 10.1126/science.aaw7166
- Joergensen, R.B., Hauser, T., D'Hertefeldt, T., Andersen, N.S., Hoofman, D. (2009) The variability of processes involved in transgene dispersal – case studies from Brassica and related genera. *Environ Sci Pollut Res* 16:389–395
- Joanan, L., Goujon, T., de Nadai, V., Martin, M.T., Mila, I. et al. (2000) Lignification in transgenic poplars with extremely reduced caffeoyl-CoA methyltransferase activity. *Plant Physiol* 123:1363–1373
- Jupe, F., Rivkin, A.C., Michael, T.P., Zander, M., Motley, T., Sandoval, J.P. et al. (2019) The complex architecture and epigenomic impact of plant T-DNA insertions. *PLOS Gen* doi: 10.1371/journal.pgen.1007819
- Kaduskar, B., Kushwah, R.B.S., Auradkar, A., Guichard, A., Li, M. et al. (2022) Reversing insecticide resistance with allelic-drive in *Drosophila melanogaster*. *Nature Comm* <https://www.nature.com/articles/s41467-021-27654-1>
- Kamm, U., Rotach, P., Gugerli, F., Siroky, M., Edwards, P., Holderegger, R. (2009) Frequent long-distance gene flow in a rare temperate forest tree (*Sorbus domestica*) at the landscape scale. *Heredity* 103:476–482
- Kapahnke, M., Banning, A., Tikkanen, R. (2016) Random splicing of several exons caused by a single base change in the target exon of CRISPR/Cas9 mediated gene knockout. *Cells* 5:45 doi: 10.3390/cells5040045
- Kawall, K. (2019) New possibilities on the horizon: Genome editing makes the whole genome accessible for changes. *Front Plant Sci*. 10:525 doi: 10.3389/fpls.2019.00525
- Kawall, K., Miyazaki, J., Bauer-Panskus, A., Then, C. (2020). Overview of genome editing applications using SDN-1 and SDN-2 in regard to EU regulatory issues. <https://www.testbiotech.org/publikationen>
- Kawall, K. (2021a) Genome-edited *Camelina sativa* with a unique fatty acid content and its potential impact on ecosystems. *Env Sci Eur* 33:38, <https://doi.org/10.1186/s12302-021-00482-2>

- Kawall, K. (2021b) The Generic Risks and the Potential of SDN-1 Applications in Crop Plants. *Plants* 10:2259, <https://www.mdpi.com/2223-7747/10/11/2259>
- Kawata, M., Murakami, K., Ishikawa, T. (2009) Dispersal and persistence of genetically modified oilseed rape around Japanese harbors. *Environ Sci Pollut Res* 16:120–126
- Khan, M.S. (2011) Future challenges in environmental risk assessment of transgenic plants with abiotic stress tolerance. *Biotech Mol Biol Rev* 6:199–213, <https://academicjournals.org/journal/BMBR/article-full-text-pdf/03E700211872>
- Klap, C., Yeshayahu, E., Bolger, A.M., Arazi, T., Gupta, S.K., et al. (2017) Tomato facultative parthenocarpy results from SIAGAMOUS-LIKE 6 loss of function. *Plant Biotechnol J* 15:634–647
- Kosicki, M., Tomberg, K., Bradley, A. (2018) Repair of double-strand breaks induced by CRISPR-Cas9 leads to large deletions and complex rearrangements. *Nat Biotech* 36:765–771, doi: 10.1038/nbt.4192
- Kowarik, I. (2003). *Biologische Invasionen: Neophyten und Neozoen in Mitteleuropa*. Ulmer, Stuttgart
- Kremer, A., Ronce, O., Robledo-Arnuncio, J.J., Guillaume, F., Bohrer, G., Nathan, R., Bridle, J.R. et al. (2012) Long-distance gene flow and adaptation of forest trees to rapid climate change. *Ecology Letters* 15:378–392
- Kurenbach, B., Marjoshi, D., Amabile-Cuevas, C.F., Ferguson, G.C., Godsoe, W., Gibson, P., Heinemann, J.A. (2015). Sub-lethal exposure to commercial formulations of the herbicides dicamba, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, and glyphosate cause changes in antibiotic susceptibility in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *mBio* 6(2):e00009-15. doi: 10.1128/mBio.00009-15.
- Kusch, S., Panstruga, R. 2017, mlo-based resistance: An apparently universal "weapon" to defeat powdery mildew disease. *MPMI* 30:179–189
- Lalonde, S., Stone, O.A., Lessard S., Lavertu, A., Desjardins, J. et al. (2017) Frameshift indels introduced by genome editing can lead to in-frame exon skipping. *PLoS One* 12:e0178700
- Latham, J. R., Wilson, A. K., Steinbrecher, R. A. (2006) The mutational consequences of plant transformation. *J Biomed Biotechnol* 25376, doi: 10.1155/JBB/2006/25376
- Li, J.F., Noville, J.E., Aach, J., McCormack, M., Zhang, D., Bush, J., Church, G.M., Sheen, J. (2013) Multiplex and homologous recombination-mediated genome editing in *Arabidopsis* and *Nicotiana benthamiana* using guide RNA and Cas9. *Nat Biotechnol* 31:688–691
- Li, R., Li, R., Li, X., Fu, D., Zhu, B., Tian, H., Luo, Y., Zhu, H. (2017) Multiplexed CRISPR/Cas9-mediated metabolic engineering of γ -aminobutyric acid levels in *Solanum lycopersicum*. *Plant Biotechnol J* doi: org/10.1111/pbi.12781
- Li, X., Wang, Y., Chen, S., Tian, H., Fu, D., Zhu, B., Luo, Y., Zhu, H. (2018) Lycopene Is Enriched in Tomato Fruit by CRISPR/Cas9-Mediated Multiplex Genome Editing. *Front Plant Sci* 9:559. doi: 10.3389/fpls.2018.00559
- Li, D., Zhou, H., Zeng, X. (2019) Battling CRISPR-Cas9 off-target genome editing. *Cell Biol Toxicol* doi: 10.1007/s10565-019-09485-5
- Li, Q., Sapkota, M., van der Knaap, E. (2020) Perspectives of CRISPR/Cas-mediated cis-engineering in horticulture: unlocking the neglected potential for crop improvement. *Horticult Res* 7:36, doi: 10.1038/s41438-020-0258-8
- Liang, C., Prins, T.W., van de Weil, C.C.M, Kok, E.J. (2014) Safety aspects of genetically modified crops with abiotic stress tolerance. *Trend Food Sci Technol* 40:115–122
- Liu, X., Wu, S., Xu, J., Suin, C., Wei, J. (2017) Application of CRISPR/Cas9 in plant biology. *Acta Pharma Sinica* 7:292–302
- Lövei, G.L., Lang, A., Ferrante, M., Bacle, V. (2020) Can the growing of transgenic maize threaten protected Lepidoptera in Europe? *Insect Sci* 0:1–10, doi 10.1111/1744-7917.12849
- Maher, M.F., Nasti, R.A., Vollbrecht, M., Starker, C.G., Clark, M.D., Voytas, D.F. (2020). Plant gene editing through de novo induction of meristems. *Nat Biotechnol* 38:84–89
- Mallory-Smith, C., Zapiola, M. (2008) Gene flow from glyphosate-resistant crops. *Pest Manag Sci* 64:428–440
- Mansor, S. (2017) CRISPR-Cpf1: A new tool for plant genome editing. *Trends Plant Sci* 22:550–552
- McGrann, G.R.D., Stavrinides, A., Russell, J., Corbitt, M.M., Allan Booth, A. et al. (2014) A trade off between mlo resistance to powdery mildew and increased susceptibility of barley to a newly important disease, *Ramularia leaf spot*. *J Exp Bot* 65:1025–1037
- Mehta, D., Stürchler, A., Anjanappa, R.B., Zaidi, S.S., Hirsch-Hoffmann, M., Gruissem, W., Vanderschuren, H. (2019) Linking CRISPR-Cas9 interference in cassava to the evolution of editing-resistant gemini viruses. *Genome Biol* 20:80, <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1678-3>
- Mertens, M. (2008) Assessment of Environmental Impacts of Genetically Modified Plants. BfN – Skripten 217 https://www.bfn.de/fileadmin/BfN/service/Dokumente/skripten/skript_217.pdf
- Metje-Sprink, J., Menz, J., Modrzejewski, D., Sprink, T. (2019) DNA-free genome editing: past, present and future. *Front Plant Sci* 9, doi: 10.3389/fpls.2018.01957
- Metje-Sprink, J., Sprink, T., Hartung, F. (2020) Genome edited plants in the field. *Curr Opin Biotechnol* 61:1–6
- Michno, J.M., Virdi, K., Stec, A.O., Liu, J., Wang, X., Xiong, Y., Stupar, R.M. (2020) Integration, abundance, and transmission of mutations and transgenes in a series of CRISPR/Cas9 soybean lines. *BMC Biotechnol* 20:10, doi: org/10.1186/s12896-020-00604-3
- Mishra, R., Joshi, R.K., Zhao, K. (2019) Base editing in crops: current advances, limitations and future implications. *Plant Biotechnol J* doi: org/10.1111/pbi.13225
- Modrzejewski, D., Hartung, F., Sprink, T., Krause, D., Kohl, C., Wilhelm, R. (2019) What is the available evidence for the range of applications of genome-editing as a new tool for plant trait modification and the potential occurrence of associated off-target effects: a systematic map. *Environ Evid* 8:27 <https://doi.org/10.1186/s13750-019-0171-5>
- Modrzejewski, D., Hartung, F., Sprink, T., Menz, J. et al. (2020) 2. Aktualisierung der Übersicht über Nutz- und Zierpflanzen, die mittels neuer molekular-biologischer Techniken für die Bereiche Ernährung, Landwirtschaft und Gartenbau erzeugt wurden – marktorientierte Anwendungen. https://www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/DE/_Landwirtschaft/Gruene-Gentechnik/NMT_Uebersicht-Zier-Nutzpflanzen.html
- Monroe, J.G., Srikant, T., Carbonell-Bejerano, P., Becker, C. Lensink, M., Exposito-Alonso, M. et al. (2022) Mutation bias reflects natural selection in *Arabidopsis thaliana*. *Nature* <https://www.nature.com/articles/s41586-021-04269-6>
- Mortensen, D.A., Egan, J.F., Maxwell, B.D., Ryan, M.R., Smith, R.G. (2012) Navigating a Critical Juncture for Sustainable Weed Management. *BioScience* 62:75–84
- Mou, H., Smith, J.L., Peng, L., Yin, H., Moore, J., Zhang, X.O. Song, C.Q., Sheel, A. et al. (2017) CRISPR/Cas9-mediated genome editing induces exon skipping by alternative splicing or exon deletion. *Genome Biol* 18:108, doi: 10.1186/s13059-017-1237-8
- Morovec, J., Pirc, Z., Yang, B. (2017) New variants of CRISPR RNA-guided genome editing enzymes. *Plant Biotechnol J* doi: 10.1111/PBI.12736

- Murugan, K., Seethram, A.S., Severin, A.J., Sashital, D.G. (2020) CRISPR-Cas12a has widespread off-target and dsDNA-nicking effects. *JBC* doi: 10.1074/jbc.RA120.012933
- Nadakuduti, S.S., Buell, R., Voytas, D.F., Starker, C.G., Douches, D.S. (2018) Genome editing for crop improvement – applications in clonally propagated polyploids with a focus on potato (*Solanum tuberosum* L.). *Front Plant Sci* 9:1607 doi: 10.3389/fpls.2018.01607
- Napier, J.A., Usher, S., Haslam, R.P., Ruiz-Lopez, N., Sayanova, O. (2015) Transgenic plants as a sustainable, terrestrial source of fish oils. *Eur J Lipid Sci Technol* 117:1317–1324
- Nekrasov, V., Staskawicz, B., Weigel, D., Jones, J.D.G., Kamoun, S. (2013) Targeted mutagenesis in the model plant *Nicotiana benthamiana* using Cas9 RNA-guided endonuclease. *Nat Biotechnol* 31:691–693
- Neve, P. (2018) Gene drive systems: do they have a place in agricultural weed management? *Pest Manag Sci*, doi: 10.1002/ps.5137
- Nishimasu, H., Nureki, O. (2017) Structures and mechanisms of CRISPR RNA-guided effector nucleases. *Curr Opin Structural Biol* 43:68–78
- Nonaka, S., Arai, C., Takayama, M., Matsukura, C., Ezura, H. (2017) Efficient increase of γ -aminobutyric acid (GABA) content in tomato fruits by targeted mutagenesis. *Sci Rep* 7:7057, doi:10.1038/s41598-017-06400-y
- Pak, S., Li, C. (2022) Progress and challenges in applying CRISPR/Cas techniques to the genome editing of trees. *For Res* 2:6 <https://doi.org/10.48130/FR-2022-0006>
- Park, S.H., Cao, M., Pan, Y., Davis, T.H. et al. (2022) Comprehensive analysis and accurate quantification of unintended large gene modifications induced by CRISPR-Cas9 gene editing. *Sci Adv* 8, <https://www.science.org/doi/pdf/10.1126/sciadv.abo7676>
- Pickar-Oliver, A., Gersbach, C.A. (2019) The next generation of CRISPR-Cas technologies and applications. *Nature Rev Mol Cell Biol* 20:490–507
- Price, B., Cotter, H. (2014) The GM Contamination Register: a review of recorded contamination incidents associated with genetically modified organisms (GMOs), 1997–2013. *I J Food Contam* 1:5 doi: 10.1186/s40550-014-0005-8
- Rees, H.A., Liu, D.R. (2018) Base editing: precision chemistry on the genome and transcriptome of living cells. *Nat Rev Genet* 19:770–788, doi: 10.1038/s41576-018-0059-1
- Ribarits, A., Eckerstorfer, M., Simon, S., Stepanek, W. (2021) Genome-Edited Plants: Opportunities and Challenges for an Anticipatory Detection and Identification Framework. *Foods* 10:430. <https://doi.org/10.3390/foods10020430>
- Ribarits, A., Stepanek, W., Hochegger, R., Narendja, F. et al. (2022) Analyse von Nachweismethoden für genomeditierte und klassische GV-Pflanzen. *BfN-Skripten* 622, <https://www.bfn.de/sites/default/files/2022-02/Skript622.pdf>
- Robinson, C., Portier, C.J., avoski, A., Mesnage, R., Roger, A., Clausing, P. et al. (2020) Achieving a High Level of Protection from Pesticides in Europe: Problems with the Current Risk Assessment Procedure and Solutions. *Eur J Risk Reg* doi: 10.1017/err.2020.18
- Rönspies, M., Schindele, P., Puchta, H. (2021) CRISPR/Cas-mediated chromosome engineering: opening up a new avenue for plant breeding. *J Exp Bot* 72:177–183. doi: 10.1093/jxb/eraa463
- Ruuskanen, S., Fuchs, B., Nissinen, R., Puigbo, P. et al. (2022) Ecosystem consequences of herbicides: the role of the microbiome. *TREE* 3058 <https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S0169-5347%2822%2900229-4>
- 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* 16:902–910
- Saunders, S.P., Ries, L., Oberhauser, K.S., Thogmartin, W.E., Zipkin, E.F. (2017) Local and cross-seasonal associations of climate and land use with abundance of monarch butterflies *Danaus plexippus*. *Ecography* 40:001–012, doi: 10.1111/ecog.02719
- Schafer, M.G., Ross, A.A., Londo, J.P., Burdick, C.A., Lee, E.H., Travers, S.E. et al. (2011) The establishment of genetically engineered canola populations in the U.S. *PLoS ONE* 6(10):1–4
- Schell, C., Engelhard, M., Frohn, H.W., Berger, L. eds. (2019) *Neue Gentechniken und Naturschutz – eine Verhältnisbestimmung*. *BfN-Skripten* 546, <https://www.bfn.de/fileadmin/BfN/service/Dokumente/skripten/Skript546.pdf>
- Schmidt, Franz, P., Rönspies, M., Dreissig, S., Fuchs, J., Heckmann, S., Houben, A., Puchta, H. (2020) Changing local recombination patterns in *Arabidopsis* by CRISPR/Cas mediated chromosome engineering. *Nature Comm.* doi: 10.1038/s41467-020-18277-z
- Schütte, G., Eckerstorfer, M., Rastelli, V., Reichenbecher, W., Restrepo Vassalli, S., Ruohonen Lehto, M., Wuest Saucy, A.G., Mertens, M. (2017) Herbicide resistance and biodiversity: agronomic and environmental aspects of genetically modified herbicide resistant plants. *Environ Sci Eur* 29:5, doi: 10.1186/s12302-016-0100-y
- Schulze, J., Frauenknecht, T., Brodmann, P., Bagutti, C. (2014) Unexpected diversity of feral genetically modified oilseed rape (*Brassica napus* L.). Despite a cultivation and import ban in Switzerland. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0114477>
- Shan, Q., Wang, Y., Li, J., Zhang, Y., Chen, K., Liang, Z. et al. (2013) Targeted genome modification of crop plants using a CRISPR-Cas system. *Nat Biotechnol* 31:686–688
- Shan, S., Soltis, P.S., Soltis, D.E., Yang, B. (2020) Considerations in adapting CRISPR/Cas9 in nongenetic model plant systems. *Appl Plant Sci* 8(1): e11314, doi: 10.1002/aps3.11314
- Sharpe, J.J., Cooper, T.A. (2017). Unexpected consequences: exon skipping caused by CRISPR-generated mutations. *Genome Biol* 18:109, doi: 10.1186/s13059-017-1240-0
- Shi, J., Gao, H., Wang, H., Lafitte, H.R., Archibald, R.L. et al. (2017) ARGOS8 variants generated by CRISPR-Cas9 improve maize grain yield under field drought stress conditions. *Plant Biotechnol J* 15:207–216
- Shine, C., Williams, N., Gündling, L. (2000) A guide to designing legal and institutional frameworks on alien invasive species. *IUCN Paper* No 40, http://www.issg.org/pdf/publications/GISP/Guidelines_Toolkits_BestPractice/Shine_et_al_2000_EN.pdf
- Simon, S., Otto, M., Engelhard, M. (2018) Synthetic gene drive: between continuity and novelty. *EMBO Rep* 19 doi: 10.15252/embr.201845760
- Skirvin, R.M., McPheeters, K.D., Norton, M. (1994) Sources and frequency of somaclonal variation. *Hortsci* 29:1232–1233
- Skryabin, B.V., Kummerfeld, D.M., Gubar, L., Seeger, B., Kaiser, H., Stegemann, A. et al. (2020) Pervasive head-to-tail insertions of DNA templates mask desired CRISPR-Cas9-mediated genome editing events. *Sci Adv* 6:7, doi: 10.1126/sciadv.aax2941
- Slavov, G.T., Leonardi, S., Burczyk, J., Adams, W.T., Strauss, S.H., DiFazio, S.P. (2009) Extensive pollen flow in two ecologically contrasting populations of *Populus trichocarpa*. *Mol Ecol* 18:357–373
- Smits, A.H., Ziebell, F., Joberty, G., Zinn, N., Mueller, W.F., Clauser-Münster, S. et al. (2019) Biological plasticity rescues target activity in CRISPR knockouts. *Nature Methods* 16: 1087–1093, doi: 10.1038/s41592-019-0614-5
- Snow, A.A., Uthus, K.L., Culley, T.M. (2001). Fitness of hybrids between weedy and cultivated radish: implications for weed evolution. *Ecol Appl* 11:934–943.

- Solomon, S.M. (2020) Genome editing in animals: why FDA regulation matters. *Nat Biotechnol* 38:142–143
- Soyk, S., Lemmon, Z.H., Sedlazeck, F.J., Jiménez-Gómez, J.M., Alonge, M., Hutton, S.H., Van Eck, J. et al. (2019) Duplication of a domestication locus neutralized a cryptic variant that caused a breeding barrier in tomato. *Nature Plants* 5:471–479, doi: 10.1038/s41477-019-0422-z
- Stuttmann, J., Barthel, K., Martin, P., Ordon, J., Erickson, J.L. et al. (2016) Genome editing in maize directed by CRISPR-Cas9 (2021) Highly efficient multiplex editing: one-shot generation of 8x *Nicotiana benthamiana* and 12x *Arabidopsis* mutants. *Plant J* 106:8–2, doi: 10.1111/tpj.15197
- Svitashv, S., Schwartz, C., Lenderts, B., Young, J.K., Cigan, A.M. (2016) Genome editing in maize directed by CRISPR-Cas9 ribonucleoprotein complexes. *Nat Comm* 7:13274, doi: 10.1038/ncomms13274
- Tang, J., Chen, L., Liu, Y.G. (2019). Off-target effects and the solution. *Nat Plants* 5:341–342, doi: 10.1038/s41477-019-0406-z
- Taxiarchi, C., Beaghton, A., Illansinhage Don, A., Kyrou, K., Gribble, M., Shittu, D., Collins, S.P. et al. (2021) A genetically encoded anti-CRISPR protein constrains gene drive spread and prevents population suppression. *Nature Comm* <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24214-5>
- Then, C. (2019). Am I regulated? Neue Gentechnik an Pflanzen: Probleme mangelnder Regulierung am Beispiel der USA. https://www.testbiotech.org/sites/default/files/Am_I_Regulated_de.pdf
- Townsend, J.A., Wright, D.A., Winfrey, R.J., Fu, F., Maeder, M.L., Joung, J.K., Voytas, D.F. (2009) High-frequency modification of plant genes using engineered zinc-finger nucleases. *Nature* 459:442–445
- Trtikova, M., Wikmark, O.G., Zemp, N., Widmer, A., Hilbeck, A. (2015) Transgene Expression and Bt protein content in transgenic Bt maize (MON810) under optimal and stressful environmental conditions. *PLoS One* 10(4), e0123011. doi: 10.1371/journal.pone.0123011
- Tzanova, T., Stefanova, L., Topalova, L., Atanasov, A., Pantchev, I. (2020) DNA-free gene editing in plants: a brief overview. *Biotech & Biotech Equipm* 35:131–138 <https://doi.org/10.1080/13102818.2020.1858159>
- Tuladhar, R., Yeu, Y., Piazza, J.T. et al. (2019) CRISPR-Cas9-based mutagenesis frequently provokes on-target mRNA misregulation. *Nat Commun* 10:1–10. doi: 10.1038/s41467-019-12028-5
- van Bruggen, A.H.C., Finckh, M.R., He, M., Ritsema, C.J. et al. (2021) Indirect Effects of the Herbicide glyphosate on plant, animal and human health through its effects on microbial communities. *Front Env Sci* <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fenvs.2021.763917/full>
- Váry, Z., Mullins, E., McElwain, J.C., Doohan, F.M. (2015) The severity of wheat diseases increases when plants and pathogens are acclimatized to elevated carbon dioxide. *Glob Chang Biol* 21:2661–2669
- Vázquez-Barrios, V., Boege, K., Sosa Fuentes, T.G., Rojas, P., Wegier, A. (2021) Ongoing ecological and evolutionary consequences by the presence of transgenes in a wild cotton population. *Sci Rep* 11:1959 | <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81567-z>
- Velásquez, A.C., Castroverde, C.D.M., He, S.Y. (2018) Plant and pathogen warfare under changing climate conditions. *Curr Biol* 21:28(10): R619–R634. doi: 10.1016/j.cub.2018.03.054.
- Venter, H.J., Bohn, T. (2016) Interactions between Bt crops and aquatic ecosystems: A review *Environ Toxicol Chem* 35:2891–2902.
- Von Gleich, A., Schröder, W. eds. (2020) Gene drives at tipping points. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-38934-5>
- Wada, N., Ueta, R., Osakabe, Y., Osakabe, K. (2020) Precision genome editing in plants: state-of-the-art in CRISPR/Cas9-based genome engineering. *BMC Plant Biology* 20:234, doi: 10.1186/s12870-020-02385-5
- Waltz, E. (2021) GABA-enriched tomato is first CRISPR-edited food to enter market. <https://www.nature.com/articles/d41587-021-00026-2>
- Wang, Y., Cheng, X., Shan, Q., Zhang, Y., Liu, J., Gao, C., Qiu, J.L. (2014a) Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew. *Nat Biotechnol* 32:947–951
- Wang, W., Xia, H., Yang, X., Xu, T., Si, H. J., Cai, X. X., et al. (2014b). A novel 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate (EPSP) synthase transgene for glyphosate tolerance stimulates growth and fecundity in weedy rice (*Oryza sativa*) without herbicide. *New Phytol* 202:679–688. doi: 10.1111/nph.12428
- Wang, J., Song, L., Gong, X., Xu, J., Li, M. (2020) Functions of jasmonic acid in plant regulation and response to abiotic stress. *Int J Mol Sci* 21:1446. doi:10.3390/ijms21041446
- Westernack, C., Miersch, O., Kramell, R., Hause, B., Ward, J., Beale, M. et al. (1998) Jasmonic acid: biosynthesis, signal transduction, gene expression. *Fett/Lipid* 100:139–146. doi: 10.1002/(SICI)1521-4133(1998)100:4<139::AID-LIPID4133>3.0.CO;2-5
- Weisheit, I., Kroeger, J., Malik, R., Klimmt, J., Crusius, D. et al. (2020). Detection of deleterious on-target effects after HDR-mediated CRISPR editing. *Cell Reports* 31, 107689, doi: [org/10.1101/2020.03.27.012104](https://doi.org/10.1101/2020.03.27.012104)
- Wilson, A.K., Latham, J.R., Steinbrecher, R.A. (2006) Transformation-induced mutations in transgenic plants: Analysis and biosafety implications. *Biotech Gen Engineering Rev* 23:209–234
- Wilson, A.K. (2020). Will gene-edited and other GM crops fail sustainable food systems? doi: 10.1016/B978-0-12-816410-5.00013-X
- Wolfenbarger, L.L., Phifer, P. R. (2000) The ecological risks and benefits of genetically engineered plants. *Science* 290:2088–2093.
- Yu, Q., Wang, B., Li, N., Tang, Y., Yang, S., Yang, T., Xu, J., et al. (2017) CRISPR/Cas9-induced Targeted Mutagenesis and Gene Replacement to Generate Long-shelf Life Tomato Lines. *Sci Reports* 7:11874 doi: 10.1038/s41598-017-12262-1
- Zeller, S.L., Kalinina, O., Brunner, S., Keller, B., Schmid, B. (2010) Transgene x environment interactions in genetically modified wheat. *PLoS ONE* 5(7): e11405, doi: 10.1371/journal.pone.0011405
- Zetsche, B., Gootenberg, J.S., Abudayyeh, O.O., Slaymaker, I.M., Makarova, K.S., Essletzbichler, P. et al. (2015) Cpf1 is a single RNA-guided endonuclease of a Class 2 CRISPR-Cas system. *Cell* 163:759–771. doi: 10.1016/j.cell.2015.09.038.
- Zhang, Y., Liang, Z., Zong, Y., Wang, Y., Liu, J., Chen, K., Qui, J.L., Gao, C. (2016). Efficient and transgene-free genome editing in wheat through transient expression of CRISPR/cas9 DNA or RNA. *Nature Comm* 7:12617 doi: 10.1038/ncomms12617
- Zhao, Y., Xin Yang, X., Zhou, G., Zhang, T. (2020) Engineering plant virus resistance: from RNA silencing to genome editing strategies. *Plant Biotechnol J* 18:328–336
- Zhao, Y. (2012). Auxin biosynthesis: a simple two-step pathway converts tryptophan to indole-3-acetic acid in plants. *Mol Plant* 5:334–338, doi: 10.1093/mp/ssr104
- Zsögön, A., Ermák, T., Naves, E.R., Notini, M.M., Edel, K.H. et al. (2018) De novo domestication of wild tomato using genome editing. *Nat Biotechnol* 36:1211–1216 doi: 10.1038/nbt.4272
- Zhu, J., Park, K.C. (2005) Methyl salicylate, a soybean aphid-induced plant volatile attractive to the predator *Coccinella septempunctata*. *J Chem Ecol* 31:1733–1746
- Zhu, C., Bortesi, L., Baysal, C., Twyman, R.M., Fischer, R. et al. (2017) Characteristics of genome editing mutations in cereal crops. *Trends Plant Sci* 22:38–52

Impressum

Herausgeber:

*Bund für Umwelt
und Naturschutz
Deutschland e. V. (BUND),
Friends of the Earth Germany,
Kaiserin-Augusta-Allee 5,
10553 Berlin*

Telefon: 0 30/2 75 86-40

Telefax: 0 30/2 75 86-440

Mail: info@bund.net
www.bund.net

Autor*in:

Dr. Martha Mertens

V. i. S. d. P.:

Petra Kirberger

Produktion:

Natur & Umwelt GmbH

Herbst 2022