

## CRISPR/Cas als Werkzeug in der Resistenzzüchtung

— Unsere Landwirtschaft steht momentan vor großen Herausforderungen. Die Aufgabe, genug Nahrungsmittel für die stetig wachsende Weltbevölkerung zu produzieren, wird durch den fortschreitenden Klimawandel und sich ausbreitende Pflanzenkrankheiten zunehmend erschwert. Damit kommt der Pflanzenzüchtung eine besondere Rolle zu, welche sich nun durch Genom-Editing (GE) beschleunigen lässt. Der Vorteil dieser neuen Gentechnik liegt auch darin, dass nicht mehr zwingend transgene Pflanzen erzeugt werden, welche dann eindeutig gentechnisch veränderte Organismen (GVOs) wären und in Europa besonders streng reguliert würden. Die europäische Kommission schlug daher am 5. Juli 2023 vor, die Ausnahmeregeln für die Mutationszüchtung um die Neuen Mutagenese/Genomischen Techniken (NMT/NGT) zu erweitern. Das bedeutet, dass auch durch die Genschere CRISPR/Cas erzeugte Mutationen von der strengen GVO Regulierung ausgenommen werden sollen. Grund genug also einmal genauer zu schauen, was diese im Jahre 2020 mit dem Nobelpreis für Chemie ausgezeichnete Methode zu leisten im Stande ist.

### Züchtung resistenter Kulturpflanzen

In der Landwirtschaft kommt es gerade zu großen Veränderungen, da der Schwund der Artenvielfalt auf den exzessiven Einsatz chemischer Mittel zur Ertragssteigerung zurückgeführt wird, ebenso wie die Nitrat-Belastung des Grundwassers auf Überdüngung der zurückliegenden Jahrzehnte. Die Politik versucht nun, mit Maßnahmen wie sie in der ›Ackerbaustrategie 2035‹, der ›Farm-to-Fork‹-Strategie oder dem ›Green Deal‹ beschrieben sind gegenzusteuern. Ein weitgehender Verzicht auf Pestizide und Mineraldünger wird aber unweigerlich zu einem Zielkonflikt führen, genug Nahrung für alle Menschen in wirtschaftlicher Weise produzieren zu können. Neben einer Anpassung unserer Ernährungsgewohnheiten und der Agrarproduktionssysteme ist die Züchtung stressresilienter Kulturpflanzen eine der wenigen verbliebenen Möglichkeiten dafür zu sorgen, dass die Erträge auch in Zukunft für unsere Ernährung und

Rohstoffproduktion ausreichen. Pflanzen können sowohl unter abiotischem Stress (wie Kälte, Hitze, Trockenheit, Überflutung, Versauerung oder Versalzung) als auch unter biotischem Stress (wie Viren, Bakterien, Pilze oder Schadinsekten) leiden, wodurch jedes Jahr ein bedeutender Anteil der maximal möglichen Ernten verloren geht. Mit Beginn des Ackerbaus wählte der Mensch Kulturpflanzen für den Anbau und die Weitervermehrung aus, welche ein höheres Ertragspotential auswiesen und bekömmlicher waren, also gut schmeckten. In dieser Selektion durch den Menschen liegen bereits einige Zielkonflikte (sogenannte ›Trade-Offs‹) begründet, von denen ich hier zwei Beispiele kurz vorstellen möchte:

1. Ganz allgemein wurde durch Bewässerung und Drainage der Anbaufelder eine Umwelt geschaffen, in der unsere Kulturpflanzen im Laufe ihres Lebens kaum noch mit Trockenperioden konfrontiert wurden, so dass sie quasi ›verlernten‹, sich wie ihre wilden Vorfahren an solche Gegebenheiten anzupassen. Das bedeutet, dass unsere Kulturpflanzen eigentlich nur in der Obhut des Menschen ihr volles Ertragspotential entfalten können, aber unter natürlichen Bedingungen nicht mehr besonders konkurrenzfähig sind. Verstärkt wurde diese Problematik dadurch, dass der Mensch auch Nährstoffe (Düngemittel) zur Verfügung stellte und Schutz bot vor konkurrierenden ›Unkräutern‹ (Ausjäten ebendieser und später ihre Vernichtung durch Herbizide) oder verschiedenen Schädlingen (Einsatz von Pestiziden und Insektiziden), wodurch diese Pflanzen völlig auf den Ertrag hin optimiert werden konnten.
2. Konkret hier ein Beispiel am Raps (*Brassica napus*), einer noch jungen Kulturart hervorgegangen aus einer Hybridisierung zwischen Rübsen (*Brassica rapa*) und Wildkohl (*Brassica oleracea*), dessen Öl erst durch Züchtung auf Linien mit stark verringerten Gehalten an Erucasäure und Glucosinolaten (›00-Raps‹) konsumierbar wurde. Der Fokus auf dieses Merkmal führte nämlich dazu, dass der ohnehin schon kleine Genpool des Raps noch weiter eingeeengt wurde und durch den Verlust der Glucosinolate ging zudem ein natürlicher Fraßschutz gegen Insekten verloren.

Wenn man nun die Widerstandsfähigkeit der Kulturpflanzen stärken möchte, könnte man sich an nahe verwandten Vorläufern unserer Kulturpflanzen (Crop Wild Relatives – CWR) orientieren, die sich ein Merkmal wie Stress-Toleranz oder Resistenz noch erhalten haben. Sind die CWR noch mit den Kulturpflanzen kreuzbar, ist eine Übertragung ihrer Gene für solche Merkmale züchterisch möglich (Cisgenese). Ein Einkreuzen dieser Merkmale in Elitematerial kann dann aber auch dazu führen, dass andere dem Züchter ebenfalls wichtige Eigenschaften verloren gehen (sogenannter ›linkage drag‹) und oft ist der verfügbare Genpool auch zu klein, um diesen langwierigen Weg erfolgreich zu beschreiten. Mit den NMT wird nun auch die Übertragung einzelner CWR Gene in freie, also Gen-leere Regionen (›Safe Harbor‹) der Kulturpflanzen möglich. Auf diese Weise können nun frühere negative Nebeneffekte durch die Zu-

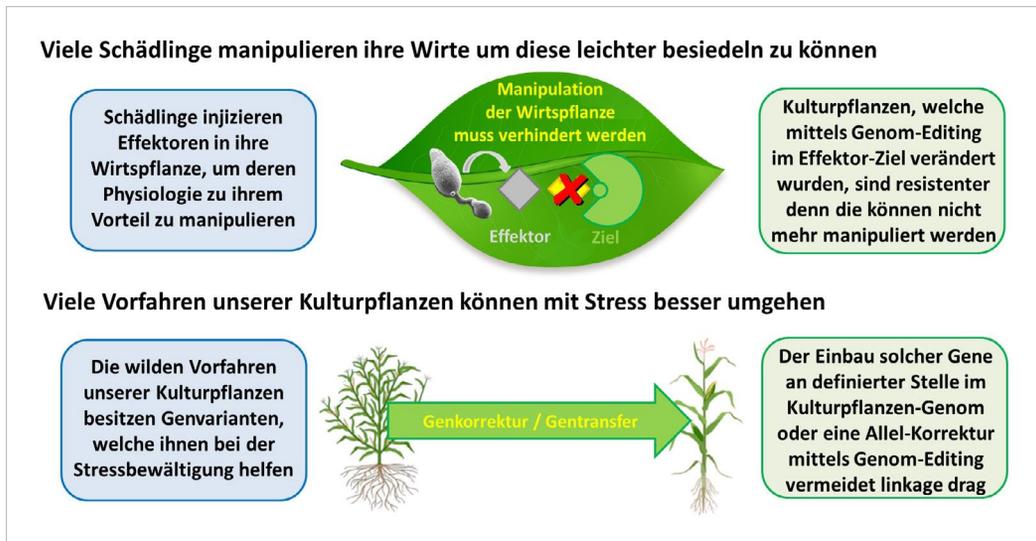
fallsintegration solcher CWR Gene in andere bereits vorhandene Gene (so durch den Einsatz der Genfahre *Agrobacterium tumefaciens*) vermieden werden. Um aber jedwede GVO-Diskussion zu vermeiden wird oft versucht, durch zufällige künstliche Mutagenese (chemisch induziert oder durch Strahlung) neue interessante Phänotypen zu erzeugen, auch hier immer mit der Gefahr, dass dabei bereits vorhandene positive Eigenschaften verloren gehen könnten. Um all die unerwünschten Begleit-Mutationen durch die Zufallsmutagenese wieder zu entfernen, muss daher zeitaufwändig mehrfach mit Elitematerial rückgekreuzt werden. Beim Raps wird es noch komplizierter, weil dieser – wie viele andere Hybridisierungen – ein komplexes Genom mit mindestens vier Kopien eines jeden Gens besitzt. Einen neuen Phänotyp durch Mutation zu erzeugen ist also theoretisch nur möglich, wenn jede Kopie des Gens von Interesse durch Mutation verändert wurde, was durch puren Zufall kaum zu erreichen ist. Und im Prinzip geht durch solche Zufallsmutagenese auch meist ein Funktionsverlust des Zielgens einher, was aber trotzdem einen positiven Effekt haben kann (siehe unten).

In der Resistenzzüchtung gegen Schädlinge ist es nämlich oft so, dass viele Erreger ihre Wirte mit Hilfe von sogenannten Effektoren (das können DNA-Abschnitte, kleine RNAs, Proteine oder auch Metabolite sein) manipulieren. Wir beschäftigen uns im Institut für Phytopathologie in der Agrar- und Ernährungswissenschaftlichen Fakultät mit den zellulären Grundlagen dieser Interaktionen zwischen Wirt und Pathogen, und die Identifizierung eines Effektor-Ziels im Wirt macht dieses zu einem interessanten Kandidaten für die Züchtung. Verändert man beispielsweise das Effektor-Ziel durch Mutation (im besten Fall auf eine Art und Weise, dass seine natürliche Funktion für die Pflanze erhalten bleibt und so Trade-Offs vermieden werden), verliert der Erreger hierdurch eine Möglichkeit, seine Wirtspflanze zu seinen Gunsten zu manipulieren – die Kulturpflanze wird resistenter.<sup>1</sup> Ein erster Test, ob ein solches Zielgen wirklich für die Anfälligkeit der Pflanze verantwortlich ist, erfolgt allerdings meist durch einen Versuch, in welchem das Gen komplett ausgeschaltet wird (Gen-Knock-Out – KO), weil dies einfacher ist und in der Wissenschaft standardmäßig genutzt wird, um die Genfunktion zu bestimmen. Solche Kandidatengene kann man auch durch ›Funktionale Genomik‹ (eine Kombination aus Genomics und Transcriptomics) identifizieren, welche während der Interaktion zwischen Wirtspflanze und Erreger angeschaltet werden (wie Abwehrgene oder Anfälligkeitsgene). Auch bei der Suche in den wilden Vorfahren unserer Kulturpflanzen kann man fündig werden, wenn dort während abiotischem oder biotischem Stress Gene angeschaltet werden, welche dann der Pflanze bei der Stressbewältigung helfen (Abb. 1).

Die Identifizierung und Charakterisierung geeigneter Zielgene ist damit die Grundvoraussetzung, um sie in der Resistenzzüchtung einzusetzen. Zum einen könnte man ein solches Gen direkt in die Kulturpflanze einbringen – aber wenn es sich dabei um artfremde DNA han-

---

1 Vgl. Dirk Schenke/Daguang Cai: Applications of CRISPR/Cas to improve crop disease resistance – beyond inactivation of susceptibility factors, in: *iScience* 23(9) (2020), <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101478>.



↑ **Abb. 1.** Strategien zur Erzeugung stressresistenter Kulturpflanzen.

delt, wäre das ›Produkt‹ am Ende eindeutig ein GVO, wie man sie in den EU-Rechtsvorschriften über genetisch veränderte Organismen aus dem Jahre 2001 definiert hat. Ein aktuelles Beispiel ist momentan trockenstressresistenter Weizen mit dem HB4-Gen aus der Sonnenblume, welcher 2020 in Argentinien für den Anbau zugelassen wurde und eine 40-prozentige Ertragssteigerung unter Trockenstressbedingungen ermöglicht. Ein berühmtes Beispiel zur Erzeugung einer rezessiven Resistenz gegen Mehltau wäre die Mutation des Gens ›MLO‹, welches bereits in unterschiedlichen Kulturpflanzen (Gerste, Weinrebe, Gurke, Tomate und Weizen) zu einer stabilen/lang-anhaltenden Resistenz gegen diesen pilzlichen Erreger führte.<sup>2</sup> Da es sich aber bei MLO um einen Negativ-Regulator der pflanzlichen Abwehr handelt, haben die Pflanzen leider als Trade-off einen 5 bis 15 Prozent geringeren Ertrag.<sup>3</sup>

2 Vgl. Stefano Kusch / Ralph Panstruga: *mlo*-Based Resistance: An Apparently Universal ›Weapon‹ to Defeat Powdery Mildew Disease, in: *Mol Plant Microbe Interact* 30 (2017), 179–189, <https://doi.org/10.1094/MPMI-12-16-0255-CR>.

3 Vgl. Stefano Pavan u.a.: Loss of susceptibility as a novel breeding strategy for durable and broad-spectrum resistance, in: *Mol Breed* 25 (2010), 1–12, <https://doi.org/10.1007/s11032-009-9323-6>. – J. K. M. Brown/J. C. Rant: Fitness costs and trade-offs of disease resistance and their consequences for breeding arable crops, in: *Plant Pathology* 62(2013), 83–95, <https://doi.org/10.1111/ppa.12163>.

## Zielgerichtete Mutagenese mittels CRISPR/Cas

Diese zu den Neuen Mutagenese Techniken (NMT) gehörende Methode erlaubt in nie dagewesener Präzision an genau definierten Stellen Mutationen/Genveränderungen herbeizuführen. Das Besondere ist aber auch, dass man mit CRISPR/Cas nun in der Lage ist, gleich alle Kopien eines Zielgens oder sogar mehrere Zielgene auf einmal zu modifizieren, was einer enormen Zeitersparnis gleichkommt. In den letzten Jahren wurden innerhalb kürzester Zeit gleich zwei Gen-Scheren entwickelt, welche gezielte Mutagenese ermöglichen (TALEN und CRISPR/Cas9). Beide Systeme erkennen eine ausreichend große (20 bp) und damit genau genug definierte Stelle im Genom, an welcher dann die DNA geschnitten wird, so dass es dort zu einem Doppelstrangbruch (DSB) kommt.<sup>4</sup> Wenn dieser repariert wird, entstehen oft Fehler und damit Mutationen, wie dies auch unter natürlichen Bedingungen passieren könnten. Weil die CRISPR/Cas9-Schere aber billiger und leichter zu programmieren ist, als die TALEN-Schere, wurde letztere schon bald aus den meisten Laboren verdrängt. Damit ist es nun relativ leicht, auch Kulturpflanzen mit sehr komplexen Genomen zu bearbeiten und so konnten beispielsweise alle sechs MLO-Genkopien im Weizen mutiert werden, um diesen weniger anfällig gegenüber Mehltau zu machen.<sup>5</sup> Dabei funktioniert CRISPR/Cas denkbar einfach, wie hier am Beispiel von Cas9 dargestellt werden soll.

Das bakterielle Cas-Protein (die eigentliche Gen-Schere, hier Cas9) interagiert mit einer kleinen Lotsen-RNA (single guide RNA – sgRNA), welche eine 20 bp lange DNA-Sequenz passend (komplementär) zur Zielstelle im Genom trägt und so die Genschere genau dorthin dirigieren kann. Diese sgRNA kann leicht im Labor für jede Zielsequenz programmiert werden und richtet sich nach dem Vorbild jener RNA-Moleküle, welche Bakterien in der sogenannten CRISPR-Region (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) kodieren, um sich beispielsweise gegen eindringende Viren zu schützen. Dabei muss neben der Zielsequenz noch eine Prüfsequenz (Protospacer Adjacent Motif – PAM) vorliegen und 3 bp neben dieser PAM erfolgt dann der DSB, an dessen Stelle dann durch fehlerhafte Reparatur eine Zufallsmutation entsteht (Abb. 2).

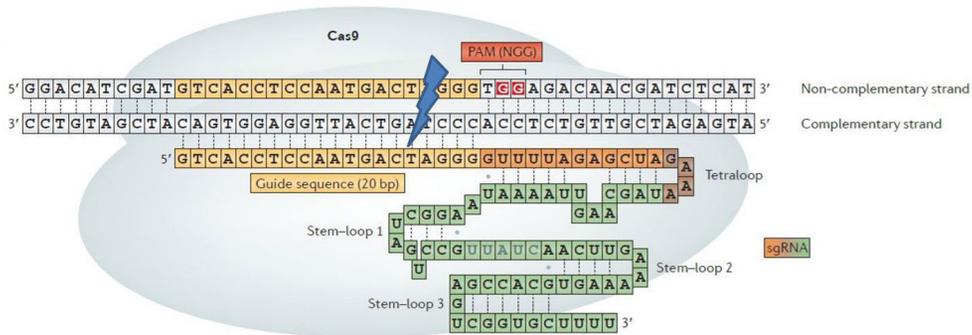
Wir haben an der Agrar- und Ernährungswissenschaftlichen Fakultät durch Funktionale Genomik einige Kandidatengene für Anfälligkeitsfaktoren in der Raps-*Verticillium*-Interaktion identifiziert und zunächst KO-Mutanten in der mit Raps verwandten Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* bestellt. Zeigten diese eine verringerte Anfälligkeit gegenüber dem bodenbürtigen Schadpilz *Verticillium longisporum*, wurde das entsprechende Gen im Raps mit CRISPR/Cas9

---

4 Vgl. Jennifer Doudna/Emmanuelle Charpentier: Genome editing. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9, in: Science 346 (6213) (2014), <https://doi.org/10.1126/science.1258096>.

5 Vgl. Yanpeng Wang u.a.: Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew, in: Nature Biotechnology 32 (2014), 947–951, <https://doi.org/10.1038/nbt.2969>.

## 1. Komponente (immer gleich): das Cas9-Protein



## 2. Komponente (variabel): die sgRNA

# Doppelstrangbruch (DSB)

↑ **Abb. 2.** Aufbau der Genschere CRISPR/Cas. Das Cas-Protein (hier Cas9) wird durch die programmierbare sgRNA an die Zielstelle im Genom gelotst, wo es einen Doppelstrangbruch hervorruft, welcher in diesem Fall zu einer zufälligen Mutation an dieser Stelle führt. Darstellung auf Grundlage von Fig. 4b aus: Hyongbum Kim/Jin-Soo Kim: A guide to genome engineering with programmable nucleases, in: Nat Rev Genet 15 (2014), 321–334, <https://doi.org/10.1038/nrg3686>.

ausgeschaltet.<sup>6</sup> Im Falle des Gens *CRT1a* haben wir im Gewächshausversuch keinen negativen Einfluss auf den Ertrag feststellen können, was aber noch in einem Feldversuch zu überprüfen wäre.

Dann würde sich auch zeigen, ob der Verlust zweier (von insgesamt vier) *CRT1a* Gen-Loci unter natürlichen Bedingungen mit noch unbekanntem Trade-Offs behaftet ist. Erschwert werden solche Feldversuche allerdings durch die gegenwärtige Gesetzeslage in der EU, aber auch durch die Tatsache, dass das Konstrukt mit der Genschere noch nicht 100-prozentig aus den Raps-Mutanten entfernt wurde, was wir durch eine Genomsequenzierung mittels PacBio-Technik leider feststellen mussten.<sup>7</sup>

6 Vgl. Dirk Schenke/Daguang Cai: Phytohormone crosstalk in the host-Verticillium interaction, in: Plant signaling & behavior 15 (2020), <https://doi.org/10.1080%2F15592324.2020.1803567>. – Michael Pröbsting u.a.: Loss-of-function of CRT1a (Calreticulin) reduces susceptibility to Verticillium longisporum in both *Arabidopsis thaliana* and oilseed rape (*Brassica napus*), in: Plant Biotechnology Journal, 18 (2020), 2328–2344, <https://doi.org/10.1111/pbi.13394>.

7 Vgl. Meldung: Ministerium fördert Forschungsprojekt zu Nachweisverfahren genomeditierter Pflanzen (11.12.2020), in: Webseite Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft, <https://www.bmel.de/SharedDocs/Meldungen/DE/Presse/2020/201211-forschung.html> [30.10.2023].

→ **Abb. 3.** Ergebnis des Funktionsverlusts durch Mutation am CRT1a-Lokus in Raps (oben) und durch T-DNA Insertion in der verwandten Modellpflanze *Arabidopsis* (unten). Man sieht, dass eine starke künstliche Infektion im Gewächshaus die ursprünglichen Kontroll-Pflanzen (Wildtyp) stark im Wachstum beeinträchtigt, ja sogar zum Absterben bringen kann, während die Mutanten die Infektion überstanden haben. Darstellung auf Basis von Fig. 1 u. 5 aus: Pröbsting u.a. 2020 (wie Anm. 6), veröffentlicht unter der Lizenz [CC BY-NC-ND 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).



Es gibt sogar bereits eine CRISPR/Cas-Mutation, welche Reis resistenter gegenüber zwei Schadinsekten macht, aber diese Pflanzen haben als Trade-Off einen geringeren Ertrag.<sup>8</sup> Idealer wären also Ansätze, in denen man die Genschere gar nicht erst als DNA-Konstrukt in die Pflanze bringt, sondern einen Protein-RNA Komplex (Ribonucleoproteine – RNP) verwendet und die Ziel-Gene in der Kulturpflanze lediglich ›korrigieren‹, statt ausschalten würde. Auf diese Weise ließe sich beispielsweise eine Gen-Version aus Wildpflanzen ›nachahmen‹, wie es bereits in der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* gelungen ist um eine Virusresistenz zu erzeugen.<sup>9</sup> Damit wären die erhaltenen Pflanzen Transgen-frei und auch unliebsame Trade-Offs wären nicht zu erwarten. Aber um solche ›naturidentischen‹ Gen-Varianten nachzuahmen, müssten gezielte Aminosäureaustausche im codierten Protein erfolgen oder regulatorische Elemente in der Steuerungsregion eines Gens (›Promotor‹) kopiert werden, was durch die Zufallsmutagenese mittels CRISPR/Cas9 nicht möglich ist. Allerdings ist eine erste Lösung durch ›echtes‹ Genom-Editing mit sogenannten ›Prime-Editoren‹ bereits in Sicht.

<sup>8</sup> Vgl. Hai-Ping Lu u.a.: Resistance of rice to insect pests mediated by suppression of serotonin biosynthesis, in: Nat Plants. 4(2018), 338-344, <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0152-7>.

<sup>9</sup> Vgl. Anna Bastet/Christophe Robaglia/Jean-Luc Gallois: eIF4E Resistance: Natural Variation Should Guide Gene Editing, in: Trends in Plant Science 22 (2017), 411-419, <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.01.008>.

## Genom-Editing mittels Prime-Editoren

Seit der Erstbeschreibung von CRISPR/Cas9 hat sich der molekulare ›Werkzeugkasten‹ mit den verfügbaren Genscheren ständig erweitert. Mit Cas12a gibt es beispielsweise auch eine DNA-Schere, welche versetzt schneidet oder Cas13a, welche statt DNA mRNA schneiden kann. Die aber wahrscheinlich wichtigste Weiterentwicklung stellt seit 2019 wohl ›Prime Editing‹ dar, welches auf einem stark modifiziertem Cas9-Protein beruht.<sup>10</sup> Hier wurde das Cas9-Protein an einer Stelle so mutiert, dass kein DSB mehr erfolgt, sondern nur noch ein Einzelstrangbruch (Nickase), an welchem sich die verlängerte sgRNA (prime editing guide RNA – pegRNA) anlagern kann. Diese enthält die gewünschte Mutation (grün in Abb. 4) und dient als Matritze für eine Reverse Transkriptase, welche an die Nickase fusioniert wurde. Diese Reverse Transkriptase kann dann von der so entstandenen künstlichen ›Primer-Bindestelle‹ (PBS) den geschnittenen DNA-Strang verlängern und dabei die Wunsch-Mutation einbauen. Nachdem der Einzelstrangbruch repariert wurde, gibt es einen modifizierten und einen originalen Strang und es besteht eine 50:50 Wahrscheinlichkeit, dass der ungeschnittene Originalstrang anhand der gegenüberliegenden Modifikation repariert wird, so dass beide Stränge wieder komplementär zueinander sind (Abb. 4). Mit Prime-Editing können bis zu 44 bp inseriert, und bis zu 80 bp deletiert werden.<sup>11</sup> Dies ist damit ausreichend, um alle gewünschten DNA-Änderungen bis maximal 20 bp herbeizuführen, wie es von der EU Kommission als Ausnahmeregelung vorgeschlagen wurde.

Damit sollte es also möglich werden, gezielt Aminosäuren auszutauschen und so beispielsweise zu verhindern, dass Effektor-Proteasen wichtige Abwehrproteine der Pflanze spalten<sup>12</sup> oder ganz klassisch durch Stopp-Codone und definierte Frame-Shift Mutationen einen Gen-KO von Anfälligkeitsfaktoren herbeizuführen. Vorhandene Gene unter bestimmten Stressbedingungen an- oder abzuschalten, kann durch kleine Veränderungen im Promotor-Bereich erfolgen, wenn dort Bindestellen für Transkriptionsfaktoren eingefügt oder entfernt werden, so dass beispielsweise auch bakterielle TAL-Effektoren nicht mehr pflanzliche Anfälligkeitsgene aktivieren können.<sup>13</sup> Da einige Pilze kleine RNAs (small RNA – sRNA) für Cross-Kingdom RNAi einsetzen und so die Expression pflanzlicher Abwehrgene verhindern, kann durch den degenerierten genetischen Code die Bindestelle dieser sRNAs so abgewandelt

---

10 Vgl. Andrew V. Anzalone u.a.: Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA, in: Nature 576 (2019), 149–157, <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1711-4>.

11 Vgl. Gue-Ho Hwang u.a.: PE-Designer and PE-Analyzer: web-based design and analysis tools for CRISPR prime editing, in: Nucleic acids research 49 (2021), W499–W504, <https://doi.org/10.1093/nar/gkab319>.

12 Vgl. Lei Li : Activation-Dependent Destruction of a Co-receptor by a Pseudomonas syringae Effector Dampens Plant Immunity, in: Cell host & microbe 20 (2016), 504–514, <https://doi.org/10.1016/j.chom.2016.09.007>.

13 Vgl. Ricardo Oliva u.a.: Broad-spectrum resistance to bacterial blight in rice using genome editing, in: Nat Biotechnol 37(2019), 1344–1350, <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0267-z>.



nik auf enzymatische Weise Transgen-freie Mutanten erzeugt werden können, welche sich nicht von auf natürliche oder andere Weise entstandenen Mutanten unterscheiden lassen. Man ist zwar in der Lage, eine bekannte Mutation in geringsten Saatgutbeimischungen mittels Amplikon-Tiefensequenzierung zu detektieren, wie wir in einer 2023 abgeschlossenen Machbarkeitsstudie gezeigt haben,<sup>15</sup> aber einen gerichtsfesten Nachweis zum Ursprung der Mutationen (Event Identifikation) konnten wir nicht erbringen. Dies wäre aber eine Voraussetzung, um die durch NMT/NGT erzeugten Pflanzen wie GVOs regulieren zu können. Eine PAM in direkter Nähe zur Mutation stellt jedenfalls keinen Beweis für eine künstliche Mutation dar, da es in den Pan-Genomen viele natürliche DNA Polymorphismen neben solchen PAM-Sequenzen zu entdecken gibt und inzwischen auch CRISPR/Cas-Systeme existieren, die ganz ohne eine PAM auskommen.

Mutationen in einer DNA-Sequenz unserer Kulturpflanzen stellen selbst keine Gefahr für die menschliche Gesundheit dar, wir nehmen sie ja bereits täglich mit unserer Nahrung auf, die während der Verdauung in ihre Einzelteile zerlegt wird. Nur wenn diese Mutationen beispielsweise eine Veränderung im Metaboliten-Spiegel bewirken oder allergene Proteine entstehen, besteht überhaupt die Möglichkeit, dass das Produkt für einige Bevölkerungsteile nicht geeignet sein könnte. Wird etwa der Gamma-Amino-Buttersäure (GABA)-Gehalt erhöht, wie es bei der bereits für den Markt in Japan zugelassenen Tomate ›Sicilian Rouge High GABA‹ von Sanatech Seed der Fall ist, werden eher positive Wirkungen von den erhöhten Metaboliten-Konzentrationen erwartet, wie wohl auch für die meisten Vitamingehalte.

Da Genom-editierte, aber Transgen-freie Pflanzen in vielen Ländern bereits von der GVO Regulierung ausgenommen sind, werden diese oder ihre Produkte über kurz oder lang auch nach Europa kommen – ohne dass diese gekennzeichnet wären. Entscheidend für den Anbau in der EU dürfte der Nachweis werden, dass diese Pflanzen tatsächlich Transgen-frei sind, was durch die immer erschwinglicher werdenden Genom-Sequenzierungen auch für kleinere Züchter bezahlbar sein sollte. Damit könnten in Zukunft auch ökonomisch weniger bedeutsame Zwischenfrüchte dem Klimawandel oder Schädlingsdruck angepasst werden, so dass es durch erweiterte Fruchtfolge-Optionen zu mehr Abwechslung auf dem Acker kommt. Insbesondere die Fähigkeit, längere Trockenperioden zu überstehen, wird entscheidend sein, um die landwirtschaftlichen Erträge aller Kulturen abzusichern. Trotzdem gibt es Widerstand gegen die geplante De-Regulierung der neuen Mutagenese Techniken. Viele Gegen-Argumente entpuppen sich bei näherem Hinsehen allerdings als Scheinargumente oder adressieren ganz andere Problematiken, wie anhand von [Tabelle 1](#) verdeutlicht wird und die dem Leser bei der eigenen Meinungsbildung behilflich sein soll.

---

15 Vgl. Ye 2023 (wie Anm. 6).

Tab. 1: Argumente, die oft gegen eine Deregulierung von Genom-editierten Pflanzen ins Feld geführt werden.

#	Argument	Entkräftung
1	Die neue Technik ist noch zu wenig erforscht und daher riskant.	Ungerichtete Mutagenese-Techniken werden schon fast 100 Jahre verwendet, um Pflanzen neue Eigenschaften zu verleihen und werden nicht reguliert. Mit GE kann nun viel präziser ein einzelner Genort verändert werden, ohne gleich das ganze Genom in Mitleidenschaft zu ziehen, was im Endeffekt viel sicherer ist, als viele weitere, aber völlig unbekannte Mutationen zu riskieren.
2	Damit wird das Vorsorgeprinzip ausgehebelt.	Bei einem Wechsel von einer Prozess-bezogenen hin zu einer Produkt-basierten Bewertung kann dem Vorsorgeprinzip viel sinnvoller Rechnung getragen werden, da jetzt die Veränderungen viel besser definiert sind, als es mit der ungerichteten Mutagenese der Fall war.
3	Schädlinge passen sich neuen, durch Gentechnik erzeugten Resistenzen an und die Schutzwirkung geht schnell verloren.	Das ist im Falle von einigen Resistenzgenen zwar so, aber rezessive Resistenz ist deutlich stabiler. Züchtung ist ein immerwährender Prozess und kann den Pflanzen bei der Anpassung einen zeitlichen Vorteil verschaffen.
4	Der Landwirt weiß ja gar nicht, welche Probleme in der kommenden Anbauperiode auftreten, also nützt die neue Gentechnik nichts.	Das Klima wird immer unvorhersehbarer und es ist besser, eine Pflanze anzubauen, die im Falle von Trockenheit oder Schädlingsbefall noch ein gewisses Ertragspotential garantiert, statt einen Totalausfall zu riskieren.
5	Die Biobauern müssen wissen, was im Saatgut drin ist, das der Nachbar anbaut. Wenn sie das nicht wissen, müssen sie selbst Vorsorge treffen und das wird den Ökolandbau erheblich verteuern. Kontrollsysteme aufbauen, Untersuchungen machen - das ist eindeutig etwas, was zu Lasten des ökologischen Landbaus geht.	Bei einer eventuellen Kreuzkontamination wird der Anteil mutierter DNA höchstwahrscheinlich weit unter den gesetzlich vorgeschriebenen Höchstwerten liegen, wobei ein Nachweis noch kein Beweis darstellen würde, dass diese Mutation nicht auf natürliche Weise im Feld des Biobauern entstanden ist, weshalb das Nebeneinander von Öko- und konventionellem Landbau nicht gefährdet sein sollte. Gerade der Ökolandbau könnte auch von resistenteren Sorten profitieren, da hier ja keine Chemie eingesetzt werden darf und Wasser überall knapp sein wird.
6	Ein Gen zu mutieren oder komplett auszuschalten kann die Fitness der Nutzpflanze / den Ertrag mindern.	Das ist richtig und darum sollte auch in Feldversuchen untersucht werden, ob durch die Veränderung Trade-Offs entstanden sind, welche einen negativen Einfluss auf den Ertrag oder die Qualität haben. Nur wenn es aus landwirtschaftlicher Sicht Sinn macht, werden diese Pflanzen später auch für den Markt angebaut.
7	Die neue Technik ermöglicht den Einsatz von Herbizid-Resistenzen, stärkt damit die Marktmacht der Großkonzerne und schädigt durch den Einsatz von Chemie die Biodiversität.	Herbizid-Resistenzen wurden schon vor der Entwicklung der NMT/NGT erzeugt, welche zwar eine solche Anwendung ebenfalls erleichtern, aber nicht für diese Problematik verantwortlich sind. Diese bedarf ganz anderer politischer Regulierung.
8	Gentechnisch veränderte Pflanzen könnten aufgrund von Patenten nur noch zahlungskräftigen Landwirten zur Verfügung stehen.	Ob Patente auf Lebewesen erlaubt sein sollten, ist ebenfalls eine ganz andere Problematik und hat nichts mit der De-Regulierung der Technik zu tun. Es wird auch schwer sein, Patentverletzungen nachzuweisen, da Mutationen ja auch mit anderen Systemen wie den TALEN erzeugt werden können und man einer Mutation eben nicht ansehen kann, wie sie ursprünglich entstanden ist.
9	Gentechnisch verändertes Hybridsaatgut verhindert den Nachbau und macht die Landwirte dadurch von den Züchtern abhängig	Dass man Hybridsaatgut jedes Jahr kaufen muss, ist bekannt, jedoch gleichen die höheren Erträge dies aus. Dieser Mehrwert wird erst durch den Züchter ermöglicht und deshalb wird dieses Saatgut ja auch nachgefragt und produziert.

Man sollte auch nie vergessen, dass keine Pflanze genetisch zu 100 Prozent mit anderen identisch ist, weil durch natürliche Mutationen in jeder Generation Unterschiede entstehen. Als Mutation kann eigentlich nur die DNA-Sequenz identifiziert werden, welche sich von >50 Prozent der im Pan-Genom etablierten Sequenz unterscheidet. Liegt an einer definierten Stelle zu 33,3 Prozent ›A‹, 33,3 Prozent ›T‹ oder 33,3 Prozent ›G‹ vor, so gibt es überhaupt keine Referenz und nur ein ›C‹ wäre als wahrscheinliche Mutation mit 0,1 Prozent auszumachen. Wenn man nun durch Genom Editing Mutationen erzeugt, dann ist das im Prinzip nichts anderes, als der Versuch, die Evolution unserer Kulturpflanzen zu beschleunigen und nur, wenn sich im Feldversuch der erwartete Selektionsvorteil zeigt, wird eine solche Mutation in ein Zuchtprogramm aufgenommen werden. Der gesamte Züchtungsprozess kann durch GE zwar stark verkürzt ablaufen, weil man auf viele Rückkreuzungen verzichten kann, das bedeutet aber nicht, dass sich der Zeitaufwand für eine Sicherheitsbewertung und die anschließende Sortenzulassung verringern würde. Es wird auch nicht möglich sein, alle Probleme in der Landwirtschaft mittels Genom Editing zu lösen. Die Züchtung verbesserter Kulturpflanzen ist nur eine von vielen erforderlichen Maßnahmen, um unsere Landwirtschaft nachhaltiger und ökologisch vertretbarer zu gestalten; ein wichtiger Aspekt ist dabei auch die Verbraucherakzeptanz sowie die Bereitschaft der Bevölkerung, ihre Ernährungsgewohnheiten ebenfalls anzupassen.

---

## Autor

**PD Dr. Dirk Schenke** 

geb. 1973 in Hamm (Westf), Studium der Biologie an der Westfälischen Wilhelms Universität Münster; Promotion 2004 an der Universität Okayama (Japan); Post-Doc am Leibniz-Institut für Pflanzenbiochemie (IPB) in Halle (Saale) von 2006 bis 2011. Von 2013 bis 2020 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Phytopathologie, Abteilung Molekulare Phytopathologie und Biotechnologie von Prof. Dr. Daguang Cai. Habilitation 2021 und seitdem Privatdozent an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.

E-Mail: [d.schenke@phytomed.uni-kiel.de](mailto:d.schenke@phytomed.uni-kiel.de)

---

 **Open Access** // Der Artikel ist unter der Creative-Commons-Lizenz Namensnennung 4.0 International veröffentlicht. Den Vertragstext finden Sie unter: <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0>. Bitte beachten Sie, dass einzelne, entsprechend gekennzeichnete Teile des Werks von der genannten Lizenz ausgenommen sein bzw. anderen urheberrechtlichen Bedingungen unterliegen können.