

Erläuterungen zur AFBV-WGG-Initiative aktualisiert im Juli 2022

Vorschläge zur Entwicklung bestimmter Kategorien von Produkten, die aus gezielter Mutagenese (neuen genomischen Techniken (NGT)) und Cisgenese gewonnen werden

A. Herausforderungen für die Landwirtschaft:

Die Landwirtschaft steht vor zahlreichen Herausforderungen, von denen die wichtigsten sind:

- die Zunahme der Weltbevölkerung (9-10 Milliarden Menschen im Jahr 2050),
- die Verknappung der Anbauflächen,
- die Risiken im Zusammenhang mit dem Klimawandel und
- der Verlust der biologischen Vielfalt.

Daraus ergibt sich die Notwendigkeit einer nachhaltigen Produktion mit geringerem Flächen- und Betriebsmitteleinsatz und einer Verringerung der Umweltauswirkungen.

B. Notwendigkeiten, für weitere Innovationen zur Verbesserung von Kulturpflanzen:

Um diesen Herausforderungen zu begegnen, müssen alle Beteiligten die Stärkung einer innovativen und effizienten Landwirtschaft in Frankreich, Deutschland, Europa und dem Rest der Welt vorantreiben. Unter den Innovationen, die auf allen Stufen der Erzeugerkette - vom Saatgut bis zur Verarbeitung des Erntegutes - erforderlich sind, kommt allen Beteiligten aus der Pflanzengenetik und -biotechnologie eine wichtige Rolle zu. Es ist entscheidend, dass alle verfügbaren Technologien/Techniken, die für die Erzeugung neuer Pflanzensorten zur Verfügung stehen, grundsätzlich ohne Ausschluss genutzt werden können.

C. Neue genomische Techniken (NGT):

Die Terminologie der Neuen Genomischen Techniken (NGT) wurde von der Europäischen Kommission während der Konsultation der Interessengruppen in der ersten Hälfte des Jahres 2020 eingeführt (https://ec.europa.eu/food/plant/gmo/modern_biotech/new-genomic-techniques_en). In ihrer Studie vom 29. April 2021 schlug die Kommission eine politische Maßnahme zur gezielten Mutagenese und Cisgenese vor. Gezielte (oder gerichtete) Mutagenese entspricht dem, was in vielen Veröffentlichungen als Genome Editing bezeichnet wird, ein Begriff, den wir im weiteren Verlauf dieses Textes verwenden werden.

Genome Editing gehört zu den Techniken, die früher als NBT (New Breeding Techniques) [1] bezeichnet wurden (um das Lesen zu erleichtern, sind die Anmerkungen und Referenzen in Anhang 1 zusammengefasst). Unter Genome Editing werden Techniken zusammengefasst, die eine gezielte Veränderung der genetischen Information durch Insertionen; Deletionen oder Austausch (Ersetzung) von Nukleotiden an einer bestimmten Stelle der Genomsequenz eines Empfängerorganismus ermöglichen [2]. Der Begriff "Genom" umfasst die verschiedenen Genome einer Zelle: Kern- und Organelle Genome (Chloroplasten, Mitochondrien).

Diese Techniken sind bei Pflanzen zu wichtigen Instrumenten geworden, um erwünschte Eigenschaften zu erzielen, wie z. B. Resistenz gegen biotischen Stress, Krankheitserreger und Aggressoren, erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Stress wie Trockenheit oder Temperaturschwankungen sowie die Verbesserung der hygienischen, technologischen und ernährungsphysiologischen Qualität von Ernteprodukten.

Bei der Cisgenese wird eine exakte Kopie von Sequenzen (einem Cisgen), die bereits im natürlichen Genpool einer Art vorhanden sind, in das Genom eingefügt.

Genome-Editing-Techniken haben ihr großes Potenzial für die genetische Verbesserung von Nutzpflanzen in Forschung und Entwicklung bereits unter Beweis gestellt, wie zahlreiche wissenschaftliche Veröffentlichungen belegen. Die ersten Pflanzen, die mit Hilfe solcher Techniken gezüchtet wurden, sind in Nordamerika auf dem Markt [3], und in Japan wurde mit der begrenzten Einführung einer Tomatensorte begonnen [4]. Beispiele für genomeditierte und cisgene Pflanzen) finden Sie in Anhang 2.

Verschiedene Analysen und Bewertungen dieser Techniken durch den französischen Hohen Rat für Biotechnologien (HCB), der Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) und den Mechanismus für wissenschaftliche Beratung (SAM) in Europa kamen zu dem Schluss, dass sich die mithilfe dieser Techniken entwickelten Pflanzen in ihren Auswirkungen auf die Gesundheit oder die Umwelt nicht von denen unterscheiden, die mit herkömmlichen Züchtungsmethoden gewonnen wurden [5]. Im Jahr 2021 veröffentlichte die EFSA ein wissenschaftliches Gutachten zu den SDN-1, SDN-2 und ODM Techniken [6] und im April 2022 einen aktualisierten Entwurf eines wissenschaftlichen Gutachtens zur Cisgenese und Intragenese [7], in dem erneut bestätigt wird, dass im Vergleich zu herkömmlichen Züchtungsmethoden keine spezifischen Risiken bestehen.

Als Reaktion auf die Klima- und Umweltherausforderungen verabschiedete die Europäische Kommission im Dezember 2019 den Europäischen Green Deal mit dem Ziel, Wirtschaft und Gesellschaft auf einen nachhaltigeren Weg zu bringen. Sie ist der Ansicht, dass europäische Lebensmittel dafür bekannt sind, sicher, nahrhaft und von hoher Qualität zu sein, und dass sie nun auch zum globalen Standard für Nachhaltigkeit werden sollten [8]. Als Erweiterung des Green Deal veröffentlichte die Kommission im Mai 2020 ihre "Farm to Fork"-Strategie, in der sie ankündigte, das Potenzial gezielter Mutagenese-Techniken zur Verbesserung der Nachhaltigkeit in der Lebensmittelversorgungskette zu untersuchen [9]. Die Ergebnisse dieser Studie, die im April 2021 veröffentlicht wurden, enthielten unter anderem den Vorschlag, eine politische Maßnahme zur "gezielten Mutagenese" und "Cisgenese" einzuleiten [10]. Diese Empfehlungen wurden vom Ministerrat im Mai 2021 bestätigt [11]. Im September 2021 veröffentlichte die Kommission eine vorläufige Auswirkungsstudie (deren endgültige Fassung für das zweite Quartal 2023 vorgesehen ist) und veranstaltete eine öffentliche Anhörung zur Anpassung der geltenden Rechtsvorschriften [12]. Sie hat gerade die nächste Phase in Form einer öffentlichen Konsultation eingeleitet, die am 22. Juli 2022 abgeschlossen sein wird [13]. Ziel der Kommission ist es, die Folgenabschätzung und möglicherweise einen Entwurf für einen Gesetzestext für bestimmte neue genomische Techniken im zweiten Quartal 2023 zu veröffentlichen, der dann die Verfahren des Ministerrats und des Europäischen Parlaments durchläuft [14].

In Anbetracht des Potenzials dieser Techniken, die die Europäische Union in die Lage zu versetzen, ihre Nachhaltigkeitsziele zu erreichen, scheint es für die EU unerlässlich, die GVO-Rechtsvorschriften für Pflanzen, die aus Genome-Editing-Techniken (NGT) (editierte Pflanzen) und Cisgenese (cisgene Pflanzen) stammen, rasch anzupassen [15].

Hierzu legen wir, der AFBV und der WGG, im Folgenden unseren Vorschlag für eine Überarbeitung dieses Rahmens vor.

D. Grundlage für unseren Ansatz:

Der AFBV und die WGG sind der Ansicht, dass eine vollständige Überarbeitung der Richtlinie 2001/18/EG zur Regelung von GVO viel Zeit in Anspruch nehmen wird, was mit der Notwendigkeit, die Wettbewerbsfähigkeit von Forschungsteams und Saatgutunternehmen zu erhalten, nur schwer zu vereinbaren ist. In Erwartung einer vollständigen Überarbeitung der europäischen Richtlinien und Verordnungen zu GVO sowie einer Harmonisierung mit internationalen Verträgen schlagen unsere Organisationen eine Zwischenlösung vor, die eine gezielte Änderung der Richtlinie 2001/18/EG und der damit zusammenhängenden GVO-Verordnungen und -Richtlinien beinhaltet, indem neue Bestimmungen

eingeführt werden, die es den Entwicklern ermöglichen, bestimmte Kategorien von Pflanzen, die durch Genomeditierung und Cisgenese entstanden sind, rasch in ihre Züchtungsprogramme zu integrieren.

E. Vorschläge für Ergänzungen zur Richtlinie 2001/18/EG:

Ohne den Geist und die Kohärenz der Richtlinie 2001/18/EG zu beeinträchtigen, schlagen wir Änderungen vor, die den aktuellen wissenschaftlichen Erkenntnissen und dem technischen Fortschritt Rechnung tragen. Diese Änderungen betreffen zwar nur die Bestimmungen der Richtlinie 2001/18/EG, aber es versteht sich von selbst, dass auch die anderen GVO-bezogene Richtlinien und Verordnungen in der EU geändert werden müssen, um die gleichen Änderungen zu übernehmen.

Unsere Vorschläge wurden speziell für die Regulierung von pflanzlichen Erzeugnissen verfasst. Sie können, falls erforderlich und angemessen, an Tiere und Mikroorganismen angepasst werden.

Unser Vorschlag befasst sich mit den folgenden beiden Punkten:

- (1) dem rechtlichen Status und den Anwendungsbedingungen von Techniken, die unter den Begriffen "Genome Editing" und "Cisgenese" zusammengefasst werden,
- (2) dem rechtlichen Status von Null-Segreganten, wie folgt:

1. Definition der Begriffe "gezielte Mutagenese" und "Cisgenese"

Aufnahme dieser Definitionen in die Richtlinie (Hinzufügung eines neuen Punktes (4) in Anhang I A, Teil 1).

2. Bestimmte Kategorien von Pflanzen, die durch Genomeditierung erzeugt wurden, aus dem Anwendungsbereich der Richtlinie herausnehmen.

Da mithilfe von Genome-Editing-Techniken ein breites Spektrum von Veränderungen im Genom erzielt werden kann, das von der Veränderung eines Nukleotids bis zum Einbau ganzer Gene reicht, schlagen wir vor, verschiedene Kategorien von Pflanzen auf der Grundlage der Art der vorgenommenen Veränderung einzuführen. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt schlagen wir vier Kategorien von Pflanzen vor, die mit Hilfe von Genom-Editing-Techniken erzeugt wurden und vom Anwendungsbereich der Richtlinie ausgenommen werden sollten. Nachdem bestätigt wurde, dass eine vorgeschlagene Pflanze einer der ausgeschlossenen Kategorien entspricht, und zwar gemäß dem unten beschriebenen Verfahren, würde diese Pflanze in der gleichen Weise reguliert werden wie Pflanzen, die aus traditionellen Züchtungsmethoden stammen [16]. Die vier Kategorien werden in einem neuen Anhang I C der Richtlinie beschrieben und würden Folgende umfassen:

- **Kategorie 1:** Eine Pflanze mit einem Allel, das so editiert wurde [17], dass es eine Funktionalität (Eigenschaft) ausprägt, die mit einem bekannten Allel korrespondiert, das in ihrem natürlichen Genpool vorhanden ist [18].
Eine solche Veränderung wäre beispielsweise gleichbedeutend mit der Übertragung eines bekannten Allels aus einem Wildtyp auf eine gezüchtete Sorte derselben Art, die durch herkömmliche Züchtungsmethoden erreicht wird.
- **Kategorie 2:** Eine Pflanze mit einem Allel, das so editiert wurde, dass es eine Funktionalität (Eigenschaft) ausprägt, die mit einem bekannten Allel einer Pflanzenart korrespondiert, die nicht zum natürlichen Genpool der Pflanze gehört.
Da die Spender- und die Empfängerpflanze sexuell inkompatibel sind, ist diese Kategorie eine Erweiterung der Kategorie 1 auf der Grundlage der phylogenetischen Abstammung (gemeinsamer Vorfahre zwischen diesen beiden Allelen).
- **Kategorie 3:** Eine Pflanze mit einem Allel, das editiert wurde, um eine neue Funktionalität (Eigenschaft) auszuprägen, wobei die durch Genome Editing erzielten Sequenzveränderungen

vom gleichen Typ sind, wie diejenigen, die durch spontane oder induzierte Mutagenese erzielt werden können.

Bei Anwendung herkömmlicher Züchtungsmethoden würden solche Veränderungen denjenigen entsprechen, die durch die Selektion einer Pflanze mit einem neuen Allel aufgrund einer spontanen oder induzierten Mutation erzielt werden, wobei diese Pflanze dann mit einer Kulturpflanze gekreuzt wird, um die gewünschte Mutation zu selektieren.

- **Kategorie 4:** Eine Pflanze, in deren Genom ein Cisgen entweder zufällig oder in einen ausgewählten Locus (Ort) eingefügt wurde, im letzteren Fall in Form einer zusätzlichen Kopie oder eines Austauschs.

Unter den Genotypen einer Art variiert die Anzahl der Kopien bestimmter Gene (von Null bis N) (dies kann z. B. durch Duplikation am Locus, ungleiche Kreuzungen oder Translokation durch Transposons bedingt sein). Mit herkömmlichen Züchtungsmethoden kann man nach dem Kriterium "Kopienzahl" selektieren. Das Hinzufügen von Allelkopien durch Genomeditierung reproduziert diesen Züchtungsprozess direkt.

In Bezug auf alle oben genannten Kategorien ist es möglich, durch Genomeditierung (NGT) in ein und derselben Pflanze mehrere editierte Allele (oder eingefügte Cisgene) einzufügen. Diese Allele (oder Cisgene) können demselben Allel (oder Gen) entsprechen, das auf den Kopien eines Chromosoms vorhanden ist (bei diploiden oder polyploiden Pflanzen), oder Allelen verschiedener Gene. Mehrere Kopien desselben Allels oder Bissens müssen nicht einzeln analysiert werden. Nur die verschiedenen editierten Allele oder die verschiedenen eingefügten Cisgene sollten unabhängig voneinander nach den oben definierten Kriterien analysiert werden. In solchen Fällen ist jedes editierte Allel (oder eingefügte Cisgen) unabhängig nach den oben definierten Kriterien zu analysieren. Fallen alle editierten Allele oder eingefügten Cisgene unter dieselbe Kategorie, gehört die Pflanze zu dieser Kategorie. Gehören die editierten Allele oder eingefügten Cisgene zu verschiedenen Kategorien, muss die Pflanze jeder relevanten Kategorie entsprechen, um ausgeschlossen zu werden. Wird ein anderes Allel einer Pflanze, die zuvor als ausgeschlossen eingestuft wurde, neu bearbeitet oder ein neues Cisgen in eine solche ausgeschlossene Pflanze eingefügt, muss der Anmelder nur den Ausschluss für das neue Allel oder das neue Cisgen bestätigen. Bei Pflanzen der Kategorie 3 kann eine große Schnittzone vorhanden sein, die einem Chromosomenfragment entspricht, wie es nach einer spontanen Mutation oder einer Strahlenbelastung auftreten kann.

Im Zuge der Weiterentwicklung der wissenschaftlichen Erkenntnisse und des technischen Fortschritts können weitere neue Kategorien in Anhang I C der Richtlinie aufgenommen werden (siehe auch Punkt 4).

3. Vorschlag für einen neuen, vorhersehbaren Regulierungsweg für die oben genannten Kategorien von genomeditierten Pflanzen.

Der Anmelder einer genomeditierten Pflanze muss sich den Ausschluss dieser Pflanze bei der kompetenten Behörde einholen. Das Ausschlussverfahren wird dabei entsprechend der jeweiligen Ausschlusskategorie vorgenommen.

- **Verfahren zur Einreichung eines Antrags zur Bestätigung eines Ausschlusses:**
 - Der Anmelder stellt seinen Antrag bei der für die GVO zuständigen Behörde des Mitgliedstaates (in Frankreich das Landwirtschaftsministerium und in Deutschland das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft), die sich auf ihre bestehenden internen Dienststellen stützt, die in der Lage sind, GVO zu bewerten (in Frankreich die ANSES oder das CESE und in Deutschland das BVL (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit)). Eine zuständige Behörde auf EU-Ebene könnte diese Rolle übernehmen, wenn dies als sinnvoll erachtet wird;

- Der Antrag auf Ausschlussbestätigung wird vom Anmelder immer dann gestellt, wenn er den Ausschluss seiner Pflanze aus dem Geltungsbereich der Richtlinie 2001/18/EG, der Verordnungen (EG) Nr. 1829/2003 und Nr. 1830/2003 sowie anderer GVO-Verordnungen der EU in Anspruch nehmen will. Auf jedem Fall muss der Antrag auf Ausschluss vor dem Beginn einer Vermarktung gestellt werden.
- Die Ausschlussentscheidung einer editierten Pflanze gilt für alle Nachkommen dieser Pflanze, die dieselbe Veränderung enthalten und ist für alle Mitgliedstaaten verbindlich.
- Sobald die Ausschlussbestätigung vorliegt, unterliegt jede aus der veränderten Pflanze gewonnene Sorte den für die betreffenden Kulturpflanzenarten geltenden Saatgut- und Sortenschutzvorschriften in gleicher Weise wie jede durch herkömmliche Züchtungsverfahren gewonnene Sorte, einschließlich der Eintragung [19] in die gemeinsamen Sortenkataloge für landwirtschaftliche Pflanzen- und Gemüsearten, die in der EU vermarktet werden können.
- Für diese Sorten gelten die für konventionelle Sorten bestehenden Kennzeichnungs- und Rückverfolgbarkeitsvorschriften. Den für die Anwendung der Saatgut- und Sortenschutzvorschriften zuständigen Behörden werden Informationen über die Art dieser Pflanzen sowie die Ausschlussbestätigung vorgelegt. Wie in einigen Ländern könnte eine öffentlich zugängliche Datenbank für diese Pflanzen eingerichtet werden (siehe Beispiele für Datenbanken in Anhang 2).

- **Inhalt des Antrags auf eine Ausschlussbestätigung**

Die vom Antragsteller zu liefernden Informationen sind an die jeweilige Kategorie anzupassen und müssen diesen entsprechen:

Standardanforderungen für alle Kategorien:

(i) Name des Anmelders und Kontaktinformationen;

(ii) Taxonomische Beschreibung der Pflanze, die genomeditiert wurde oder in die ein Cisgen eingefügt wurde;

(iii) Angaben der verwendeten Technik sowie der wichtigsten Schritte, die angewandt wurde(n), einschließlich, falls zutreffend, der Angabe, ob ein GVO-Zwischenprodukt in Herstellungsprozess entstanden ist. Des Weiteren sind die Verfahren zur Eliminierung einer eingefügten rekombinanten Nukleinsäuresequenz anzugeben und die Bestätigung der Beseitigung einer solchen eingefügten Sequenz (Null-Segregant) vorzulegen.

Kategoriespezifische Anforderungen

Für die Kategorien 1 und 2:

(i) Taxonomische Beschreibung der Pflanze, die das Modellallel enthält, und eine Beschreibung des Modellallels;

(ii) Beschreibung der in der endgültigen Pflanze vorgenommenen Änderung (Insertion, Deletion, Austausch); Bestätigung, dass die resultierende geänderte Sequenz enthalten ist, und Vergleich der Funktionalität des Modells und der geänderten Allele;

Für Kategorie 3:

(i) Beschreibung des neuen Allels und seiner Funktionalität, das nach der Genomeditierung erhalten wurde. Darlegung verfügbarer Hintergrundinformationen über die Gründe der Editierung dieses speziellen Allels, und seinem Ursprung (z. B. Forschungsarbeiten);

(ii) Beschreibung der in der endgültigen Pflanze durchgeführten Editierung (Insertion, Deletion, Austausch) und Bestätigung, dass die resultierende editierte Sequenz und ihre Funktionalität erhalten wurden.

Für Kategorie 4:

(i) Taxonomische Beschreibung der Spenderpflanze, die das einzufügende Cisgen enthält, und die Beschreibung dieses Bissens;

(ii) Bestätigung der Sequenz des Cisgens in der Empfängerpflanze im Vergleich zum ursprünglichen Gen im natürlichen Genpool;

(iii) Nachweis, dass sich das eingefügte oder ausgetauschte Cisgen an der Zielstelle befindet, wenn es sich um einen ausgewählten Ort handelt, oder Beschreibung der Stelle, an der die zufällige Einfügung erfolgte.

Alle vom Anmelder übermittelten Informationen, für die er Vertraulichkeit beanspruchen möchte, müssen als "vertraulich" gekennzeichnet werden.

Die zuständige Behörde eines Mitgliedstaates sollte nicht mehr als neunzig Tage benötigen, um festzustellen, ob eine editierte Pflanze unter eine der vier Ausschlusskategorien fällt oder nicht.

4. Einführung einer regelmäßigen Überprüfung- und Aktualisierung der Richtlinie, damit sie den Fortschritten der wissenschaftlichen Erkenntnisse und des technischen Fortschritts entspricht.

Wie bereits oben erwähnt, beruhen diese Vorschläge auf dem aktuellen Stand der wissenschaftlichen Erkenntnisse und des technischen Fortschritts. Da sich die wissenschaftlichen Erkenntnisse und der technische Fortschritt in diesem Bereich rasch weiterentwickeln, schlagen wir vor, dass die Kommission dem Europäischen Parlament alle fünf Jahre nach Anhörung der einschlägigen Interessengruppen und in Zusammenarbeit mit den zuständigen Behörden der Mitgliedstaaten über die Entwicklung der wissenschaftlichen Erkenntnisse und des technischen Fortschritts berichtet und erforderlichenfalls eine Überarbeitung der Anhänge vorschlägt.

5. Behandlung des Status von Null-Segreganten (Nachkommen einer GVO-Pflanze, aus der das GVO-Merkmal entfernt wurde).

Im Rahmen dieser Überarbeitung der Richtlinie schlagen wir vor, dass Null-Segreganten vom Anwendungsbereich der Richtlinie ausgenommen werden [20].

- **Definition von negativen Segreganten:** Aufnahme einer Definition von negativen Segreganten in die Richtlinie (Hinzufügung im neuen Absatz (4) von Anhang I A, Teil 1)

- Negative Segreganten sollten nicht unter den Geltungsbereich der Richtlinie fallen. Der Status dieser Pflanzen ist in der Richtlinie unklar. Wir schlagen vor, bei einer Anpassung dieser Richtlinie den Status dieser Pflanzen zu klären. Bei diesen negativen Segreganten handelt es sich um Nachkommen von gentechnisch veränderten (gv) Pflanzen, bei denen die eingefügte (veränderte) DNA entfernt wurde (meist durch Kreuzung). Bei diesen gentechnisch veränderten Pflanzen handelt es sich entweder um Pflanzen, in die eine oder mehrere Sequenzen eingefügt wurden, um ein bestimmtes Merkmal zu erhalten, oder um eine gewünschte Veränderung, z. B. eine gezielte Mutagenese, zu ermöglichen. Diese Pflanzen werden vom Geltungsbereich der GVO-Vorschriften ausgenommen.

Es ist zu beachten, dass eine negative Segregante, die nach der Anwendung von Genomeditierungsverfahren gewonnen wird und ebenfalls eine editierte Pflanze ist, dem Prozess zur Abschlussbestätigung in Bezug auf das Editing gemäß dem nachstehenden Verfahren unterzogen wird.

- Der Entwickler/Züchter kann die Bestätigung eines negativen Segregantenstatus erhalten, indem er sich an die zuständige Behörde des für die GVO-Vorschriften zuständigen Mitgliedstaats

wendet. Das Verfahren ähnelt dem in Abschnitt 3 beschriebenen. Es ist hinreichend, wenn der Entwickler/Züchter den Stammbaum der negativen Segregante beschreibt und nachweist, dass alle artfremden DNA-Insertionen, gegebenenfalls mit Ausnahme eines oder mehrerer Cisgene, tatsächlich entfernt wurden.

Eine Null-Segregante, die nach der Genomeditierung erhalten wird und ebenfalls eine editierte Pflanze darstellt, unterliegt dem Bestätigungsverfahren, um den Ausschluss unter einer der vier oben genannten Kategorien zu erhalten.

Diese Vorschläge können in Form einer Änderung in die Richtlinie 2001/18/EG aufgenommen werden. Ein Änderungsentwurf wurde vom AFBV und der WGG im Jahr 2020 erstellt. Er kann auf Anfrage zur Verfügung gestellt werden.

Für die Umsetzung der in diesem Vermerk beschriebenen Grundsätze können auch andere alternative Rechtsmechanismen gewählt werden.

Frankfurt und Paris, Januar 2020
Aktualisiert mit Anmerkungen und Hinweisen, Juli 2022

Anhang 1

Anmerkungen und Referenzen

- [1] NBT (Neue Züchtungstechniken: NBT ist ein Oberbegriff, der eine Reihe verschiedener Technologien umfasst, die in der Pflanzenforschung und -züchtung eingesetzt werden, wie z. B.: Genomeditierung, epigenetische Modifikation (RNA-gesteuerte DNA-Methylierung), Aufpfropfen auf gentechnisch veränderte Unterlagen, reverse Züchtung, Agro-Infiltration, Intragenese und Cisgenese. Van Der Meer et al. (2020) S. 7; SAM (2017) - S. 56-70. Für Pflanzenanwendungen wird manchmal das Akronym NPBT (New Plant Breeding Techniques) verwendet. Die EU-Kommission schlug in ihrer Konsultation mit Interessenvertretern in der ersten Jahreshälfte 2020 die Verwendung des Begriffs **NGT** (New Genomic Techniques) vor. Der Begriff umfasst "Techniken, die in der Lage sind, das genetische Material eines Organismus zu verändern und die seit 2001 entstanden sind oder entwickelt wurden". Neben den Genome-Editing-Technologien [2] (von der Kommission auch als gezielte Mutagenese bezeichnet) und der Oligonukleotid-gesteuerten Mutagenese (ODM2) schließt die Kommission auch die epigenetische Veränderung (RNA-gesteuerte DNA-Methylierung) und die Cisgenese ein.
https://ec.europa.eu/food/plant/gmo/modern_biotech/new-genomic-techniques_en
- [2] Unsere Definition schränkt die Liste der Genom-Editing-Technologien in einem sich rasch entwickelnden Bereich nicht ein und steht im Einklang mit der von SAM verwendeten Definition. SAM (2018), S. 7. Ohne Einschränkung umfassen diese Technologien beispielsweise die ortsgerichtete Nuklease-1 (SDN-1), die ortsgerichtete Nuklease-2 (SDN-2), die ortsgerichtete Nuklease-3 (SDN-3), die Oligonukleotid-gerichtete Mutagenese (ODM), das Base Editing und das Prime Editing. EFSA (2020), S. 7. Die Nukleasen können unterschiedlicher Art sein, wie z. B. Meganukleasen, TALEN (Transcription Activator-Like Effector Nuclease) oder, häufiger erwähnt oder zitiert, CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats). Im Zuge der Weiterentwicklung der Technologien auf dem Gebiet des Genome Editing können weitere Technologien in diese Liste aufgenommen werden.
- [3] Genomeditierte Sojabohnen mit hohem Ölsäuregehalt werden seit 2019 in den Vereinigten Staaten vermarktet.
<https://calyxt.com/first-commercial-sale-of-calyxt-high-oleic-soybean-oil-on-the-u-s-market/>
- [4] Eine genomeditierte Tomate mit einem höheren Gehalt an γ -Aminobuttersäure (GABA), die von Sanatech Ltd. in Zusammenarbeit mit der Universität Tsukuba entwickelt wurde, wird von japanischen Gärtnern vermarktet.
<https://sanatech-seed.com/en/20201211-1-2/>;
<http://p-e-s.co.jp/tomato/high-gaba-tomatoes-monitor/>.
- [5] In seinem Gutachten von 2020 (EFSA (2020) - S. 11) kam das GVO-Gremium der EFSA zu dem Schluss, dass es "keine zusätzlichen Gefahren im Zusammenhang mit der Verwendung der SDN-1-, SDN-2- oder ODM-Ansätze im Vergleich zu SDN-3 und konventionellen Züchtungstechniken, die konventionelle Mutagenese beinhalten, feststellen konnte". Die Ansätze SDN-1 und SDN-2 können Off-Target-Veränderungen hervorrufen, die aber, wie bei SDN3, geringer sind als bei den klassischen Mutagenese-Techniken auftreten, wodurch das Risiko der Veränderung oder Unterbrechung von Genen verringert wird. Darüber hinaus sind Züchter bei vielen Arten, insbesondere bei Feldfrüchten und Gemüse, an Rückkreuzungen gewöhnt, um zu einer Elitesorte zurückzukehren. Diese enthält nur das neue Genomfragment, das die gewünschte Eigenschaft liefert, in diesem Fall das bearbeitete Allel. In ihrem Gutachten von 2020 erinnerte die EFSA daran, dass sie in ihrem Gutachten von 2012 zu SDN-3 darauf hingewiesen hatte, dass "Rückkreuzungsschritte, die auf den Transformationsprozess folgen, wahrscheinlich Off-Target-Mutationen aus dem Genom des Endprodukts entfernen würden [...]". Das GVO-Gremium ist der Ansicht, dass dieser Aspekt nach wie vor auf Pflanzen zutrifft, die über SDN-1, SDN-2 und ODM-Ansätze erzeugt wurden. EFSA (2020) S. 10. Siehe auch SAM (2017) auf S. 87-91, Haut Conseil des Biotechnologies (2017), auf S. 48-55 (französische Fassung), 46-51 (englische Übersetzung).
- [6] Anwendbarkeit des EFSA-Gutachtens zu ortsgerichteten Nukleasen des Typs 3 für die Sicherheitsbewertung von Pflanzen, die mit ortsgerichteten Nukleasen des Typs 1 und 2 und Oligonukleotid-gerichteter Mutagenese entwickelt wurden: doi: 10.2903/j.efsa.2020.6299
- [7] EFSA-Gutachten zu Cisgenese und Intragenese (2012) (<https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2561>) und EFSA (2022) "Draft updated opinion on plants developed through cisgenesis and intragenesis" (<https://connect.efsa.europa.eu/RM/s/publicconsultation2/a017U0000011Zb2/pc0176>)

- [8] Mitteilung der Europäischen Kommission: "Der Europäische Green Deal", 11. Dezember 2019, S. 11.
<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1576150542719&uri=COM%3A2019%3A640%3AFIN>
- [9] Mitteilung der Europäischen Kommission: "Eine Strategie vom Erzeuger zum Verbraucher für ein faires, gesundes und umweltfreundliches Lebensmittelsystem", 20. Mai 2020, S. 8.
<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=CELEX:52020DC0381>
 "Der Klimawandel bringt neue Bedrohungen für die Pflanzengesundheit mit sich. Die Herausforderung der Nachhaltigkeit erfordert Maßnahmen für einen besseren Schutz der Pflanzen vor neu auftretenden Schädlingen und Krankheiten und für Innovationen. Die Kommission wird Vorschriften erlassen, um die Wachsamkeit bei der Einfuhr von Pflanzen und die Überwachung im Gebiet der Union zu verstärken. Neue innovative Techniken, einschließlich der Biotechnologie und der Entwicklung biobasierter Produkte, können eine Rolle bei der Verbesserung der Nachhaltigkeit spielen, sofern sie für die Verbraucher und die Umwelt sicher sind und der Gesellschaft als Ganzes Vorteile bringen. Sie können auch den Prozess der Verringerung der Abhängigkeit von Pestiziden beschleunigen. Auf Ersuchen der Mitgliedstaaten führt die Kommission eine Studie durch, in der das Potenzial neuer Genomtechniken zur Verbesserung der Nachhaltigkeit in der Lebensmittelversorgungskette untersucht wird."
- [10] Studie der Europäischen Kommission über neue genomische Techniken, 29. April 2021:
https://ec.europa.eu/food/plants/genetically-modified-organisms/new-techniques-biotechnology/ec-study-new-genomic-techniques_en
- [11] Ministerratssitzung vom 26. und 27. Mai 2021:
<https://www.consilium.europa.eu/en/meetings/agrifish/2021/05/26-27/>
- [12] Konsultation der Kommission über die Notwendigkeit, einen neuen Rechtsrahmen für Pflanzen, die durch gezielte Mutagenese und Cisgenese gewonnen wurden, und für deren Lebens- und Futtermittel vorzuschlagen:
https://ec.europa.eu/info/law/better-regulation/have-your-say/initiatives/13119-Legislation-for-plants-produced-by-certain-new-genomic-techniques_en
- [13] Öffentliche Konsultation zur gezielten Mutagenese und Cisgenese (bis zum 22. Juli 2022): https://ec.europa.eu/info/law/better-regulation/have-your-say/initiatives/13119-Legislation-for-plants-produced-by-certain-new-genomic-techniques/public-consultation_de
- [14] https://ec.europa.eu/food/system/files/2022-04/sc_modif-genet_pub-cons-factsheet.pdf
- [15] Die SAM erklärte 2018: "Neue wissenschaftliche Erkenntnisse und jüngste technische Entwicklungen haben dazu geführt, dass die GVO-Richtlinie nicht mehr zweckmäßig ist." SAM (2018), S. 2. Darüber hinaus beantwortete Julien Denormand, der französische Landwirtschaftsminister, in einem Interview in L'Opinion im September 2020 eine Frage zu NBTs:
 "Wie stehen Sie zu den neuen Genome-Editing-Technologien, die es ermöglichen, die Sortenauswahl zu beschleunigen? Das ist ein komplexes, rechtliches Thema. In Europa gibt es eine rote Linie, die nicht überschritten werden darf: die der GVO. Allerdings entwickeln sich die Techniken der Pflanzeninnovation weiter. Der europäische Rahmen, der sie regelt, stammt vom Anfang des 21. Jahrhunderts und ist zweifellos ungeeignet für diese neuen Technologien, die es ermöglichen, das zu sichten, was die Natur zweifellos zu einem bestimmten Zeitpunkt von sich aus anbieten würde und ein agronomisches Interesse darstellt. Sie sollte sich weiterentwickeln können, ohne die rote Linie zu überschreiten."
<https://www.lopinion.fr/edition/politique/julien-denormandie-il-faut-remettre-souverainete-alimentaire-coeur-224872>
 Dieses Thema wurde von Reuters (Paris) weiterverfolgt: Frankreich unterstützt Nicht-GVO-Regelung für Gen-Editierung von Pflanzen in der EU. 18. Januar 2021.
<https://www.reuters.com/article/france-agriculture-gmo/france-backs-non-gmo-regulation-for-crop-gene-editing-in-eu-idINL8N2JT4A3>
- [16] Für jede unserer vier Ausschlusskategorien haben wir ein Beispiel für eine gleichwertige genetische Veränderung angeführt, die mit traditionellen Züchtungsmethoden erreicht werden kann. Einige traditionelle Züchtungsmethoden, die mit Genome-Editing-Technologien verglichen wurden, sind in SAM (2017) - S. 29-36 und 94-100, EFSA (2012a) - S. 13-18, EFSA (2012b) - S. 7-8, und EFSA (2020) - Anm. 7, S. 8, aufgeführt.

- [17] Die Begriffe "editiert" oder "bearbeitet" beziehen sich auf die Anwendung der neuen genomischen Techniken.
- [18] Der Begriff "natürlicher Genpool" bezieht sich auf den Genpool einer Pflanzenart, der definiert ist als alle Gene und Allele (d. h. verschiedene Versionen desselben Gens), die von Pflanzen stammen, die Gene durch sexuelle Kreuzung austauschen können, sowie von entfernt verwandten Pflanzenarten, mit denen Gene durch sexuelle Kreuzung mit Methoden der konventionellen Züchtung ausgetauscht werden können.
- [19] In der EU muss für Pflanzenarten, die unter die "Katalog"-Verordnung fallen, jede neue Sorte, die zum Inverkehrbringen angeboten wird, zunächst in mindestens einem Mitgliedstaat in den amtlichen Katalog der Arten und Sorten von Kulturpflanzen eingetragen werden. Die Gesamtheit der nationalen Kataloge bildet den Gemeinschaftskatalog. In Frankreich erfolgt die Eintragung in den amtlichen Katalog durch eine Verordnung des Landwirtschaftsministeriums auf Vorschlag des Ständigen Technischen Ausschusses für die Auswahl von Kulturpflanzen (CTPS). Der Wissenschaftliche Ausschuss des HCB in Frankreich erklärt: "In Frankreich ist für das Inverkehrbringen von Sortensaatgut eine Genehmigung erforderlich. Diese erfolgt durch die Eintragung in den amtlichen französischen Katalog, der den Benutzern Saatgut von einwandfreier und handelsüblicher Qualität garantieren soll. Nach der Erzeugung einer neuen Sorte muss diese einer Reihe von Prüfungen unterzogen werden, um festzustellen, ob sie die drei Anforderungen an die Unterscheidbarkeit, die Homogenität und die Beständigkeit (DUS) sowie die Anforderungen an den Wert für Anbau, Nutzung und Umwelt (VCUE) erfüllt. So umfasst die Bewertung des Anbaus bei einigen Arten die Ertrags- und Wachstumsmerkmale, während die Bewertung der Verwendung den Gehalt an Proteinen und Antinährstoffen und die Umweltbewertung die Resistenz gegen bestimmte Schädlinge zur Verringerung des Pestizideinsatzes und die Resistenz gegen abiotischen Stress zur Verringerung des Ressourcenverbrauchs (Wasser, Stickstoff, Phosphor usw.) umfassen kann. Die VCUE-Tests sind für jede Art spezifisch". Haut Conseil des Biotechnologies (2017), S. 57 (französische Fassung), S. 52 (englische Übersetzung).
- [20] 2016 kam der Wissenschaftliche Ausschuss des Haut Conseil des Biotechnologies zu dem Schluss: "In der Pflanzenzüchtung ist die Verwendung negativer Segregation zur Entfernung eines genetischen Veränderungsereignisses, gleich welchen Ursprungs (konventionelle Kreuzung, Transgenese, SDN-3, Cisgenese oder Intragenese, Agro-Infiltration usw.), ein Standardverfahren. Nach der molekularen Bestätigung, dass die Veränderung entfernt wurde, sollte die daraus resultierende Pflanze von der Risikobewertung ausgenommen werden und könnte als eine durch konventionelle Züchtung gewonnene Pflanze betrachtet werden." Haut Conseil des biotechnologies (2016) auf S. 13-14 (Französisch), S. 97 (Englisch).

Referenzen zu den obigen Anmerkungen

- EFSA (2012a) "Scientific opinion addressing the safety assessment of plants developed using Zing Finger Nuclease 3 and other Site-Directed Nucleases with similar function". EFSA Journal 2012;10(10):2943. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2943>.
- EFSA (2012b) "Scientific opinion addressing the safety assessment of plants developed through cisgenesis and intragenesis. EFSA Journal 2012;10(10):2561. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2561>.
- EFSA (2020) "Applicability of the EFSA Opinion on site-directed nucleases type 3 for the safety assessment of plants developed using site-directed nucleases type 1 and 2 and oligonucleotide directed mutagenesis". EFSA Journal 2020;18(11)/6299. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6299>
- EFSA (2022) "Draft updated opinion on plants developed through cisgenesis and intragenesis", (<https://connect.efsa.europa.eu/RM/s/publicconsultation2/a017U0000011Zb2/pc0176>)
- Haut Conseil des Biotechnologies (2016). Comité Scientifique, Note sur les « Nouvelles Techniques », Paris, le 19 janvier 2016, http://www.hautconseildesbiotechnologies.fr/fr/system/files/file_fields/2016/03/30/cs_1.pdf.
- Haut Conseil des Biotechnologies (2017). Comité Scientifique, Avis sur les Nouvelles Techniques d'Obtention de Plantes (New Plant Breeding Techniques -NPBT), Paris le 2 novembre 2017 (adopté par le CS le 26 avril 2016). <http://www.hautconseildesbiotechnologies.fr/fr/avis/avis-sur-nouvelles-techniques-dobtention-plantes-new-plant-breeding-techniques-npbt>
- http://www.hautconseildesbiotechnologies.fr/sites/www.hautconseildesbiotechnologies.fr/files/file_fields/2018/01/11/publicationtraductionanglaise-171201aviscsnpbtfinale.pdf
- SAM (2017) "New Techniques in Agriculture Biotechnology". <https://doi.org/10.2777/17902>

SAM (2018) “A Scientific Perspective on the Regulatory Status of Product Derived from Gene Editing and the Implications for the GMO Directive”. <https://doi.org/10.2777/407732>.

Van Der Meer *et al.*, The Status under EU Law of Organisms Developed through Novel Genomic Techniques, European Journal of Risk Regulation (2020), doi:10.1017/err.2020.105

Anhang 2

Beispiele für Pflanzen, die unter die ausgeschlossenen Kategorien fallen.

Diese Beispiele stammen aus der wissenschaftlichen Literatur, öffentlichen Datenbanken oder aus Zulassungsakten. Wir haben versucht, aus den verfügbaren öffentlichen Informationen den Ursprung der Modellallele zu ermitteln. Daher wird für jedes Beispiel, sofern verfügbar, in der ersten Referenz die bearbeitete Pflanze angegeben, und in den anderen Referenzen wird der wahrscheinliche Ursprung der Modellallele beschrieben. Mit Ausnahme der Pflanzen, die bereits in Nordamerika vermarktet werden, greifen diese Beispiele einer Regulation dieser genomeditierten Pflanzen und ihren kommerziellen Möglichkeiten nicht vor.

Methodik und angewandte Kriterien:

- Das Beispiel muss eine genomeditierte Pflanze beschreiben und sie gezüchtet wurde;
- Für die Beispiele der Kategorien 1 und 2 wird ein Modellallel in einer Pflanze identifiziert, die sexuell kompatibel (Kategorie 1) oder nicht sexuell kompatibel (Kategorie 2) ist;
- Für die Beispiele der Kategorie 3 werden Informationen über die angewandten Verfahren zur Gewinnung des editierten Gens geliefert, einschließlich der Ergebnisse in transgenen Pflanzen (z. B. RNAi-Experimente);
- Für Kategorie 4 werden Informationen über das eingefügte Gen geliefert;
- Bei den editierten Pflanzen haben wir versucht, die Originalveröffentlichung zu verwenden; bei den Modellallelen haben wir versucht, sie in den Veröffentlichungen zu finden, die von den „Erfindern“ der editierten Pflanze zitiert wurden.

Kategorie 1:

- Eine editierte, salztolerante Reispflanze nach Inaktivierung des Gens OsRR22 (bekanntes Allel). Zhang et al., 2019; Takagi et al., 2015.
- Eine Kartoffelpflanze, die durch Inaktivierung des Gens StGBSSI (bekanntes Allel) verändert wurde, was zu einer Anhäufung von Amylopektin (Wachsstärke) in der Knolle führt. Basierend auf der Verfügbarkeit von Kartoffelmutanten, die reich an Amylopektin sind, und auf dem Wissen über die Synthese von Amylopektin in Maniok, Mais und Weizen. Veillet et al., 2019; Hovenkamp-Hermelink et al., 1987.
- Eine Reispflanze, bei der der Promotor von drei Genen, die für Saccharose-Transporter, SWEET11, SWEET13 und SWEET14, kodieren, editiert wurde (Veränderung der Nukleotide), so dass sie nicht mehr empfindlich für den von *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* produzierten Transkriptionsfaktor sind. Es gibt Reismutanten für diese Gene; mehrere wurden mit dieser editierten Pflanze in Verbindung gebracht. Oliva et al., 2019; Zaka et al., 2018.
- Eine rosafarbene Tomatenpflanze nach Inaktivierung des SIMYB12-Gens (bekanntes Allel). Deng et al., 2018; Fernandez-Moreno et al., 2016.
- Eine Maispflanze, die gegenüber *Setosphaeria turcica* (*Helminthosporium turcicum*) tolerant ist, nachdem das empfindliche Allel des Gens NLB 18, das für eine Membrankinase kodiert und für die Interaktion mit dem Pilz verantwortlich ist, durch das resistente Allel ersetzt wurde, das in einem gegenüber diesem Pilz toleranten Mais identifiziert wurde (bekanntes Allel). Schmidt 2018; Hurni et al., 2015; Li & Wilson 2006.
- Eine Maispflanze, die nach Inaktivierung des Waxy-Gens (Wx1), das für die Granule Bound Starch Synthase (GBSS) kodiert (bekanntes Allel), nur Amylopektin im Samen anreichert. Basierend auf der Waxy-Mais-Mutante, die seit vielen Jahren vermarktet wird. Schmidt 2016.
- Eine Sojapflanze mit hohem Ölsäuregehalt nach Inaktivierung von zwei Fettsäure-Desaturase-Genen (FAD2-1A und FA D2-1B) (bekannte Allele). Haun et al., 2014; Pham et al., 2010.
- Zwei koreanische Tomatensorten BN-86, die entweder durch Inaktivierung des Gens SlPelo gegen Mehltau oder durch Inaktivierung des Gens SIMlo1 gegen das TYLC-Virus resistent gemacht wurden. Pramanik et al., 2021.

- Eine Japonica-Reissorte, bei der das NRT1.1B-Gen editiert wurde, um ein Elite-Allel einer Indica-Sorte zu reproduzieren, um die Stickstoffnutzungseffizienz zu verbessern. Li et al. (2018).
- Eine Gurkenpflanze, deren eIF4E-Gen inaktiviert wurde, die Immunität gegen eine Infektion mit dem Cucumber vein yellowing virus (Ipomovirus) und Resistenz gegen die Potyviren Zucchini yellow mosaic virus und Papaya ring spot mosaic virus-W. Chandrasekaran, J., et al. 2016.

Kategorie 2:

- Eine Tomatenpflanze, deren Gen SIJAZ2, Ortholog des Gens AtJAZ2 von Arabidopsis, bearbeitet wurde (Veränderung der Nukleotidsequenz), um die dominante Mutantenversion von Arabidopsis zu reproduzieren (Fehlen des C-terminalen - jas-Motivs), um die Resistenz gegen die Bakterienfleckenkrankheit (*Pseudomonas syringae* pv. tomato (Pto) DC3000) zu erhalten. Dieser modifizierte Rezeptor, SIJAZ2Δjas, bindet das von den Bakterien synthetisierte Coronatin nicht mehr, so dass sich die Spaltöffnungen nicht öffnen. Ortigosa et al., 2019; Gimenez-Ibanez et al., 2017.
- Eine bearbeitete Rebsorte, bei der (i) das Mlo-Gen unterdrückt wurde, um eine Resistenz gegen Echten Mehltau zu erreichen, und (ii) das VvDMR6-Gen unterdrückt wurde, basierend auf dem Wissen über die Unterdrückung des analogen Gens in Arabidopsis thaliana, was zu einer Resistenz gegen Falschen Mehltau führt. Giacomelli et al., 2019; van Damme et al., 2008.
- Eine Maniokpflanze, die gegen das Potyvirus [Cassava brown streak disease (CBSD)] resistent ist, wurde durch Editing (Veränderung der Nukleotidsequenz) des Gens, das für den Translationsinitiationsfaktor eIF4E kodiert, erhalten. Viele Isoformen dieses Faktors, die Potyvirus-Resistenz verleihen, sind in vielen Pflanzen bekannt: Chili, Tomate, Erbse, Arabidopsis-Mutanten. Gomez et al. (2019); Bastet et al. (2019).
- Eine editierte Weizenpflanze, in der die drei Gene, die dem Mehltaresistenz-Locus (Mlo) entsprechen, genannt TaMlo-A1, TaMlo-B1 und TaMlo-D1, die sich auf den Chromosomen 5AL, 4BL und 4DL befinden, gleichzeitig inaktiviert werden, um einen Phänotyp zu reproduzieren, der gegen Mehltau resistent ist, basierend auf der Kenntnis von Mlo-Allelen, die natürlicherweise in Gerste vorkommen. Wang et al., 2014; Büschges et al., 1997.
- Eine Baumwollpflanze, in der die Gene GhFAD2-1A und GhFAD2-1D, Homologe des FAD2-Gens in Arabidopsis, inaktiviert wurden, um den Ölsäuregehalt deutlich zu erhöhen. Chen, Y., et al. (2020).
- Eine Weizenpflanze, bei der das Tamlo-R32-Gen durch eine gezielte Deletion von 304k bp im MLO-B1-Locus eine Resistenz gegen Mehltau ohne Wachstums- oder Ertragsseinbußen ermöglicht. Li S. et al., 2022.

Kategorie 3:

- Eine Tomatenpflanze, bei der das SIGAD3-Gen inaktiviert wurde, um einen drei- bis fünfmal höheren Gehalt an γ -Aminobuttersäure (GABA) zu erhalten, die bei der Prävention von Zivilisationskrankheiten (Bluthochdruck, Diabetes) nützlich ist. Obwohl das SIGAD3-Gen seit 2008 in der Tomate identifiziert wurde, wurde seine Rolle bei der Bioakkumulation von GABA in Tomatenfrüchten in transgenen Experimenten entdeckt (Nonaka et al., 2017; Lee, 2018).
- Eine Apfelsorte, bei der das MdDIPM4-Gen (ein Kinase-Rezeptor) durch Editing inaktiviert wurde, um Resistenz gegen Schorf (*Erwinia amylovora*) zu erhalten. In Analogie zu Arabidopsis-Mutanten und Studien zur Interaktion des Rezeptors mit dem Effektor des Bakteriums (DspA / E) wurde eine Sequenz von MdDIPM4 im Apfeln gelöscht. Pompili et al., 2019 ; Degrave et al., 2013 ; Borejsza-Wysocka et al., 2004.
- Eine Petunienpflanze mit verlängerter Blütezeit durch Inaktivierung des Gens Ph ACO1, das für eine 1-Aminocyclopropan-1-Carboxylat-Oxidase kodiert, die an der Produktion von Ethylen beteiligt ist (reduzierte Menge in der bearbeiteten Pflanze). In Analogie zu den Ergebnissen, die durch die Expression von Antisense in Petunien erzielt wurden. Xu et al., 2019; Huang et al., 2007.
- Eine Hartweizenpflanze, die editiert wurde, um bis zu 35 der 45 α -Gliadin-Gene (bekannte Allele) auf drei Chromosomen zu inaktivieren, was zu einer Verringerung der Produktion von α -Gliadinen und einem Rückgang der Immunreaktivität um 85 % führt. Sanchez Leon et al. (2018).
- Eine Tomatenpflanze, bei der der Promotor des SICLV3-Allels (neues Allel) editiert wurde, um die Fruchtgröße zu erhöhen. Rodriguez-Leal et al., 2017.
- Bei mehreren Zitrusarten wurde der Promotor des CsLOB1-Gens (LATERAL ORGAN BOUNDARIES 1) durch Deletion der Sequenz EBEPthA4 (die den von den Bakterien produzierten Effektor fixiert) editiert, was eine

Resistenz gegen Zitruskrebs [*Xanthomonas citri* subsp. *citri* (Xcc)] verleiht. Basierend auf dem Wissen über die Wechselwirkungen zwischen dem Promotor und dem Effektor des Bakteriums und auf ähnlichen Arbeiten zu Reis. Jia et al., 2016a (Grapefruitbaum); Jia et al., 2016b (Zitronenbaum); Peng et al., 2017 (Orangenbaum). Damit diese bearbeiteten Pflanzen von der Ausnahmeregelung dieser Kategorie 3 profitieren können, muss die für die Bearbeitung verwendete rekombinante DNA entfernt werden (Null-Segreganten).

- Eine Maissorte, bei der der Promotor des ARGOS8-Gens durch den Promotor des Mais-GOS2-Gens ersetzt wurde, was zu einer konstitutiven Expression von ARGOS8 führt und den Ertrag unter Trockenstressbedingungen verbessert. Frühere Freilandversuche mit transgenen Pflanzen, die das ARGOS8-Gen überexprimieren, hatten eine Ertragssteigerung unter Trockenstressbedingungen gezeigt, ohne dass es zu Ertragsverlusten in stressfreien Umgebungen kam. Shi et al. (2017).

Kategorie 4:

Wir konnten nur Pflanzen finden, in die ein oder mehrere Cisgene nach dem Zufallsprinzip eingefügt wurden. Es konnten keine Pflanzen gefunden werden, die die Kriterien für diese Kategorie erfüllten. In den vier folgenden Beispielen wurden die Cisgene durch Transgenese in die Pflanzen eingeführt.

- Eine Kartoffelpflanze, in die mit Hilfe von *Agrobacterium tumefaciens* mehrere Mehlauresistenzgene eingeführt wurden, die ausschließlich bei wilden Kartoffelarten identifiziert wurden, ausgewählt nach den Kriterien, dass (i) alle R-Gene exprimiert werden und (ii) die Übereinstimmung mit dem Sortentyp erhalten bleibt. Haverkort et al., 2016. Jo et al. (2014).
- Eine Apfelsorte, die durch Einfügen des Cisgens FB_MR5 aus der Wildsorte *Malus × robusta* 5 (Mr5) in Chromosom 16 schorfresistent gemacht wurde. Kost et al. (2015).
- Eine Gerstensorte mit höherem Ertrag und besserer Stickstoffnutzungseffizienz nach der Insertion einer zusätzlichen Kopie des nativen Gens HvGS1-1. Gao et al. (2019).
- Eine cisgene Gerstensorte, die nach der Insertion von einer bis sechs Kopien des Gens HvPAPhy_a eine erhöhte Phytaseaktivität aufweist. Holme et al. (2020).

Beispiele für editierte Pflanzen mit Allelen in verschiedenen Kategorien:

Wie bereits in dieser Erläuterung erwähnt, kann ein und dieselbe bearbeitete Pflanze Allele enthalten, die verschiedenen Kategorien entsprechen. Im Folgenden werden zwei Beispiele vorgestellt.

- Eine Tomatenpflanze, die durch Inaktivierung (1) des SIER-Gens (das die Länge des Tomatenstängels reguliert), (2) des SP5G-Gens (das mit schneller Blüte verbunden ist) und (3) des SP-Gens (das mit frühem Wachstumsabbruch verbunden ist) editiert wurde, wobei alle drei Gene bekannte Mutationsallele haben, um sie kompakt und früh ertragreich zu machen, geeignet für die städtische Landwirtschaft. Diese Pflanze enthält editierte Gene, die für die Allele der Gene SIER und SP der Kategorie 1 und für das Allel des Gens SP5G der Kategorie 3 entsprechen. Kwon et al. 2019; Xu et al., 2015; Soyk et al., 2017, und Menda et al., 2004.
- Eine bearbeitete Maniokpflanze, die nach Inaktivierung des PTST1-Gens, das für das Protein Targeting to Starch kodiert, und des GBSS1-Gens, das für die Granule Bound Starch Synthase kodiert, Amylopektin (Wachsstärke) anstelle von Amylose anhäuft. Basierend auf der Verfügbarkeit von Maniokmutanten, die reich an Amylopektin sind, und dem Wissen über die Synthese von Amylopektin in Kartoffeln, Mais und Weizen. Diese Pflanze enthält zwei editierte Gene, wobei das Allel des GBSS1-Gens der Kategorie 1 und das Allel des PTST1-Gens der Kategorie 3 entspricht. Bull et al., 2018; Morante et al., 2016

Referenzen für die obigen Beispiele:

Bastet *et al.* 2019. Mimicking natural polymorphism in eIF4E by CRISPR-Cas9 base editing is associated with resistance to potyviruses. *Plant Biotechnology Journal* **17**: 1736–1750- doi: 10.1111/pbi.13096

Borejsza-Wysocka *et al.*, 2004. Silencing of apple proteins that interact with DspE, a pathogenicity effector from *Erwinia amylovora*, as a strategy to increase resistance to fire blight. *Acta Horticulturae* **663**: 469–474 - doi:10.17660/ActaHortic.2004.663.81

Bull *et al.*, 2018. Accelerated *ex situ* breeding of GBSS- and PTST1-edited cassava for modified starch. *Science Advances* **4**: eaat6086 - doi.org/10.1126/sciadv.aat6086

Büschges, R. *et al.*, 1997. The barley Mlo gene: A novel control element of plant pathogen resistance. *Cell* **88**: 695–705.

Chandrasekaran, J., *et al.*, 2016. Development of broad virus resistance in non-transgenic cucumber using CRISPR/Cas9 technology. *Molecular Plant Pathology*, **17**: 1140-1153

Chen, Y., *et al.*, 2020. High-oleic acid content, nontransgenic allotetraploid cotton (*Gossypium hirsutum* L.) generated by knockout of GhFAD2 genes with CRISPR/Cas9 system. *Plant Biotechnology Journal*, **19**: 424-426.

Degrave *et al.*, 2013. The bacterial effector DspA/E is toxic in *Arabidopsis thaliana* and is required for multiplication and survival of fire blight pathogen. *Molecular Plant Pathology* **14**: 506–517 - DOI: 10.1111/mpp.12022.

Deng *et al.*, 2018. Efficient generation of pink-fruited tomatoes using CRISPR/Cas9 system. *Journal of Genetics and Genomics* **45**: 51-54 - doi.org/10.1016/j.jgg.2017.10.002.

Fernandez-Moreno *et al.* 2016. Characterization of a new pink-fruited tomato mutant results in the identification of a null allele of the SIMYB12. *Plant Physiology* **171**: 1821-1826.

Gao, *et al.*, 2019. Cisgenic overexpression of cytosolic glutamine synthetase improves nitrogen utilization efficiency in barley and prevents grain protein decline under elevated CO₂. *Plant Biotechnology Journal*, **17**: 1209-1221

Giacomelli *et al.*, 2019. Generation of mildew-resistant grapevine clones via genome editing, ISHS Acta Horticulturae 1248: XII International Conference on Grapevine Breeding and Genetics - DOI: 10.17660/Acta-Hortic.2019.1248.28.

Jimenez-Ibanez *et al.*, 2017. JAZ2 controls stomata dynamics during bacterial invasion. *New Phytologist* **213**: 1378–1392 - doi: 10.1111/nph.14354.

Gomez *et al.*, 2019. Simultaneous CRISPR/Cas9-mediated editing of cassava *EIF4E* isoforms *nCBP-1* and *nCBP-2* reduces cassava brown streak disease symptom severity and incidence. *Plant Biotechnology Journal* **17**: 421–434 - doi: 10.1111/pbi.1298.

Haun *et al.*, 2014. Improved soybean oil quality by targeted mutagenesis of the fatty acid desaturase 2 gene family. *Plant Biotechnology Journal* **12**: 934–940 - doi: 10.1111/pbi.12201.

Haverkort *et al.*, 2016. Durable Late Blight Resistance in Potato Through Dynamic Varieties Obtained by Cisgenesis: Scientific and Societal Advances in the DuRPh Project. *Potato Research* - DOI 10.1007/s11540-015-9312-6.

Holme *et al.*, 2020. Horizontal Stacking of *PAPhy_a* Cisgenes in Barley Is a Potent Strategy for Increasing Mature Grain Phytase Activity. *Frontiers in Plant Science* - doi: 10.3389/fpls.2020.592139.

Hovenkamp-Hermelink *et al.*, 1987. Isolation of an amylose-free starch mutant of the potato (*Solanum tuberosum* L.). *Theoretical Applied Genetics* **75**: 217–221 - <https://doi.org/10.1007/bf00249167>.

Huang *et al.*, 2007. Delayed flower senescence of *Petunia hybrida* plants transformed with antisense broccoli ACC synthase and ACC oxidase genes. *Postharvest Biol. Technol.* **46**: 47–53.

Hurni *et al.*, 2015. The maize disease resistance gene Htn1 against northern corn leaf blight encodes a wall associated receptor-like kinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **112**: 8780-8785 - doi/10.1073/pnas.1502522112.

Jia *et al.*, 2016a. Modification of the PthA4 effector binding elements in Type I CsLOB1 promoter using Cas9/sgRNA to produce transgenic Duncan grapefruit alleviating XccDpthA4:dCsLOB1.3 infection. *Plant Biotechnol. J.* **14**, 1291–1301.

Jia *et al.*, 2016b. Genome editing of the disease susceptibility gene CsLOB1 in citrus confers resistance to citrus canker. *Plant Biotechnol. J.*, doi.org/10.1111/pbi.12677.

Jo *et al.*, 2014. Development of late blight resistant potatoes by cisgene stacking. *BMC Biotechnology* - www.biomedcentral.com/1472-6750/14/50.

Kwon *et al.*, 2019. Rapid customization of Solanaceae fruits crops for urban agriculture. *Nature Biotechnology* - doi.org/10.1038/s41587-019-0361-2.

Kost *et al.*, 2015. Development of the first cisgenic apple with Increased Resistance to Fire Blight. *PLoS ONE*, **10**, e0143980 - DOI:10.1371/journal.pone.0143980.

Lee, Jeongeun, Utilization of High GABA Tomato via CRISPR/Cas9 for Hybrid Breeding, A Dissertation Submitted to the Graduate School of Life and Environmental Sciences, the University of Tsukuba in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Doctor of Philosophy in Agricultural Science (Doctoral Program in Biosphere Resource Science and Technology), February 2018, https://tsukuba.repo.nii.ac.jp/?action=repository_uri&item_id=48214&file_id=17&file_no=1

Li & Wilson, 2006. Composition and methods for enhancing resistance to northern leaf blight in maize. World Intellectual Property Organization, Application No. PCT/US2011/041822.

Li J. *et al.*, 2018. Efficient allelic replacement in rice by gene editing: A case study of the NRT1.1B gene. *Journal of Integrative Plant Biology*, **60**: 536-540.

Li S. *et al.*, 2022. Genome-edited powdery mildew resistance in wheat without growth penalties. *Nature*, **602**: 455-460.

Menda *et al.*, 2004. In silico screening of a saturated mutation library of tomato. *Plant Journal* **38**: 861–872.

Morante *et al.*, 2016. Discovery of new spontaneous sources of amylose-free cassava starch and analysis of their structure and techno-functional properties. *Food Colloids* **56**: 303-395 - doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.12.025.

Nonaka *et al.*, 2017. Efficient increase of γ -aminobutyric acid (GABA) content in tomato fruits by targeted mutagenesis. *Scientific Reports* 7 - DOI:10.1038/s41598-017-06400-y

Oliva *et al.*, 2019. Broad-spectrum resistance to bacterial blight in rice using genome editing. *Nature Biotechnology* **37**: 1344-1350.

Ortigosa *et al.*, 2019. Design of a bacterial speck resistant tomato by CRISPR/Cas9-mediated editing of SIJAZ2. *Plant Biotechnology Journal* **17**: 665–673 - doi: 10.1111/pbi.13006.

Peng *et al.*, 2017. Engineering canker-resistant plants through CRISPR/Cas9-targeted editing of the susceptibility gene CsLOB1 promoter in citrus, *Plant Biotechnology Journal* **15**: 1509–1519 - doi: 10.1111/pbi.12733.

Pham *et al.*, 2010. Mutant alleles of *FAD2-1A* and *FAD-1B* combine to produce soybeans with the high oleic acid seed oil trait. *BMC Plant Biology* **10**: 195-206 - biomedcentral.com/1471-2229/10/195.

Pompili *et al.*, 2019. Reduced fire blight susceptibility in apple cultivars using a high-efficiency CRISPR/Cas9-FLP/FRT-based gene editing system. *Plant Biotechnology Journal* - doi: 10.1111/pbi.13253.

Pramanik *et al.*, 2021. CRISPR/Cas9-Mediated Generation of Pathogen-Resistant Tomato against Tomato Yellow Leaf Curl Virus and Powdery Mildew. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22 : -doi.org/10.3390/ijms22041878.

Rodriguez-Leal *et al.*, 2017. Engineering Quantitative Trait Variation for Crop Improvement by Genome Editing, *Cell* 171, 470–480, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2017.08.030>.

[Sanchez Leon *et al.*, 2018. Low-gluten, non-transgenic wheat engineered with CRISPR-Cas9. *Plant Biotechnology Journal* **16**: 902–910 - doi: 10.1111/pbi.12837.](#)

Schmidt 2016. Corn with high content of amylopectin developed by CRISPR/Cas technology. 15-352-01_air_inquiry_cbidel Pioneer. https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/biotechnology/am-i-regulated/regulated_article_letters_of_inquiry/regulated_article_letters_of_inquiry.

Schmidt 2018. Corn with Improved Resistance to Northern Leaf Blight developed by CRISPR-Cas technology. 17-076-018_air_inquiry_a1_cbidel revised Pioneer, https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/biotechnology/am-i-regulated/regulated_article_letters_of_inquiry/regulated_article_letters_of_inquiry.

Shi *et al.*, 2017. ARGOS8 variants generated by CRISPR-Cas9 improve maize grain yield under field drought stress conditions. *Plant Biotechnology Journal* - doi: <https://doi.org/10.1111/pbi.12603>.

Soyk *et al.*, 2017. Variation in the flowering gene *SELF PRUNING 5G* promotes day-neutrality and early yield in tomato. *Nature Genetics* **49**: 162–168.

Takagi *et al.*, 2015. MutMap accelerates breeding of a salt-tolerant rice cultivar. *Nature Biotechnology* **33**: 445–449.

van Damme *et al.*, 2008. Arabidopsis DMR6 encodes a putative 2OG-Fe(II) oxygenase that is defense-associated but required for susceptibility to downy mildew. *The Plant Journal* **54**:785-793 -. doi: 10.1111/j.1365-313X.2008.03427.x.

Veillet *et al.*, 2019. The *Solanum tuberosum* GBSSI gene: a target for assessing gene and base editing in tetraploid potato, *Plant Cell Reports* **38**:1065–1080, <https://doi.org/10.1007/s00299-019-02426-w>

Wang *et al.*, 2014. Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew. *Nature Biotechnology* **32**: 947-952 - doi:10.1038/nbt.2969.

Xu *et al.*, 2020. CRISPR/Cas9-mediated editing of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase1 enhances Petunia flower longevity. *Plant Biotechnology Journal* **18**: 287-297 - doi: 10.1111/pbi.13197.

Xu *et al.*, 2015. A cascade of arabinosyltransferases controls shoot meristem size in tomato. *Nature Genet.* **47**, 784–792.

Zaka *et al.*, 2018. Natural variations in the promoter of OsSWEET13 and OsSWEET14 expand the range of resistance against *Xanthomonas oryzae* pv. PLoS ONE 13(9): e0203711 - doi.org/10.1371/journal.pone.0203711.

Zhang *et al.*, 2019. Enhanced rice salinity tolerance via CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis of the OsRR22 gene. Mol Breeding **39**: 47-56 - doi.org/10.1007/s11032-019-0954-y.

A few published reviews - For additional information on the production of plants by genome editing:

- Cao Y. *et al.*, 2020. Control of Plant Viruses by CRISPR/Cas System-Mediated Adaptive Immunity. Frontiers in Microbiology - doi: 10.3389/fmicb.2020.593700.
- Chen *et al.*, 2019. CRISPR/Cas genome editing and precision plant breeding in Agriculture. Annual Review of Plant Biology **70**: 28.1-28.31 – doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100049.
- Jaganathan *et al.*, 2018. CRISPR for crop improvement. An update review. Frontiers in Plant Science - doi:10.3389/fpls.2018.00985
- Metje *et al.*, 2020. Genome edited plants in the field. Current Opinion in Biotechnology **61**: 1-6 - doi.org/10.1016/j.copbio.2019.08.007.
- Modrzejewski *et al.*, 2019. Environmental Evidence - What is available evidence for the range of application of genome-editing as a new tool? Environmental Evidence 8- <https://doi.org/10.1186/s13750-019-0171-5>.
- Parsaeimehr *et al.*, 2022. CRISPR-Cas technology a new era in genomic engineering. Plant Physiology – doi.org/10.1093/plphys/kiac032
- Sharma *et al.*, 2019. Recent advances in developing disease resistance in plants, F1000Research, 8(F1000 Faculty Rev):1934 Last updated: 19 NOV 2019, doi.org/10.12688/f1000research.20179.1.
- Soda *et al.*, 2018. CRISPR-Cas9 based plant genome editing: significance, opportunities and recent advances. Plant Physiology and Biochemistry **131**: 2-11 – dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.10.024.
- Tabassum *et al.*, 2021. Applications and potential of genome-editing systems in rice improvement: Current and future perspectives. Agronomy – doi.org/10.3390/agronomy11071359.
- Zhang *et al.*, 2018. Applications and potential of genome editing in crop improvement. Genome Biology 19: 210-XXX – doi.org/10.1186/s13059-018-1586-y.

Datenbanken:

Datenbanken zur Beschreibung für editierte Pflanzen wie zum Beispiel:

- The EU-SAGE data base for genome-edited plants: <https://www.eu-sage.eu/genome-search>;
- The data bases put in place by USDA (Animal and Plant Health Inspection Service): https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/biotechnology/am-i-regulated/regulated_article_letters_of_inquiry/regulated_article_letters_of_inquiry, <https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/biotechnology/permits-notifications-petitions/confirmations/responses/cr-table>
- The Health Canada data base: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/genetically-modified-foods-other-novel-foods/transparency-initiative.html>