

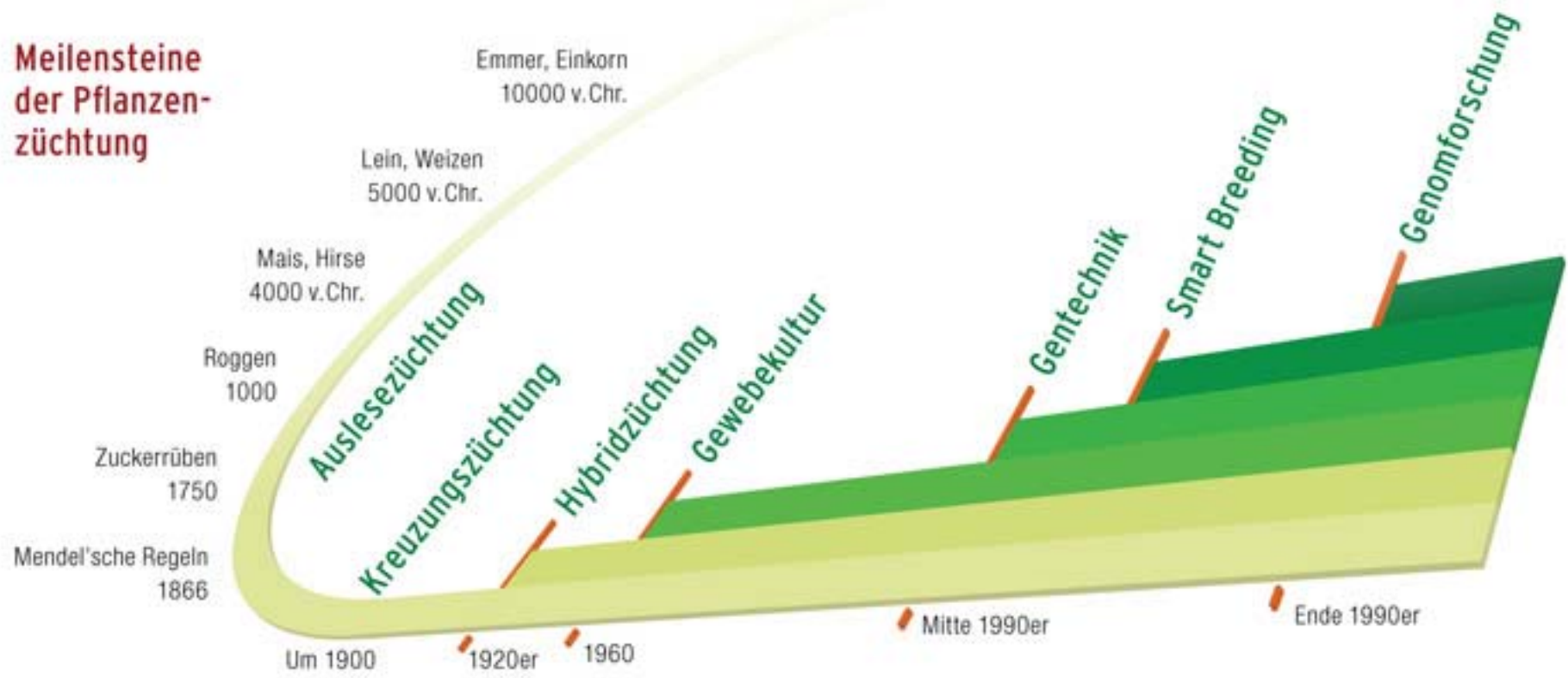


# Übersicht neuer Techniken in der Pflanzenzüchtung

Monika Messmer, Pflanzenzüchtung, [monika.messmer@fibl.org](mailto:monika.messmer@fibl.org)

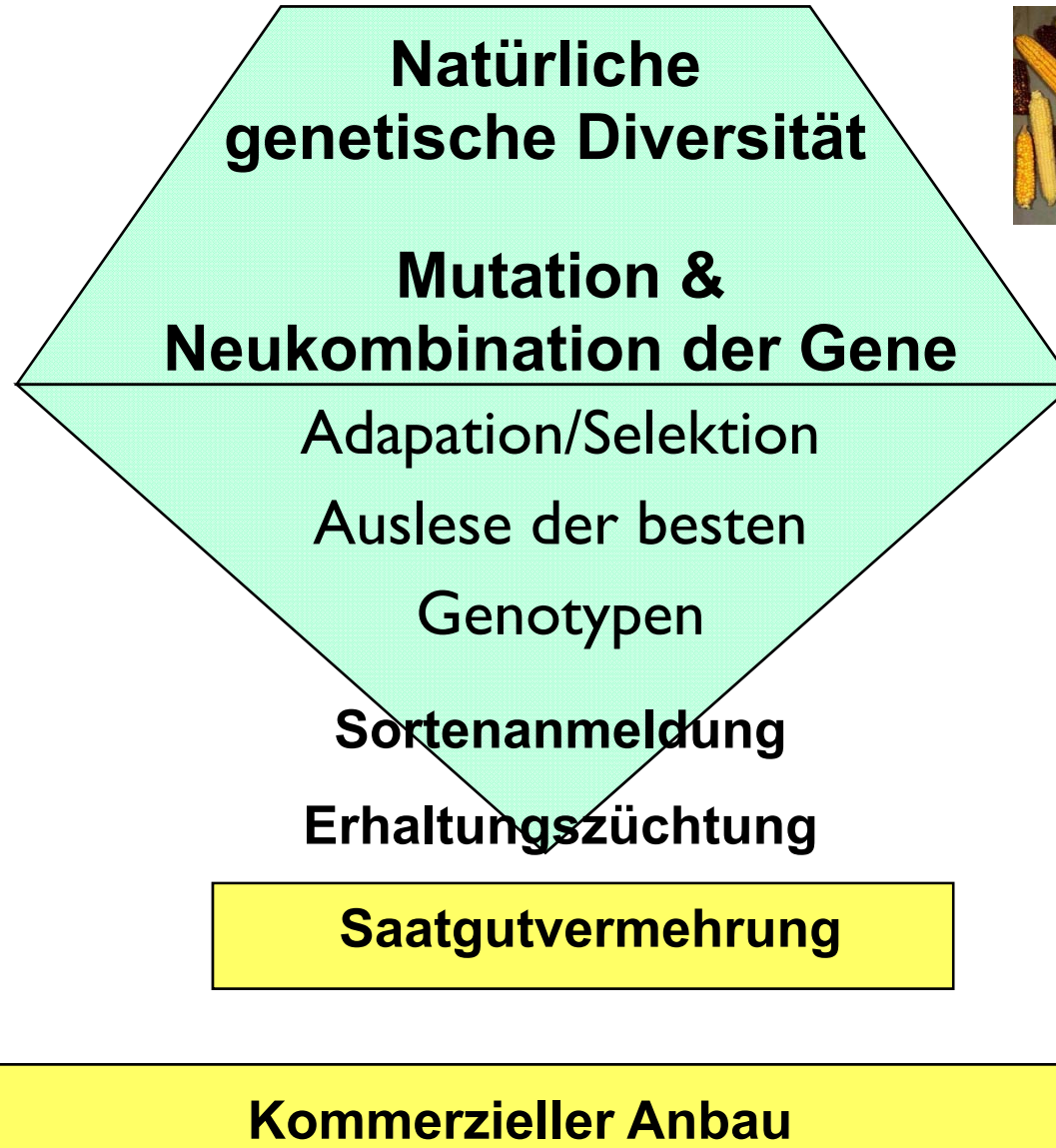
Öko-Gemüsebau Seminar in Bad Boll am 30.01.2018

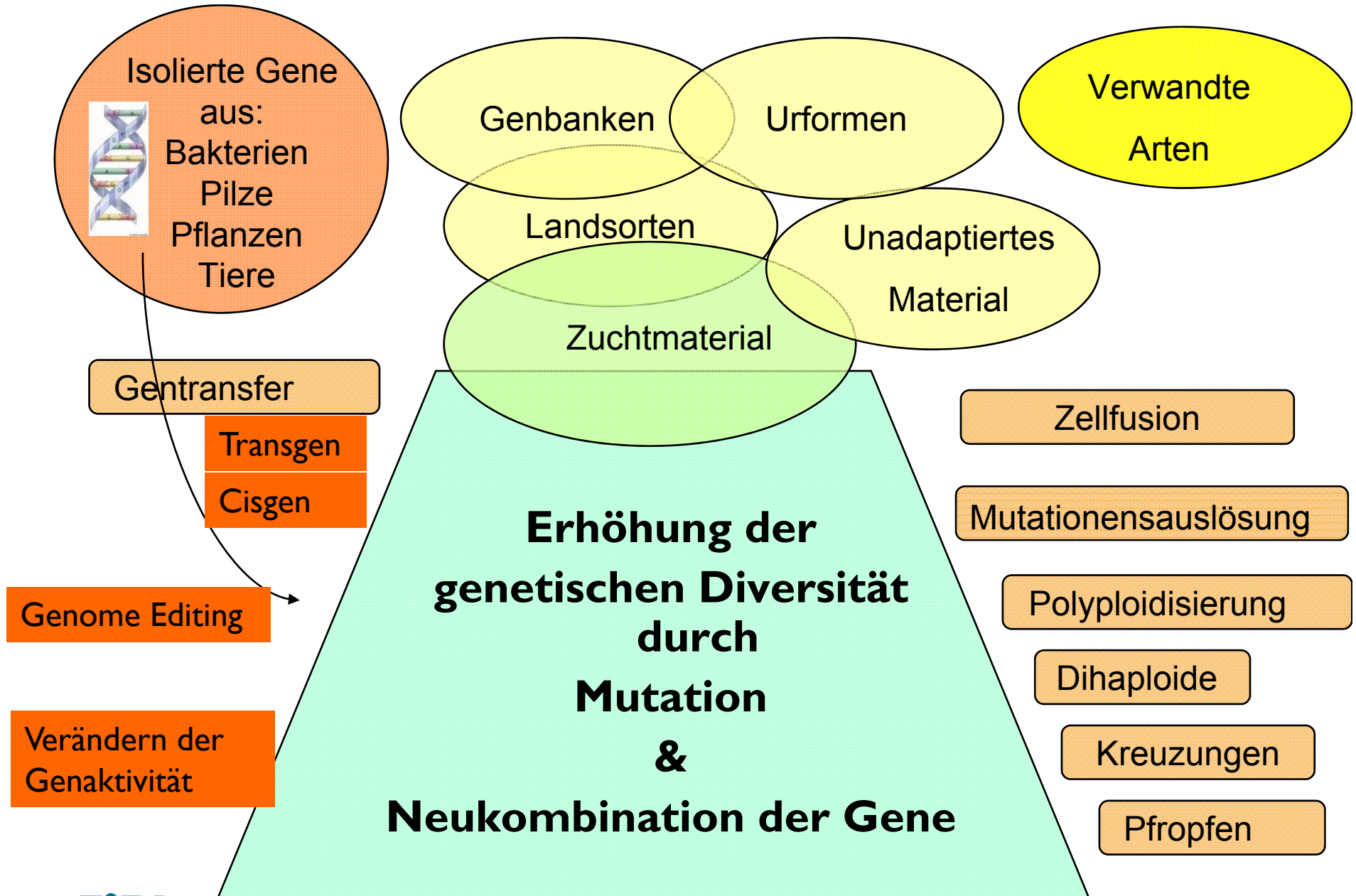
# Meilensteine der Pflanzenzüchtung



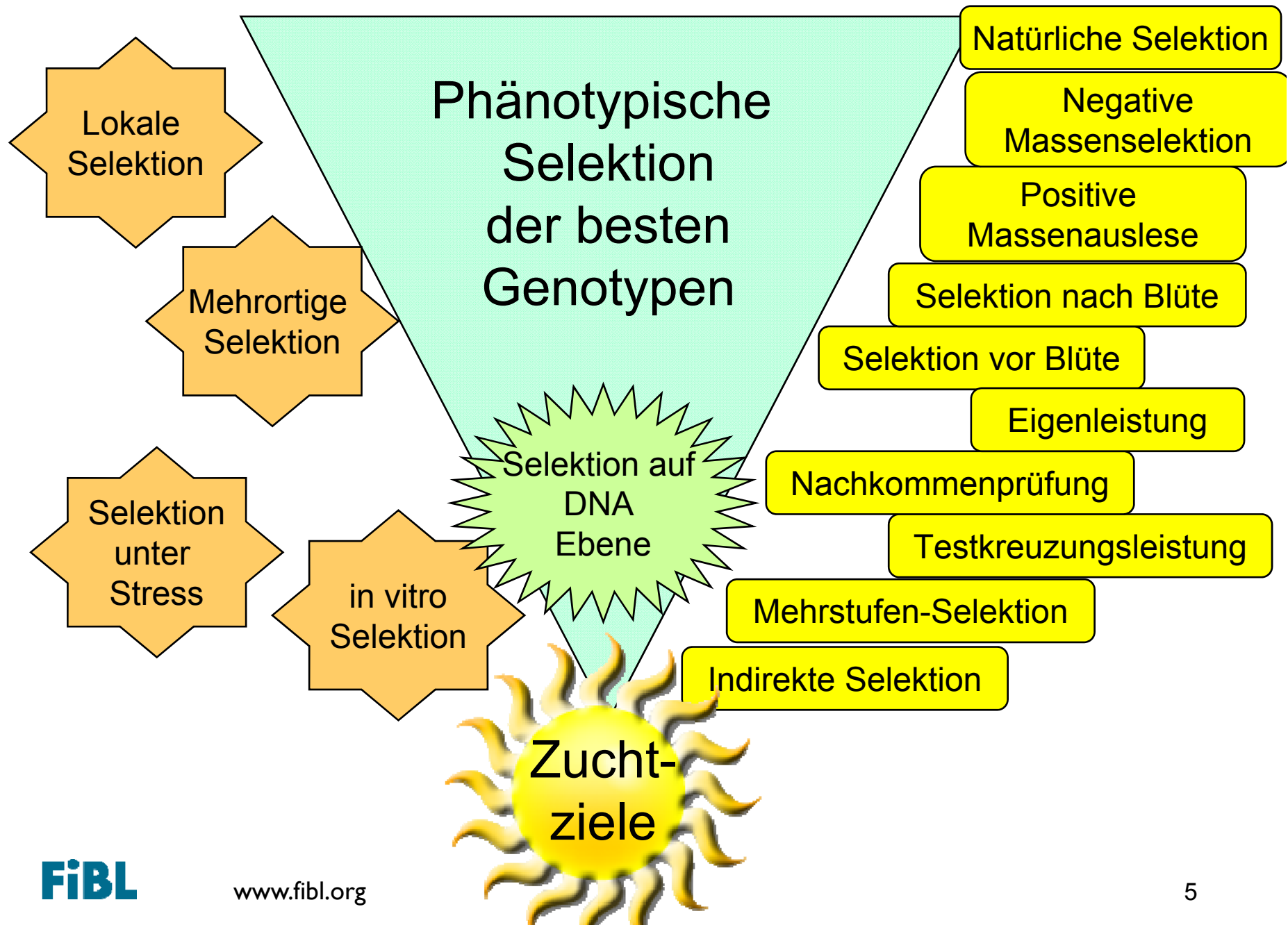
<http://www.die-pflanzenzuechter.de/innovation.html>

# Abläufe der Pflanzenzüchtung





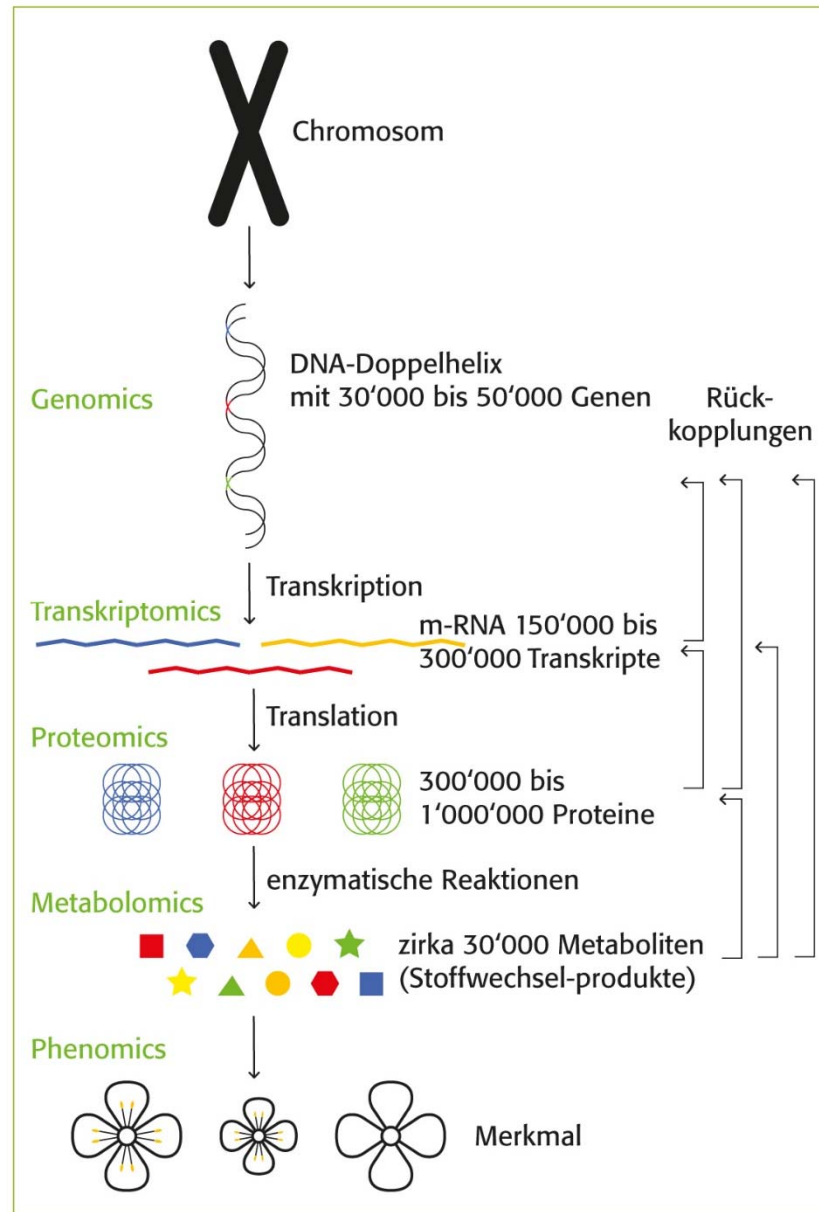




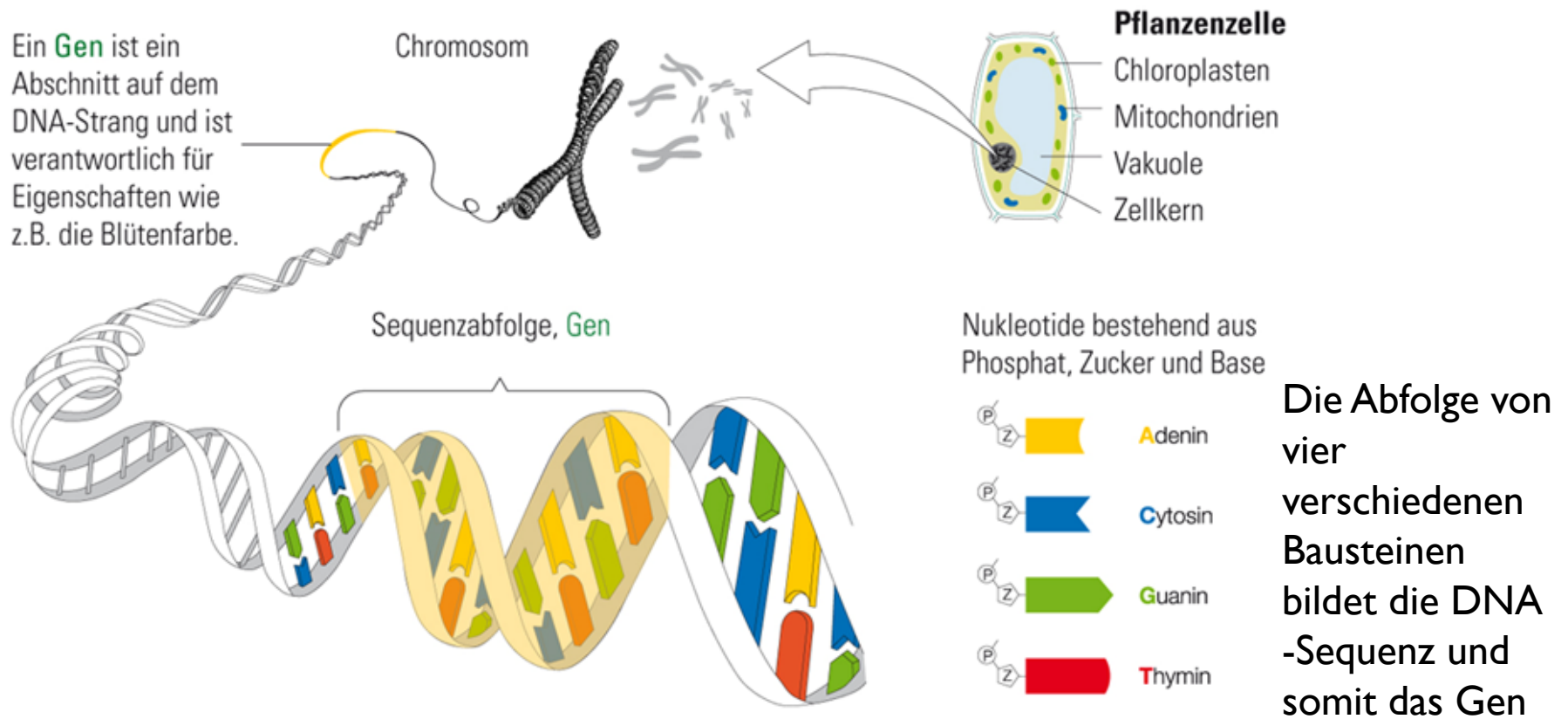
# Vereinfachte Darstellung vom Chromosom zum Merkmal

## Änderung möglich von:

- Chromosomenzahl
- Chromosomenstruktur
- Gensequenz (DNA)
- Genregulierung (Ablese eines Gens DNA → RNA)
- Übertragung von RNA zum Protein



# Entschlüsselung der Erbinformation



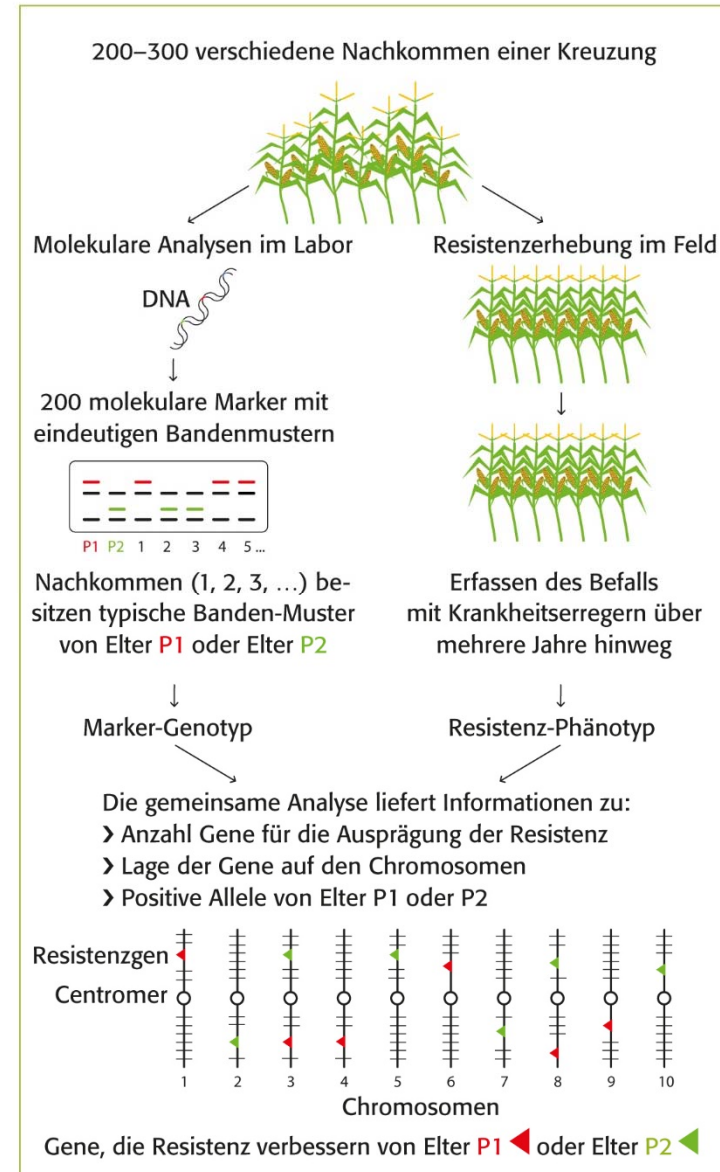
<http://www.komm-ins-beet.mpg.de/wissenswertes/vererbung/unser-erbgut>

# Molekulare Methoden in der Diagnostik

## Marker gestützte Selektion:

- DNA Fingerabdruck wird korreliert mit gewünschtem Merkmal
- Lokalisierung der Gene auf dem Chromosom
- Selektion der Nachkommen mittels DNA Diagnostik ohne direkten technischen Eingriff in das Erbgut (analog zu Vaterschaftstests)

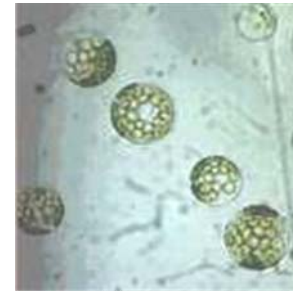
→ **Einsatz für die Selektion nicht zur Erzeugung neuer genetischer Varianz**





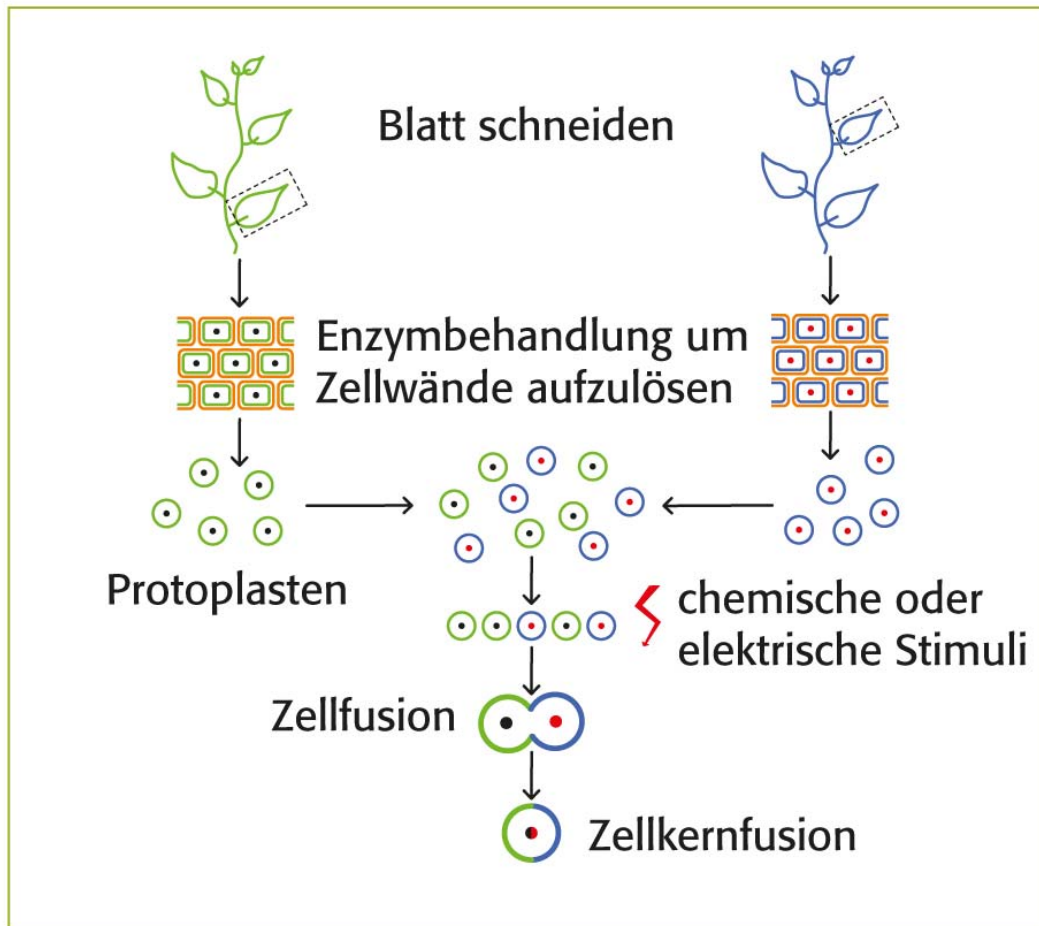
# Zellfusionen

## Protoplastenfusion



**Protoplast**

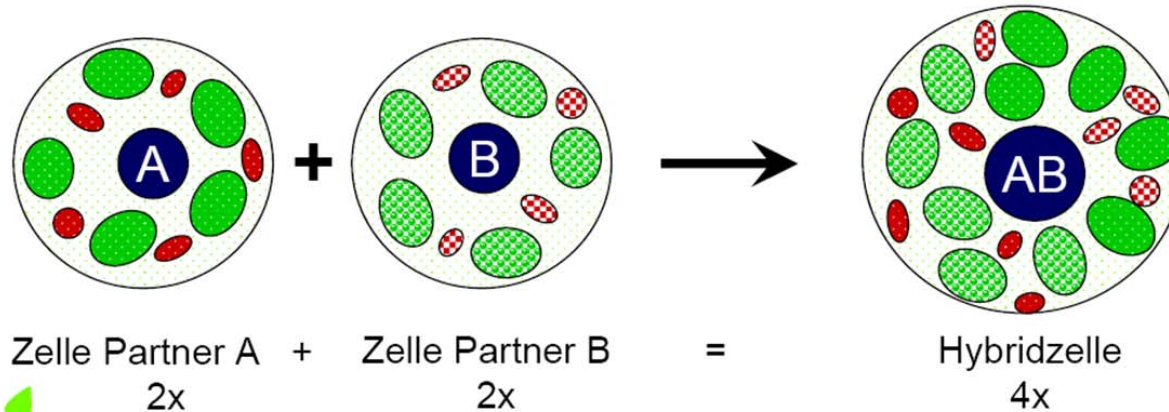
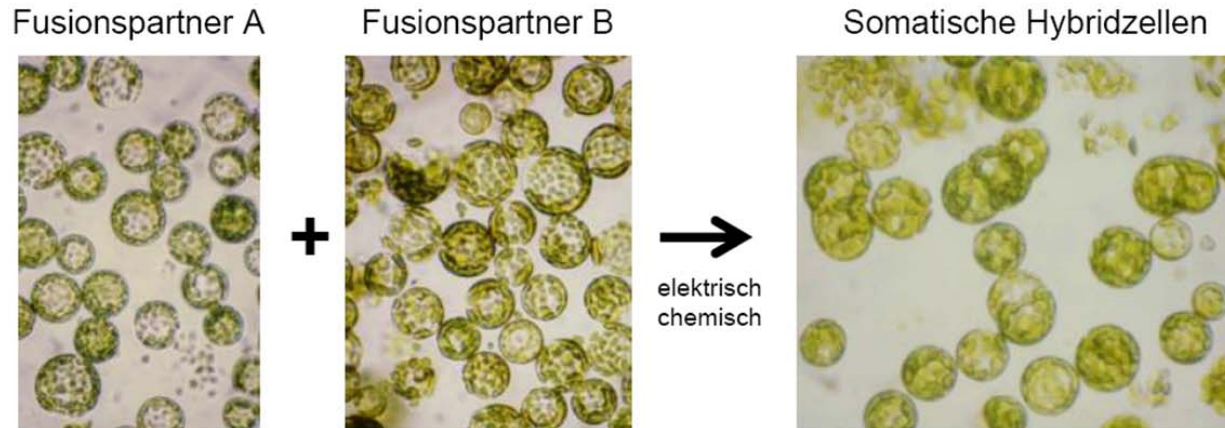
Zelle ohne Zellwand



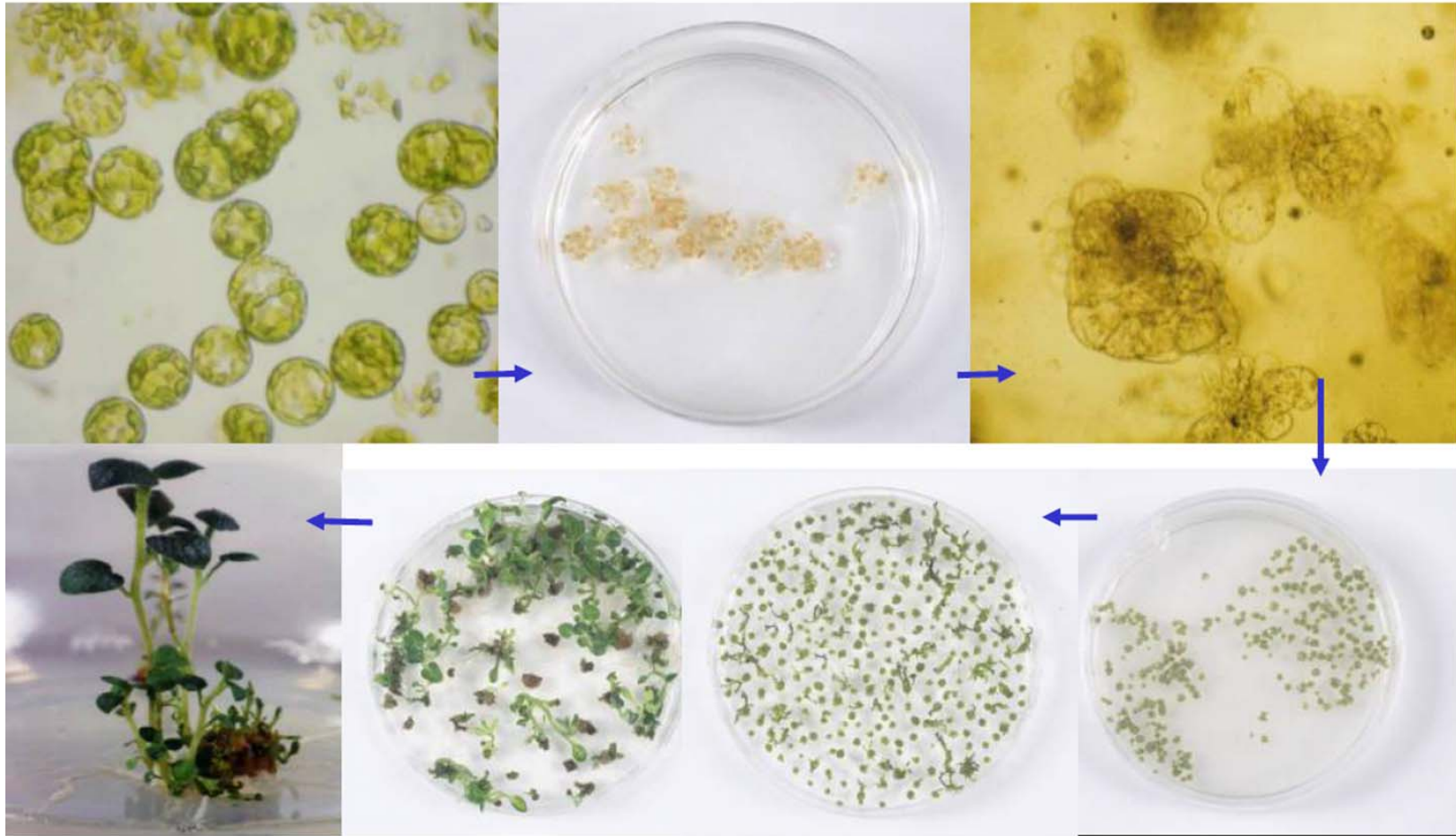
Diploide Zellen werden aus Gewebe isoliert und als Protoplasten in flüssiger Lösung zum Verschmelzen gebracht. Dadurch wird der Zellkern und das Cytoplasma von zwei Pflanzen addiert. Eine Verschmelzung von Zellen geschieht normalerweise nur bei Befruchtung einer haploiden Eizelle mit einem haploiden Pollen

# Protoplastenfusion bei der Kartoffel zum Kombinieren von Resistenzgenen

## Protoplastenfusion – Addition von Genomen



# Protoplastenfusion bei der Kartoffel zum Kombinieren von Resistenzgenen

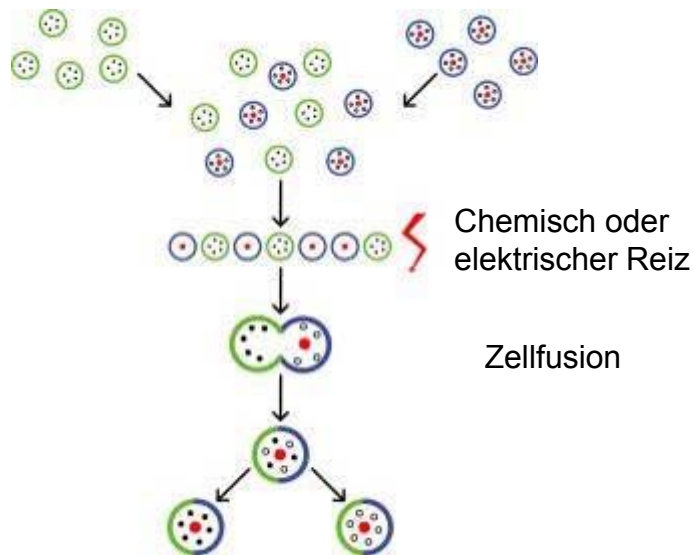




# Cytoplastenfusion:

**Cytoplasten:**  
Protoplasten  
ohne Zellkern

**Protoplasten:**  
Zellen ohne  
Zellwand



Zellkern in neu kombiniertem Cytoplasma

Verschmelzung eines Zellkern mit artfremdem Cytoplasma, bei dem zuvor der Zellkern abgetötet wurde

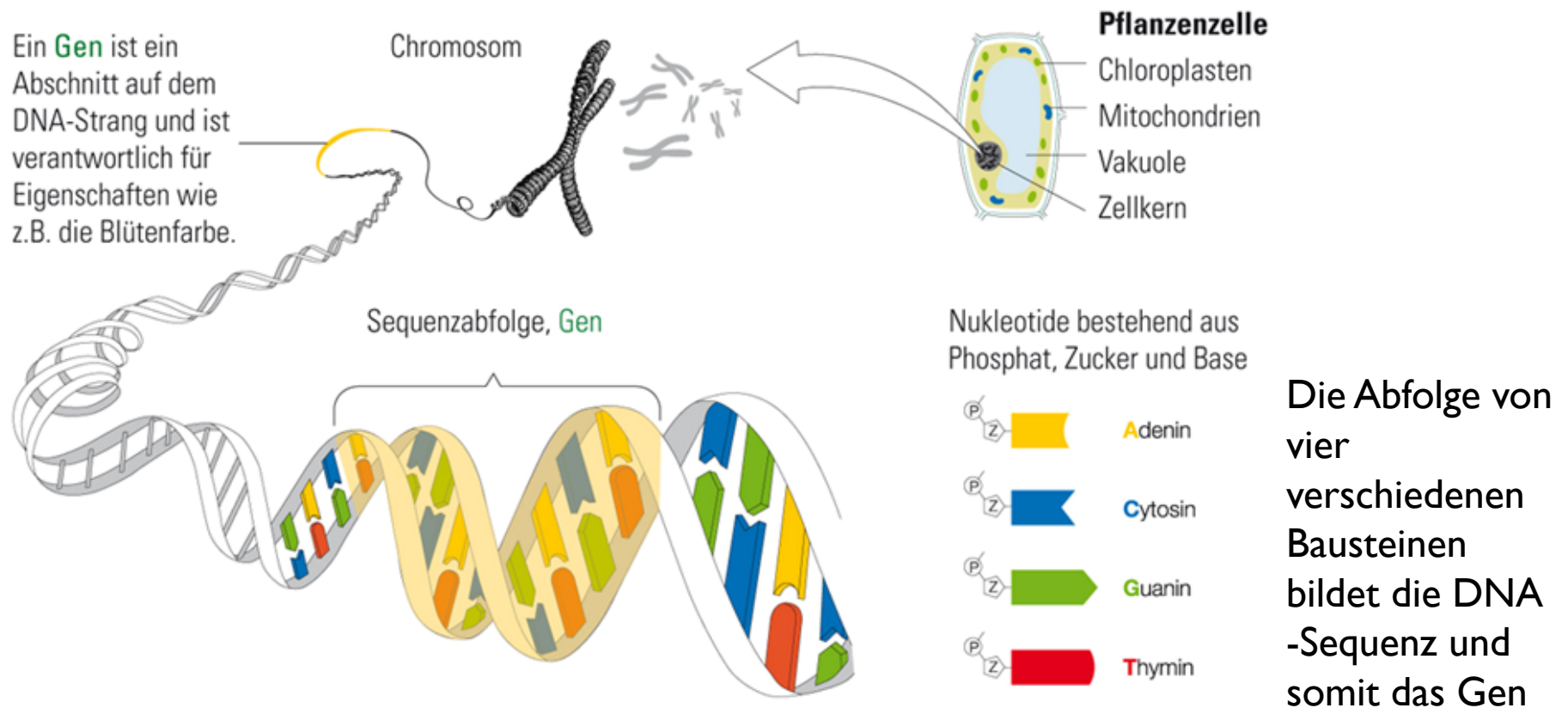
## **Asymmetrische Fusion von Protoplasten mit Zellkern mit kernlosem Cytoplasma anderer Spezies**

Fusion von Protoplasten mit fertilem *Blumenkohlkerngenen mit kernlosem Cytoplasma von Rettich* zur Erzeugung cytoplasmatisch männlich steriler (CMS) Mutterlinien für die Hybridproduktion von *Blumenkohl, Brokkoli, Raps*: daraus resultieren sogenannte **Zellfusionsbasierte CMS Hybriden**





# Entschlüsselung der Erbinformation

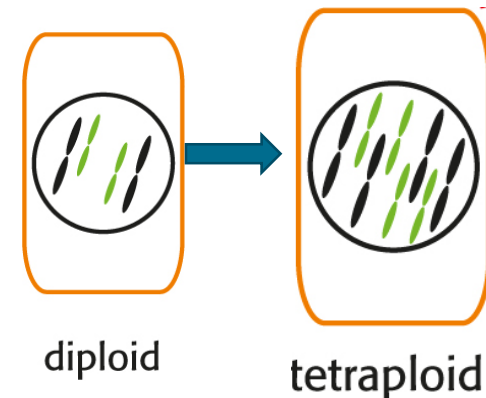
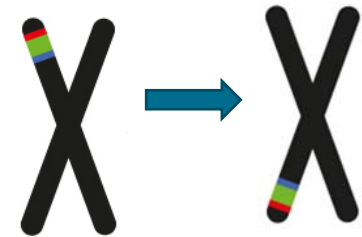
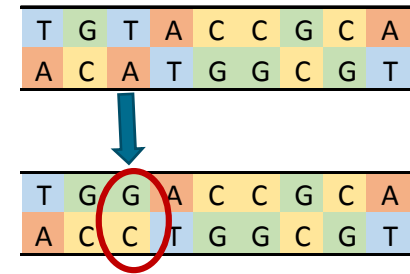


<http://www.komm-ins-beet.mpg.de/wissenswertes/vererbung/unser-erbgut>

# Mutationsauslösung

## Spontane Mutationen als Motor der Evolution

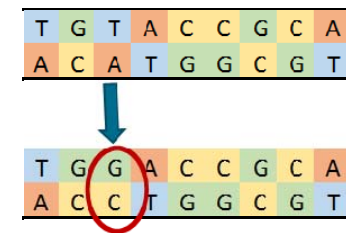
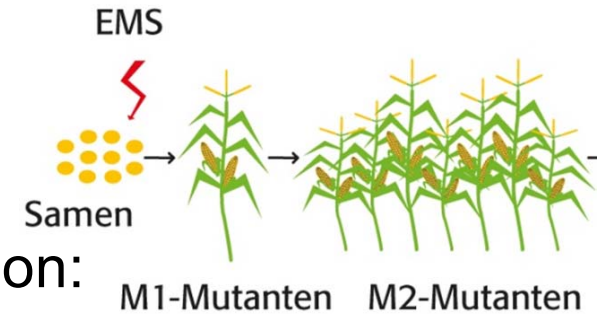
- **Punktmutation** durch Fehler bei der DNA Replikation → Austausch einzelner DNA Bausteins eines Gens führt zu neuem Merkmal (Bsp. Süßlupine, Erucasäure- & Glucosinolat freier 00-Raps, Zuckermais, Popkorn)
- **Transposons** → mobile DNA Sequenzen können ausgeschnitten und an anderer Stelle wieder eingebaut werden, dadurch können Genfunktionen unterbrochen werden (Bsp. Farbmутanten bei Mais)
- **Spontane Polyploidisierung**  
→ Aufdopplung der Chromosomen (Bsp. Rotklee)



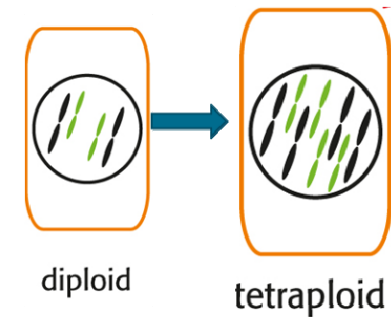
# Mutationsauslösung

- **Chemisch induziert:**

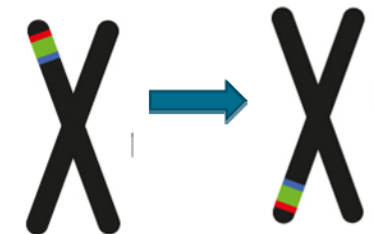
- Ethylmethansulfonat (EMS) → Punktmutation: Austausch einzelner DNA Bausteins eines Gens führt zu neuem Merkmal (Bsp. Salzresistente Kartoffeln, Verzweigte Süßlupine, Raps mit besserem Fettsäuremuster)



- Colchicin → Chromosomenverdopplung (Bsp. Rotklee, Roggen, Weidelgras)



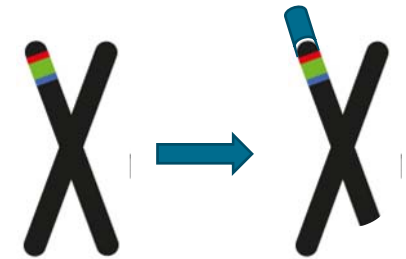
- Induziert durch Einkreuzen von natürlich vorkommenden Transposons



## Mutationsauslösung

- **Physikalisch induziert:**

- **Ionisierende Strahlung:** alpha, beta, gamma Strahlung, radioaktive Strahlung, Röntgenstrahlung, kurzwelliges UV → führt meist zu Chromosomenbrüchen die anschliessend neu zusammengefügt werden (Bsp. Braugerste, halbblattlose Erbsen, Kurzstrohweizen, Resistente Getreide, terminierte Ackerbohnen)
- UV Strahlung im Hochgebirge, Flugzeug
- Kälte- oder Hitzeschocks



**In den letzten 70 Jahren weltweit > 2000 Sorten mit Chromosomen und Genmutationen zugelassen**

**Keine Deklarationspflicht in Europa (aber in Kanada), Sorten sind frei verfügbar**



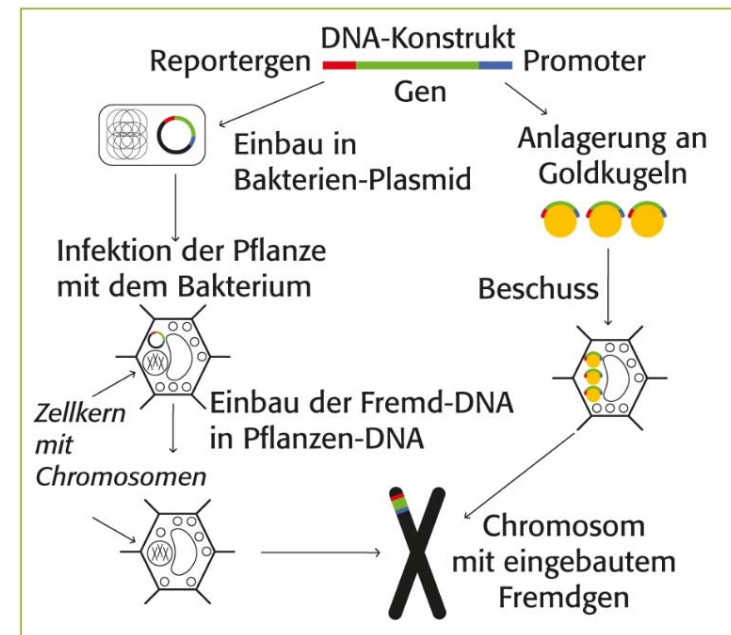
# Cisgene Pflanzen

Übertragung **isolierter Gene derselben Spezies**, d.h. es werden im Gegensatz zu transgenen Pflanzen keine artfremden Gene eingeführt

- Phytophthora resistente Kartoffel mit Gen aus Wildkartoffel
- Schorf-resistenter Apfel mit Gen aus Wildapfel
- Feuerbrand-resistenter Apfel mit Gen aus Wildapfel

Vorteile: Erhöhung der Resistenz bei Erhaltung aller übrigen Sorteneigenschaften, wie z.B. Geschmackseigenschaften, die durch konventionelle Kreuzung und Rückkreuzungsprogramme nur sehr langwierig und nicht zu 100% erreicht werden können (linkage drag)

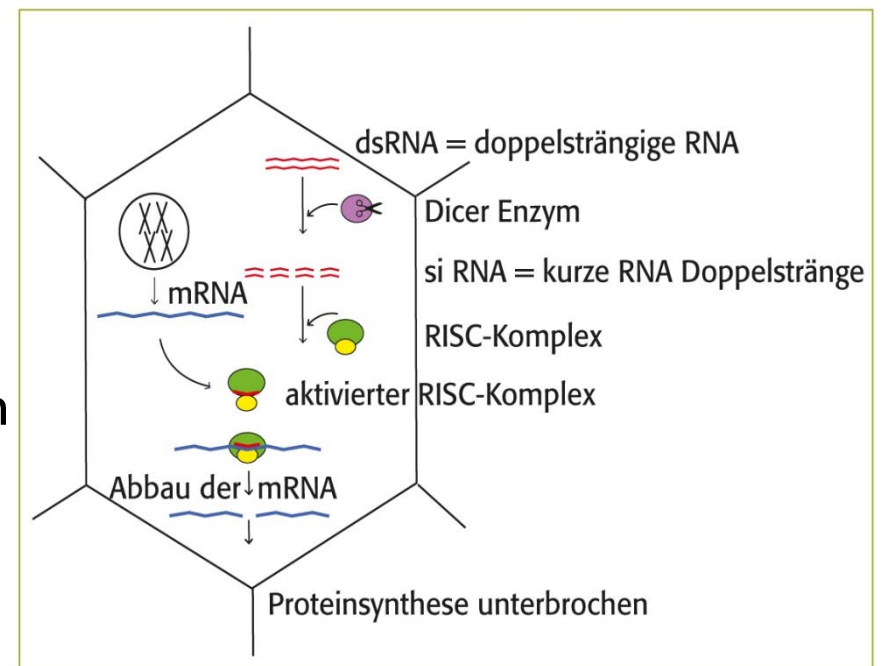
Technik der Genübertragung  
identisch zu transgenen Pflanzen



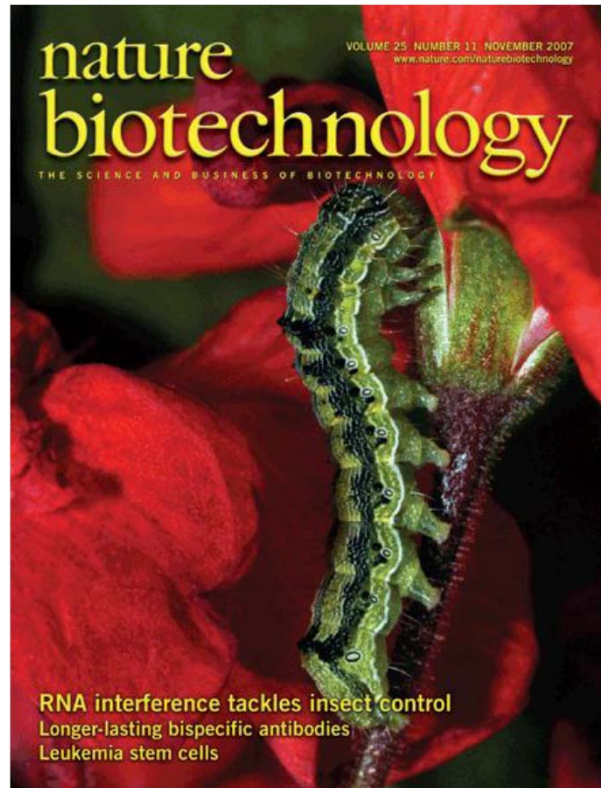
# Gezieltes Ausschalten einzelner Gene durch RNA-Interferenz (RNAi Silencing)

- Die **Gene**sequenz ist unverändert, kann aber nicht in ein Protein übersetzt werden → **Änderung der Genregulation**
- Die Gene werden abgelesen (DNA → mRNA), die RNA wird jedoch durch Interferenz mit 21-25 langen doppelsträngigen RNA Molekülen (RNAi) abgebaut, so dass kein Protein gebildet wird
- Natürlicher Mechanismus dient vermutlich
  - der Abwehr viralen RNA
  - der Ausbreitung von Transposons
  - hochspezifischen Genregulation

Kurze RNAi können durch Liposomen oder Gentransfer in die Zelle eingeschleust werden.



# RNA Interference - Änderung der Genregulation



Mao YB, Cai WJ, Wang JW, Hong GJ, Tao XY, Wang LJ, Huang YP, Chen XY (2007) Silencing a cotton bollworm P450 monooxygenase gene by plant-mediated RNAi impairs larval tolerance of gossypol. *Nature Biotechnology* 25: 1307-1313

Embrapa, Brasilien: Pinto-Bohne mit Resistenz gegen Golden Mosaik Virus (Abwehrmechanismus ständig aktiv, blockiert das Gen, das das Virus zur Vermehrung benötigt)

Arctic Apples: Äpfel, die nicht braun werden

Innate-Kartoffeln, die weniger Acrylamid bilden, da weniger Asparagin und Zucker

Kartoffel gegen Phytophthora-resistenz

Baumwolle gegen Baumwollkapselbohrer

IPK Gatersleben:

- Gerstenmehltau
- Ährenfusariose bei Weizen

MPI:

- Kartoffelkäfer, Veränderung der Chloroplasten DNA, die RNAi produziert, blockiert Aktin-Gen im Kartoffelkäfer
- Cassava (Maniok) Virenresistenz
- Pflaumen Virenresistenz

# Gene / Genome Editing, zielgerichtete Mutation

- ZFN: Zinkfinger Nukleasen
- TALEN: Transcription Activator-Like Effector Nuclease
- **CRISPR-Cas9**: Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR) & Nuklease (Cas9) Enzym das die DNA schneidet (Immunabwehr der Bakterien gegen Viren)

Prinzip:

**Erkennungssequenz** zur Anheftung an eine ganz bestimmte Genregion auf dem Chromosom

+

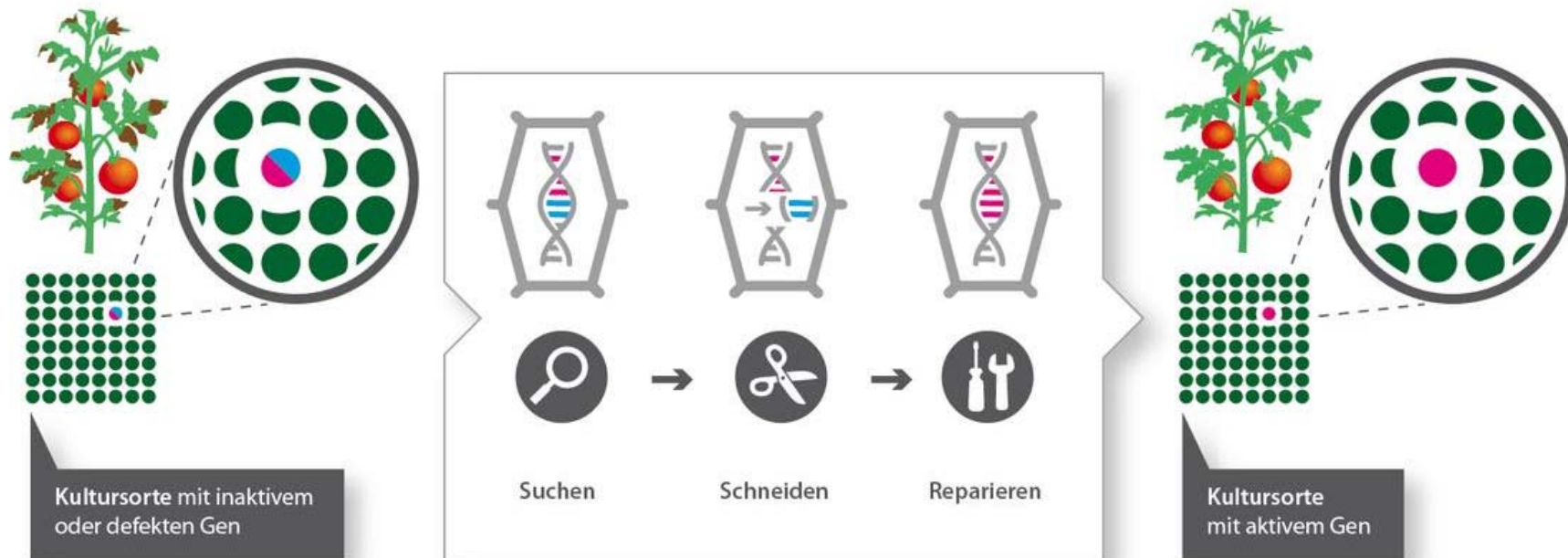
**Genschere** = Nuklease = Enzym, das die DNA schneidet und DNA-Doppelstrangbrüche verursacht

**Voraussetzung: Gensequenz muss bekannt sein**



# Gene / Genome Editing, zielgerichtete Mutation

## Genome Editing



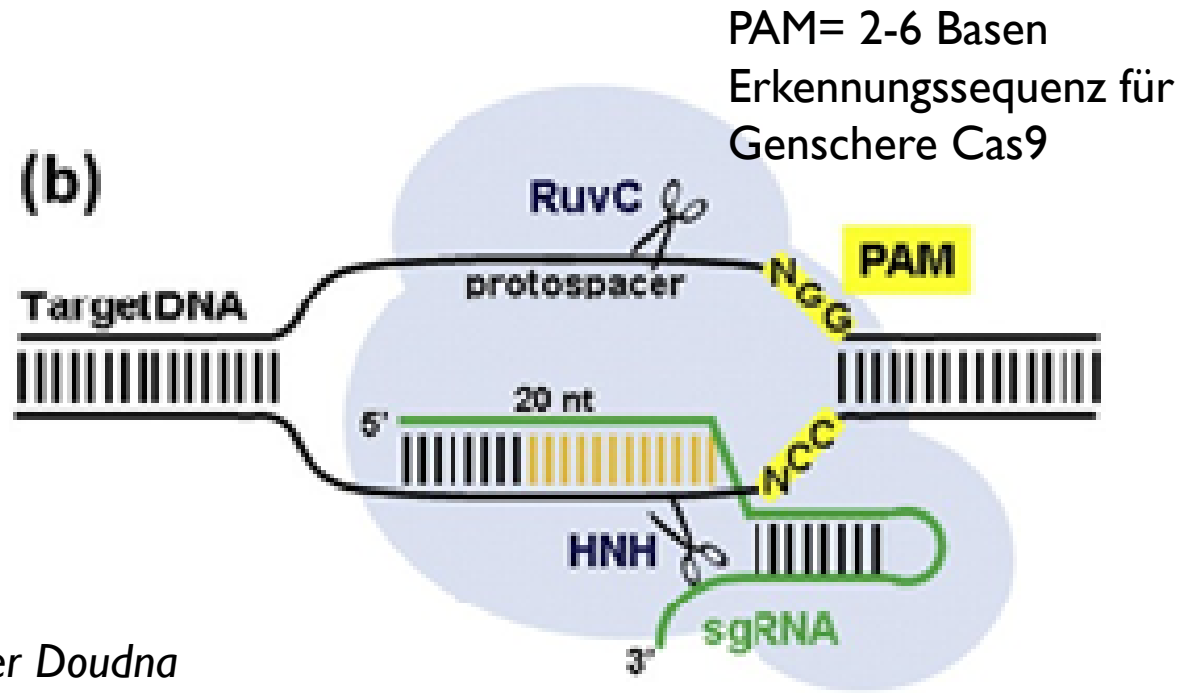
Grafik: pigurdesign

[www.transgen.de/WGG](http://www.transgen.de/WGG)

# CRISPR-Cas9



*Emmanuelle Charpentier & Jennifer Doudna*



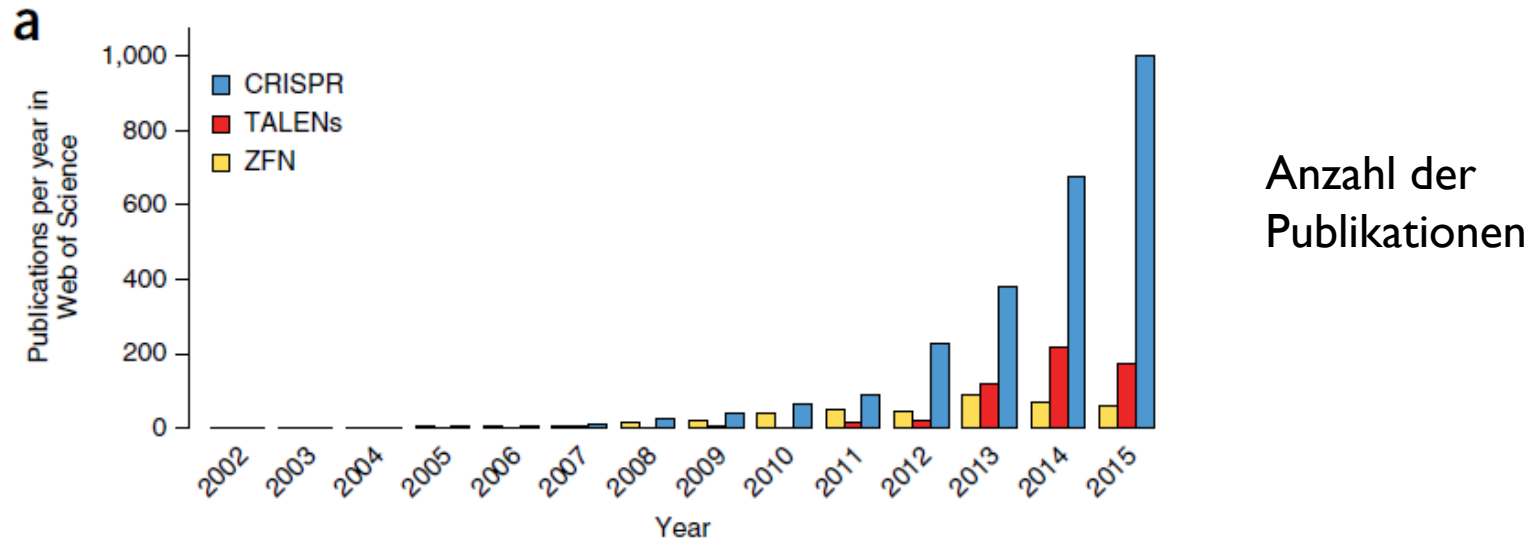
- Immunabwehr von Bakterien gegen Viren indem genetisches Material der Viren in Bakterien DNA integriert wurde
- CRISPR-Cas9 sucht Erkennungsregionen PAM, die im Genom verteilt sind (PAM), öffnet DNA-Doppelhelix
- wenn sich anschliessend, die spezifische guide RNA (20 Basen) an komplementäre Region anlagern kann, schneidet die Cas9 die DNA in 3 Basen Abstand zu PAM

*Bortesi, Fischer, Biotechnology Advances 33 (2015) 41-52*

## CRISPR-Cas9 Euphorie

- CRISPR-Cas9 ist universell einsetzbar bei Mensch, Tier, Pflanze und Bakterien
- Die Erkennungssequenz aus 22 RNA Bausteinen kann sehr einfach synthetisch hergestellt werden und das Konstrukt aus Erkennungssequenz und Genschere als Plasmid in Bakterien einfach vermehrt werden → einfache und billige Synthese
- Es können gleichzeitig mehrere Zielgene verändert werden
- Es braucht nur geringe Infrastruktur
- Einbringen des CRISPR-Cas9 via Bakterien, Viren, direkten Gentransfer oder durch Elektroporation in Protoplasten und Regeneration zur ganzen Pflanze
- CRISPR-Cas kann wieder ausgekreuzt werden, wenn Editing erfolgreich war oder es wird nur vorübergehend in die Zelle gebracht durch Agroinfiltration → Grenze zwischen gentechnischer und chemischer Mutationsauslösung verwischt

# CRISPR-Cas Euphorie



Barrangou R., Doudna J.A. (2016) Applications of CRISPR technologies in research and beyond. *Nature Biotechnology* 34:933



## CRISPR-Cas9: viele Anwendungen

- **Doppelstrangbruch an spezifischer Stelle**, Ausschalten eines Gens, Punktmutation durch Fehler bei DNA Reparatur (induzierte Mutation eines bestimmten Gens)

```
A T G C C A T G G A C C G C A C T T A  
T A C G G T A C C T G G C G T G A A T
```

- **Doppelstrangbruch & Matrize** mit gewünschten Basenpaarsequenz, gezielter Austausch einzelner Basen des Gens, neues Allele, neues Merkmal (Gene Editing)

```
A T G C C A T C G G T A C C A C T T A  
T A C G G T A G C C A T G G T G A A T
```

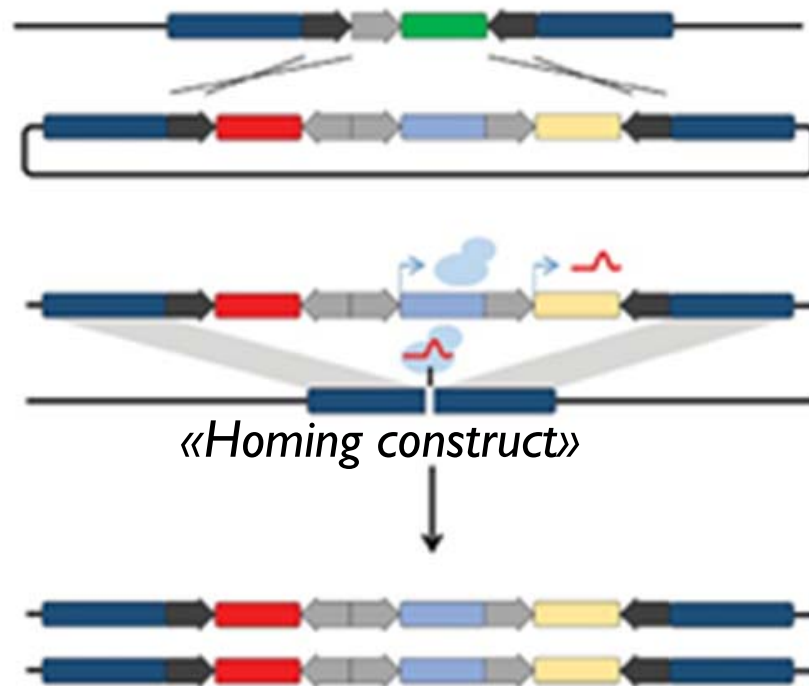
- **Doppelstrangbruch & ein oder mehrere arteigene oder artfremde Gene** wird zielgenau in Genom eingebaut (gezielter Gentransfer an bestimmter Stelle)

```
_____ ein ganzes Gen wird eingefügt _____
```

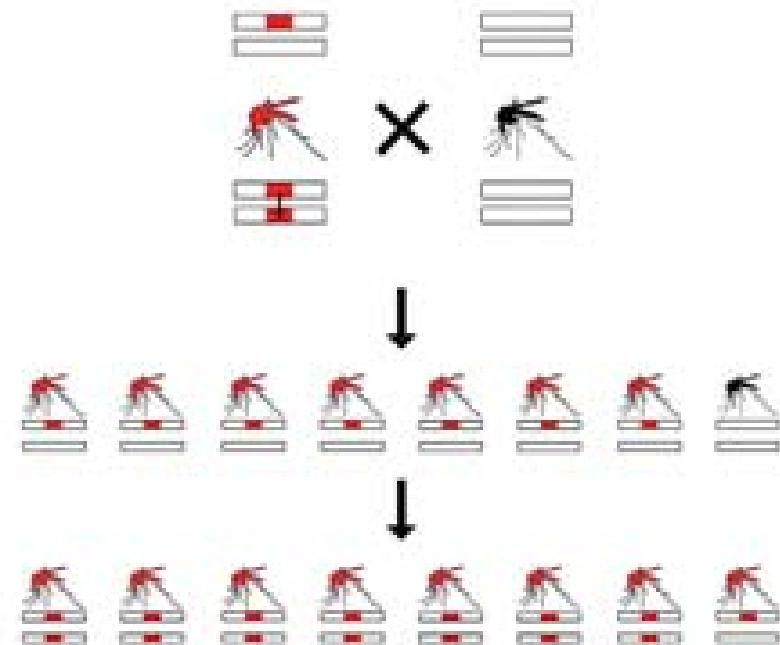
## CRISPR-Cas9 Anwendungen

- **Regulation der Genexpression** durch inaktivierte (dead) dCas9 + Fusion mit
  - Transaktivitäts oder Transrepressivitätsdomäne
  - Transport von Aktivatoren an bestimmten Genort: Aktivierung von Promotor-Region eines Gens
  - Deaktivierung der Genexpression durch Methylierung der DANN
- **RNA Silencing:** Abbau von einer bestimmten RNA Sequenz spezifischer als mittels RNAi
- **Gene Drive:** Mutation eines Allele wird automatisch auf homologe Chromosomen übertragen → in einem Schritt homozygot → Ausheblung der Mendelschen Vererbungsgesetze → grosse Auswirkung auf Evolutionsprozesse

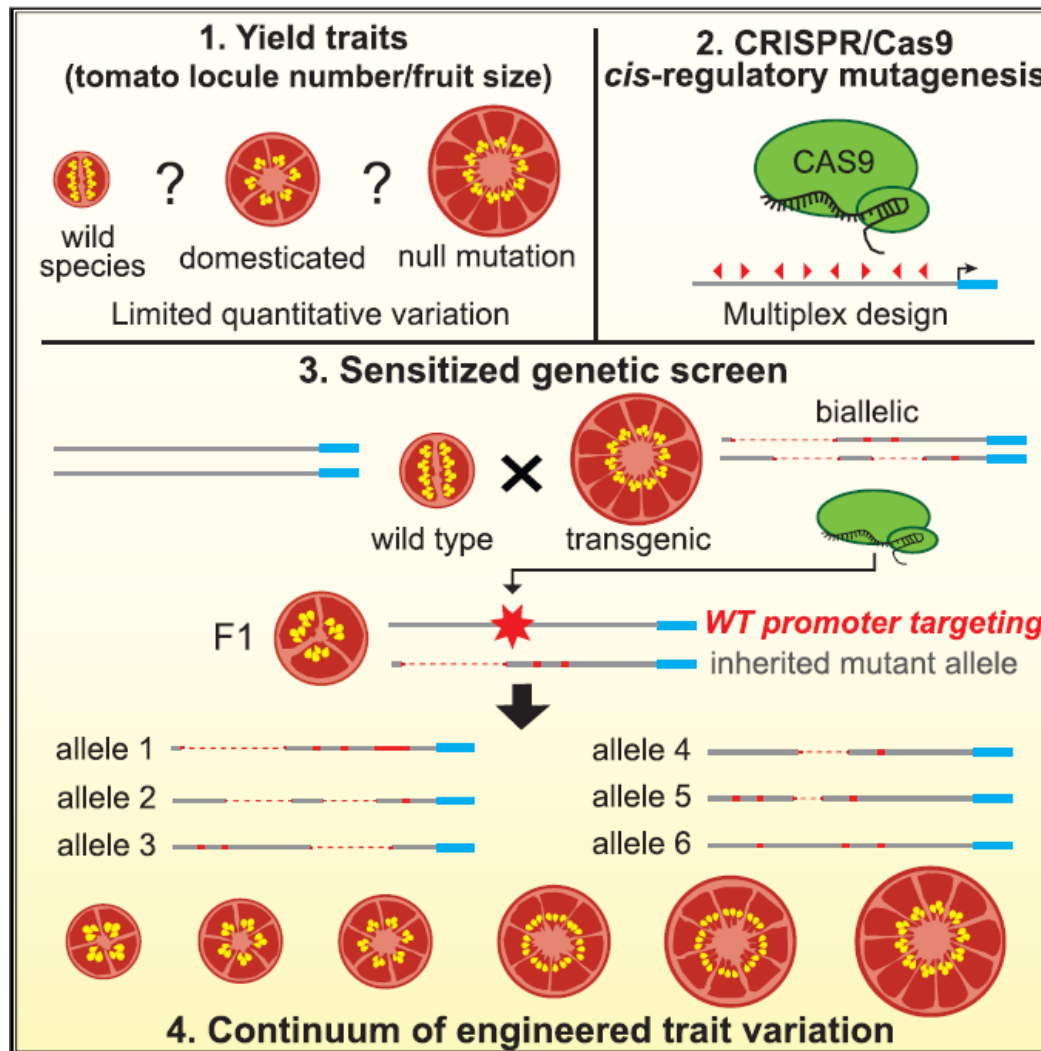
# CRISPR-Cas Gene drive



Führt zu Nicht-Mendelscher Vererbung



# Veränderung der Fruchtgrösse der Tomate durch CRISPR-Cas9



Rodríguez-Leal et al., 2017, *Engineering Quantitative Trait Variation for Crop Improvement by Genome Editing*. Cell 171, 470–480

# Gene Editing

Transfer des synthetisch modifizierten CRISPR-Cas  
Bakterienplasmids mittels gentechnischer Methoden in die Pflanze  
via

- Polyethylenglycol oder Elektroporation von Protoplasten
- Agrobacterium in Embryonen, Kallus, Kotyledonen, Wurzelhaar-Kulturen
- virale Vektoren (Gemini-Viren)
- Agroinfiltration der Knospen (stabile Transformation der Nachkommen)
- Partikelbeschuss



## Kulturarten die mit neuen gentechnologischen Methoden bearbeitet werden (in Pipeline)

Kulturart	Merkmal	Methode
Apfel	Schorfresistenz	Cisgenese
Cassava	Virusresistenz	RNAi
Banane	Xanthomonas-Resistenz	Transgen
Banane	Fusarium-Resistenz	RNAi
Rebe	Pilzresistenz	Cisgenese
Kartoffel	Phytophthora-Resistenz	Cisgenese
Kartoffel	Virusresistenz	RNAi
Tomate	Bakterienresistenz	Plastiden Transformation
Weizen	Blattlaus und Weisse Fliege Resistenz	RNAi
Raps	Trockenheitsresistenz	RNAi
Weidelgrass	Trockenheitsresistenz	Intragenesis

## Kulturarten die mit neuen gentechnologischen Methoden bearbeitet werden (in Pipeline)

Kulturart	Merkmal	Methode
Weizen	Glutenfreiheit	RNAi
Weizen	Hoher Amylosegehalt	RNAi
Kartoffel	Hoher Amylosegehalt	Intragenese
Soja	Hoher Oelsäuregehalt	RNAi
Tomate	Hoher Carotinoidgehalt	RNAi
Kartoffel	Reduzierte Acrylamidbildung	RNAi
Rebe	Hoher Anthozyangehalt	Intragenese,
Luzerne	Reduzierter Ligningehalt	RNAi, Intragenese
Apfel	Non-browning	RNAi
Gerste	Hohe Phytaseaktivität	Cisgenese
Kirsche	Virusresistenz	Veredelung auf GM-Wurzelstock

# Beispiele für Genom-editing

Kulturart	Merkmal	Methode
Mais	Amylopektin Stärke, Trockentoleranz	CRISPR-Cas9
Tomate	Reifeverzögerung, Geschmack, Fruchtgrösse	CRISPR-Cas9
Weizen	Mehltauresistenz, weniger Gluten	CRISPR-Cas9
Soja	Weniger Trans-Fettsäuren	TALEN
Reis	Xanthomonas-Resistenz, Wassereffizienz, Duftreis	CRISPR-Cas9 TALEN
Kartoffel	Weniger Acrylamid	CRISPR-Cas9
Ananas	Rosa Fruchtfleisch, Virus, Nematoden	RNAi
Speisepilze	ohne Braunverfärbung	CRISPR-Cas9
Paprika, Gurken	Virenresistenz	CRISPR-Cas9
Erdnuss	Ohne Allergene	CRISPR-Cas9
Raps	Bessere Platzfestigkeit	CRISPR-CAS9

## Risiken neuer gentechnologischen Methoden

- Risiko ist abhängig von Kulturart und deren Verbreitung, dem eingeführten oder ausgeschalteten Merkmal, sowie dem Ausmass des gentechnischen Eingriffs → **fallweise Beurteilung**
- CRISPR-Cas ist ein Werkzeug mit dem sehr unterschiedliche Änderungen auf DNA Ebene und Ebene der Genexpression und Genregulation durchgeführt werden kann, vom Auslösen von Punktmutationen, Austausch von Allelen, über einfügen neuer Gene bis hin zu Gene Drive.
- Auswirkungen von Punktmutationen durch Genom-Editing sind eher abschätzbar, Risiko von off-Target-Effekten kann durch gezieltere Techniken reduziert werden
- Nebenwirkungen vom Eingriff in die Genregulation können schwerwiegender sein, da die verschiedenen Rückkopplungs-Regelsysteme noch nicht vollständig verstanden
- Gene Drive: Auswirkungen nicht abschätzbar, starker Eingriff in die Evolution, Auslöschen von ganzen Spezies möglich

# Risiken neuer gentechnologischen Methoden

- Neue Techniken werden für Symptombekämpfung eine schlechten Praxis eingesetzt, statt neue nachhaltigere Landwirtschaftskonzepte zu entwickeln (Bsp. Bt gegen Maiswurzelbohrer statt Fruchtfolge und Habitatmanagement)
- Kontrolle der eingesetzten Techniken und Rückverfolgbarkeit schwierig, da teilweise nicht nachweisbar
- Kontrolle der Akteure schwierig, da im Vergleich zu früheren gentechnischen Methoden viel weniger Infrastruktur und Know-how nötig ist
- Diese Techniken führen zur vermehrter Patentierung von Pflanzen und damit Aushebelung des Züchtersvorbehalts und Landwirteprivileg.



# Gentechnikgesetz

## Verfahren der Veränderung genetischen Materials sind:

- Nukleinsäure-Rekombinationstechniken, bei denen durch die **Einbringung von Nukleinsäuremolekülen**, die außerhalb eines Organismus erzeugt wurden, ... **neue Kombinationen** von genetischem Material gebildet werden und diese in einen Wirtsorganismus eingebracht werden, in dem sie **unter natürlichen Bedingungen nicht vorkommen**,
- Verfahren, bei denen in einen Organismus **direkt Erbgut eingebracht wird**, welches außerhalb des Organismus hergestellt wurde und natürlicherweise nicht darin vorkommt...
- Zellfusionen oder Hybridisierungsverfahren, bei denen lebende Zellen mit neuen Kombinationen von genetischem Material, das unter natürlichen Bedingungen nicht darin vorkommt, durch die Verschmelzung zweier oder mehrerer Zellen mit Hilfe von Methoden gebildet werden, die unter **natürlichen Bedingungen nicht vorkommen**... [http://www.gesetze-im-internet.de/gentg/\\_\\_3.html](http://www.gesetze-im-internet.de/gentg/__3.html)

# Gentechnikgesetz

**nicht als Verfahren der Veränderung genetischen Materials gelten:**

- In-vitro-Befruchtung,
- natürliche Prozesse wie Konjugation, Transduktion, Transformation,
- Polyploidie-Induktion,
- **Mutagenese**
- **Zellfusion** (einschließlich Protoplastenfusion) von Pflanzenzellen von Organismen, die mittels herkömmlicher Züchtungstechniken genetisches Material austauschen können (z.B. zwischen verwandten Arten),

es sei denn, es werden gentechnisch veränderte Organismen als Spender oder Empfänger verwendet [http://www.gesetze-im-internet.de/gentg/\\_\\_3.html](http://www.gesetze-im-internet.de/gentg/__3.html)

## Diskussionsgrundlagen die für Beurteilung der Techniken der EU-Kommissionen

- Werden neue Genkombinationen geschaffen?
- Werden neue Nukleotide eingefügt?
  - Wieviele, mehr als 20 ?
  - Handelt es sich um rekombinierte Nukleotide?
- Werden diese dauerhaft exprimiert oder nur vorübergehend?
- Werden die Veränderungen vererbt?
- Können diese Veränderungen auch in der Natur vorkommen oder mit herkömmlichen Methoden erreicht werden?
- Wie unterscheiden sich die Sorten von herkömmlich gezüchteten Sorten?
- Gibt es Nachweismethoden

Es gibt noch keine verabschiedete Stellungnahme

# Empfohlene Einstufung für das Genome Editing vom Verband Biologie, Biowissenschaften und Biomedizin

- **Genome Editing Typ 1**, die eine Punktmutation in der DNA herbeiführen ohne dass fremde DNA eingefügt wird → wie Mutation, keine Deklaration

```
A T G C C A T G G A C C G C A C T T A
T A C G G T A C C T G G C G T G A A T
```

- **Genome Editing Typ 2**, bei denen ein kurzes Stück DNA in die pflanzliche Erbinformation integriert wurde, das nahezu identisch zur ursprünglichen Sequenz ist, aber einzelne Basenänderungen enthält → wie Mutation, keine Deklaration

```
A T G C C A T C G G T A C C A C T T A
T A C G G T A G C C A T G G T G A A T
```

- **Genome Editing Typ 3**, bei denen DNA integriert wird, die neben der ursprünglichen Sequenz ein längeres DNA-Stück (mehr als 20 Basen) oder ein komplettes Gen eines anderen Organismus beinhaltet → wie GVO und fallen unter das Gentechnikgesetz



## CRISPR-Cas9: viele Anwendungen

- **Doppelstrangbruch an spezifischer Stelle**, Ausschalten eines Gens, Punktmutation durch Fehler bei DNA Reparatur (induzierte Mutation eines bestimmten Gens)

```
A T G C C A T G G A C C G C A C T T A  
T A C G G T A C C T G G C G T G A A T
```

- **Doppelstrangbruch & Matrize** mit gewünschten Basenpaarsequenz, gezielter Austausch einzelner Basen des Gens, neues Allele, neues Merkmal (Gene Editing)

```
A T G C C A T C G G T A C C A C T T A  
T A C G G T A G C C A T G G T G A A T
```

- **Doppelstrangbruch & ein oder mehrere arteigene oder artfremde Gene** wird zielgenau in Genom eingebaut (gezielter Gentransfer an bestimmter Stelle)

```
_____ ein ganzes Gen wird eingefügt _____
```

# Sicht der Saatgutbranche

## Variante 1

Gerichtete, zufällige Veränderung kleiner DNA-Bausteine (z. B. Punktmutationen oder Deletionen)



Gezielte  
Mutationsauslösung

## Variante 2

Gerichtete, gezielte Übertragung arteigener DNA-Abschnitte

Genom Editing



ODER



CIS-Genetik

Pflanzen, die so entstehen, könnten auch von selbst in der Natur oder durch klassische Kreuzungs- und Kombinationszüchtung entstehen und sind somit naturidentisch. Eine gesonderte Regulierung ist nicht notwendig.

## Variante 3

Gerichtete, gezielte Übertragung von artfremden Genen oder Genbestandteilen



Trans-Genetik

Pflanzen, die so entstehen, sind gentechnisch verändert und fallen in der EU unter das Gentechnikgesetz.

<https://www.kws.de/innovation/zukunft/>



## Verschiedene Arten der Mutationsauslösung

	<b>Spontane Mutationen</b>	<b>Chemisch induziert</b>	<b>Gamma Bestrahlung</b>	<b>Genom-Editing</b>
<b>Organ</b>	Pflanze	Samen	Samen	Protoplasten
<b>Ziel im Genom</b>	zufällig	zufällig	zufällig	Zielgerichtet, nur 1 Gen
<b>Änderung</b>	Einzelne DNA Bausteine	Einzelne DNA Bausteine	Chromosome nbrüche	Einzelne DNA Bausteine
<b>Frequenz</b>	Sehr selten	hoch	hoch	hoch
<b>Überlebensrate</b>	hoch	gering	sehr gering	mittel
<b>Neben- effekte in Sorte</b>	Sehr gering	mittel	hoch	gering-mittel

# EU Debatte um Gentechnik

Abkehr von Prozess- und Produktbeurteilung zur ausschliesslichen Produktbeurteilung wie in Amerika

- Wenn kein Unterschied am Endprodukt nachweisbar zu konventioneller Züchtung inkl. Mutationsauslösung → behandeln wie Mutation, keine Bewilligung nötig, keine Deklaration oder Risikoabklärung
  - Genomediting mittels CRISPR, TALEN, ZFN
- Wenn kein artfremdes Gen (> 20 Basen) eingeführt wird → behandeln wie Mutation oder GMO ?
  - Cisgenese, Intragenese (=Anordnung des Gens verändert)
- Wenn ein komplettes Gen eines anderen Organismus integriert wird, was mittels molekulardiagnostischer Verfahren nachweisbar ist → behandeln wie GVO, Freisetzungsverordnung

Nord- und Südamerika sind Bewilligungen Produkt- und nicht Prozessbasiert, Kanada entscheidet Fall zu Fall. Erste Sorten, die nicht als GVO eingestuft wurden werden bereits angebaut. In der EU wird teilweise auch schon Fall zu Fall entschieden. z.B. Schweden bis EU Entscheid getroffen ist

Kein Urteil des EuGH vor April 2018 zu erwarten, Gutachten vom 18.1.2018:

**FiBL**

*Genom edition ist identisch zu Mutationsauslösung und sollte nicht unter das Gentechnikgesetz fallen!*

# Kriterien zur Beurteilung von Züchtungstechniken aus Sicht des ökologischen Landbaus

## Ethische Kriterien

- Respektierung der Integrität des Genoms
- Respektierung der Integrität der Zelle als funktionelle Einheit
- Erhaltung der artspezifischen Fortpflanzungsweise
- Gewährleistung der Weiterzucht > Züchternvorbehalt
- Erhaltung der Nachbaufähigkeit > Landwirtprivileg
- Einhaltung der Prinzipien des ökologischen Landbaus > Gesundheit, Ökologie, Gerechtigkeit und Sorgfalt

# Integrität der Zelle als Grenzziehung

Technischer Eingriff unterhalb der Zellebene verletzt die Integrität der Zelle

Zelle ist die kleinste vermehrungsfähige Einheit einer Pflanze

Eingriffstiefe	Pflanze	Zelle	DNA
Bsp. von Züchtungsmethoden	Klassische Kreuzung, Hybridzüchtung	Cytoplastenfusion	Gentransfer Isolierte DNA, RNA, Protein

Züchtungs- Methode	Technis cher Eingriff Genom	Technis cher Eingriff Zelle	Fortpflanzu ngsfähig beeinträcht igt	Weiterzücht ung beeinträchtigt	Ueberschr eiten von Kreuzungs barriern	Nachbau Beeinträchti gt	Nach weis bar
Genediting Typ I + II	JA	JA	Nein	Ja (Patent)	Nein	Ja (Patent)	Nein
Genediting Typ III (plus Genkonstrukt)	JA	JA	Nein	Ja (Patent)	Möglich	Ja (Patent)	Ja
Cisgenetik	JA	JA	Nein	Ja (Patent)	Nein	Ja (Patent)	?
Transgene	JA	JA	Möglich	Ja (Patent)	JA	Ja (Patent)	Ja
RNA Interferenz (RNAi)	JA	JA	Nein	Ja (Patent)	Nein	Ja (Patent)	Nein
Cytoplasten-fusion	Nein	JA	Nein	Möglich (CMS)	Möglich	Möglich	Nein
Markergestützte Selektion	Nein	Nein	Nein	Nein	Nein	Nein (Patent?)	Nein



Züchtungs-Methode	Eingriff Genom	Eingriff Zelle	Fortpflanzungsfähig beeinträchtigt	Weiterzüchtung beeinträchtigt	Überschreiten von Kreuzungsbarrieren	Nachbau beeinträchtigt	Nachweisbar
Markergestützte Selektion	Nein	Nein	Nein	Nein	Nein	Nein (Patent?)	Nein
Doppelhaploide	Even.	Even.	Nein	Nein	Nein	Nein	Nein
Protoplastenfusion	Even.	JA	Möglich (Triploide)	Möglich (CMS)	Möglich	Möglich	?
Cytoplastenfusion	Nein	JA	Nein	Möglich (CMS)	Möglich	Möglich	JA
Chemische Mutagenese, Bestrahlung	JA	JA	Nein	Nein	Nein	Nein	Nein
Tilling	JA	JA	Nein	Nein	Nein	Nein	Nein
Eko-Tilling	Nein	Nein	Nein	Nein	Nein	Nein	Nein
Mutagenese mittels Oligonukleotide	JA	JA	Nein	Nein	Nein	Nein	Nein

Züchtungs- Methode	Eingriff Genom	Eingriff Zelle	Fortpflanzungs- fähigkeit beeinträchtigt	Weiterzucht beeinträchtigt	Überschreiten von Kreuzungs- barrieren	Nachbau Beeinträchtigt	Nachweis- bar
Genediting Typ I + II	JA	JA	Nein	Ja (Patent)	Nein	Ja (Patent)	Nein
Genediting Typ III (plus Genkonstrukt)	JA	JA	Nein	Ja (Patent)	Möglich	Ja (Patent)	Ja
Cisgenetik	JA	JA	Nein	Ja (Patent)	Nein	Ja (Patent)	?
Transgene	JA	JA	Möglich	Ja (Patent)	JA	Ja (Patent)	Ja
RNA Interferenz (RNAi)	JA	JA	Nein	Ja (Patent)	Nein	Ja (Patent)	Nein
Reverse Breeding	JA	JA	Nein	Nein	Nein	Ja (Patent)	Nein
Minichromosomen	JA	JA	Nein	Ja (Patent)	JA	Ja (Patent)	JA

# IFOAM Positionspapier zur Kompatibilität der neuen Züchtungstechniken im Biolandbau

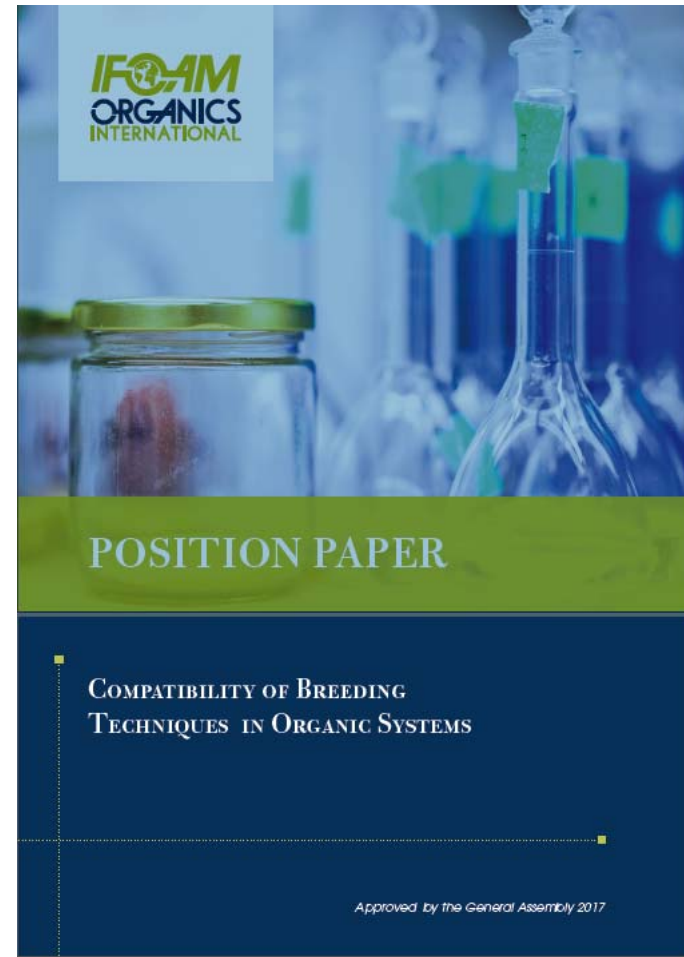
Verabschiedet an IFOAM Vollversammlung  
Nov. 2017 in Delhi

## Kriterien:

- **Ethische Aspekte:** Respekt vor Einheit des Genoms und der Zelle als kleinste funktionale Einheit
- **Soziale Aspekte:** Verfügbarkeit genetischer Ressourcen für Züchtung und Anbau
- **Wissenschaftliche Aspekte:** Sicherheit, Vorsorgeprinzip

[https://www.ifoam.bio/sites/default/files/position\\_paper\\_v01\\_print\\_ca\\_0.pdf](https://www.ifoam.bio/sites/default/files/position_paper_v01_print_ca_0.pdf)

<https://www.ifoam.bio/en/organic-landmarks/positions-policy-briefs-and-strategies>



# IFOAM Positionspapier zur Kompatibilität der neuen Züchtungstechniken im Biolandbau

Techniken wie die Oligonukleotid gerichtete Mutagenese (ODM), Zink-Finger-Nukleasen, CRISPR/Cas, Meganukleasen, Cisgenese, Pfropfung auf einen transgenen Wurzelstock, Agroinfiltration, RNA-abhängige DNA-Methylierung (RdDM), Reverse Züchtung, Synthetische Genomik, sind gentechnische Techniken, die nicht kompatibel sind mit dem Biolandbau und dürfen nicht für die ökologische Züchtung oder den ökologischen Landbau verwendet werden.

Produkte, die durch gentechnische Verfahren gewonnen wurden, dürfen nicht ohne vorherige strenge Auflagen in die Umwelt freigesetzt werden. Ein Protokoll zur Risikobeurteilung soll von verschiedenen Interessensvertretern entwickelt werden und eine Beurteilung beinhalten, wie eine Kontamination dieser Produkte in Bioprodukten und GVO-freien Produkten ausgeschlossen werden kann.

# IFOAM Positionspapier zur Kompatibilität der neuen Züchtungstechniken im Biolandbau

## Annex II: Beurteilung einzelner Züchtungstechniken

- Anwendbarkeit: Pflanze, Tiere, Mikroben, Pilze oder andere Organismen
- Akzeptabel in der Biozüchtung?
- Akzeptabel für den Bioanbau und die Biotierhaltung?
- Integrität des Genoms und der Zelle gewährleistet?
- Verfügbarkeit genetischer Ressourcen für Weiterzüchtung uneingeschränkt?
- Angemessene Riskiobeurteilung verfügbar?
- Nachweismethoden momentan verfügbar?

Bisher kein Konsenz, ob Sorten aus chemisch und Bestrahlungs-induzierte Mutationszüchtung weiterhin im Biolandbau angebaut werden können

# Grundlagenpapier zur ökologischen Pflanzenzüchtung gemäss dem Europäischen Konsortium für ökologische Pflanzenzucht (ECO-PB)

## Leitbild der ökologischen Pflanzenzüchtung



- Würde der Kreatur
- Spezielle Zuchtziele für die ökologischen Pflanzenzüchtung
- Ethische Kriterien (Integrität des Genoms und der Zelle, Fortpflanzungsfähigkeit, Möglichkeit zur Weiterzüchtung, Respektierung von Kreuzungsbarrieren, Nachbaufähigkeit)
- Züchtungsstrategische Kriterien (phenotypische Selektion unter ökologischen Anbaubedingungen, Ergänzungen z.B. durch molekulare Marker möglich)
- Sozioökonomische Kriterien (keine Patentierung, Transparenz der Kreuzungseltern und Züchtungsmethoden, partizipative Züchtung, möglichst viele Zuchtprogramme)



# Zertifizierung und Auslobung der ökologischen Pflanzenzüchtung



- **Verbands- & länderübergreifendes Label für die Auslobung von Produkten aus der Biozüchtung für eine bessere Wertschätzung und Wertschöpfung**
- Zertifizierung von ökologischen Züchtungsprogrammen und der einzelnen biogezüchteten Sorten
- Positiv-Label entlang der gesamten Wertschöpfungskette bis zum Verbraucher
- Steht für die Werte der Biozüchtung und garantiert, dass bei der Sortenentwicklung keine unerwünschten Techniken eingesetzt wurden
- Sehr streng: z.B. Hybridsorten können nicht mit bioverita ausgezeichnet werden.

# Bio-Züchtung gemäss Bio Suisse Richtlinien



## 2.2.2.1 Anforderungen an die biologische Pflanzenzüchtung

- a) Offenlegung der angewandten Zuchttechniken
- b) Die natürliche Vermehrungsfähigkeit einer Pflanzensorte wird respektiert und aufrechterhalten
- c) Die Zelle wird als unteilbare Einheit respektiert.
- d) Das Genom wird als unteilbare Einheit respektiert.
- e) Biologische Pflanzenzüchter dürfen Pflanzensorten nur auf der Basis von genetischem Material entwickeln, das nicht gentechnisch verändert wurde.
- f) Bei der Zucht biologischer Pflanzensorten muss die Auslese der Sorten unter kontrolliert biologischen Bedingungen geschehen.
- g) Biologische Pflanzenzüchtungen können gesetzlichen Sortenschutz erlangen, dürfen jedoch nicht patentiert werden (auch nicht einzelne Eigenschaften).

Hybriden können zertifiziert werden, ausser bei Getreide und Raps

# Biologische Gemüsezüchtung der Sativa Rheinau AG

[www.sativa-rheinau.ch](http://www.sativa-rheinau.ch)

Züchtungsprogramme:

- Zuckermais
- Karotten
- Zwiebeln
- Kohlrabi
- Brokkoli
- Chinakohl
- Rosenkohl
- Fenchel
- Sellerie
- Tomaten
- Zucchini



**FiBL**

www

**sativa**  
ökologischer Pflanz- und Saatgut

# Konsequenzen für die Biozucht

- Kein Einsatz von Methoden, die technisch unterhalb der Zellebene eingreifen (e.g. Cisgenetik, Genom-editing, Zellfusion)
- Kein Einsatz von ionisierender Strahlung (z.B. Gamma Strahlen) zur Mutationsauslösung
- Selektion unter Biobedingungen
- Keine Patentierung
- Keine Verwendung von Kreuzungseltern, bei deren Züchtung alte oder neue gentechnische Methoden eingesetzt wurden
  - a ) Falls deklariert → geringere Auswahl an neuen Sorten die eingekreuzt werden können
  - b) Falls nicht deklariert → es können keine Sorten zur Züchtung verwendet werden, die nach 2018 zugelassen wurden.  
→ starke Einengung des Genmaterials, keine Partizipation des Zuchtfortschritts der konventionellen Züchter

# Konsequenzen für die Biozüchtung

- Gefahr, dass konventionelle Züchtung und Biozüchtung stark auseinanderdriften
  - Biozüchtungsinitiativen müssen gestärkt werden und möglichst viele Kulturen abdecken
  - Sicherung von genetischen Ressourcen ohne Genveränderung für zukünftige Züchtung)
  - Kosten für Sicherstellung der GVO-Freiheit des Ausgangsmaterials
  - Erhöhter Aufwand für Vermeidung von Einkreuzungen
  - Langfristige Finanzierung einer eigenen Züchtung für den Biolandbau notwendig via Wertschöpfungskette
  - Allianzen mit konventionellen Züchtern, Instituten suchen
  - Biozüchtungskonsortien und Netzwerke bilden auf nationaler, europäischer und internationaler Ebene



# Welche Sorten stehen dem Biolandbau zur Verfügung:

## Sorten aus konventioneller Züchtung:

Status quo

- Selektion unter Anwendung von Beizmittel, Herbiziden, optimale Nährstoffversorgung
- Zuchtziele und Sortenentwicklung für Mainstream (konventionellen / IP Anbau)
- Prüfen der zugelassenen Sorten (ausser GVO) auf Eignung im Biolandbau (Öko-Sortenversuche)

## Sorten aus Züchtung für den Biolandbau:

Produkt-orientiert

- Berücksichtigung der Zuchtziele des Biolandbaus
- Keine GVO (keine Protoplastenfusion)
- Selektion teilweise unter Biolandbedingungen
- Letzter Vermehrungsschritt unter Biobedingungen

## Sorten aus biologischer Pflanzenzüchtung:

Prozess-orientiert

- Züchtung spezifisch/ausschliesslich für den Biolandbau
- Alle Selektionsschritte unter ökologischen Bedingungen
- Züchtungstechniken im Einklang mit dem Biolandbau
- Alle Vermehrungsschritte unter ökologischen Bedingungen

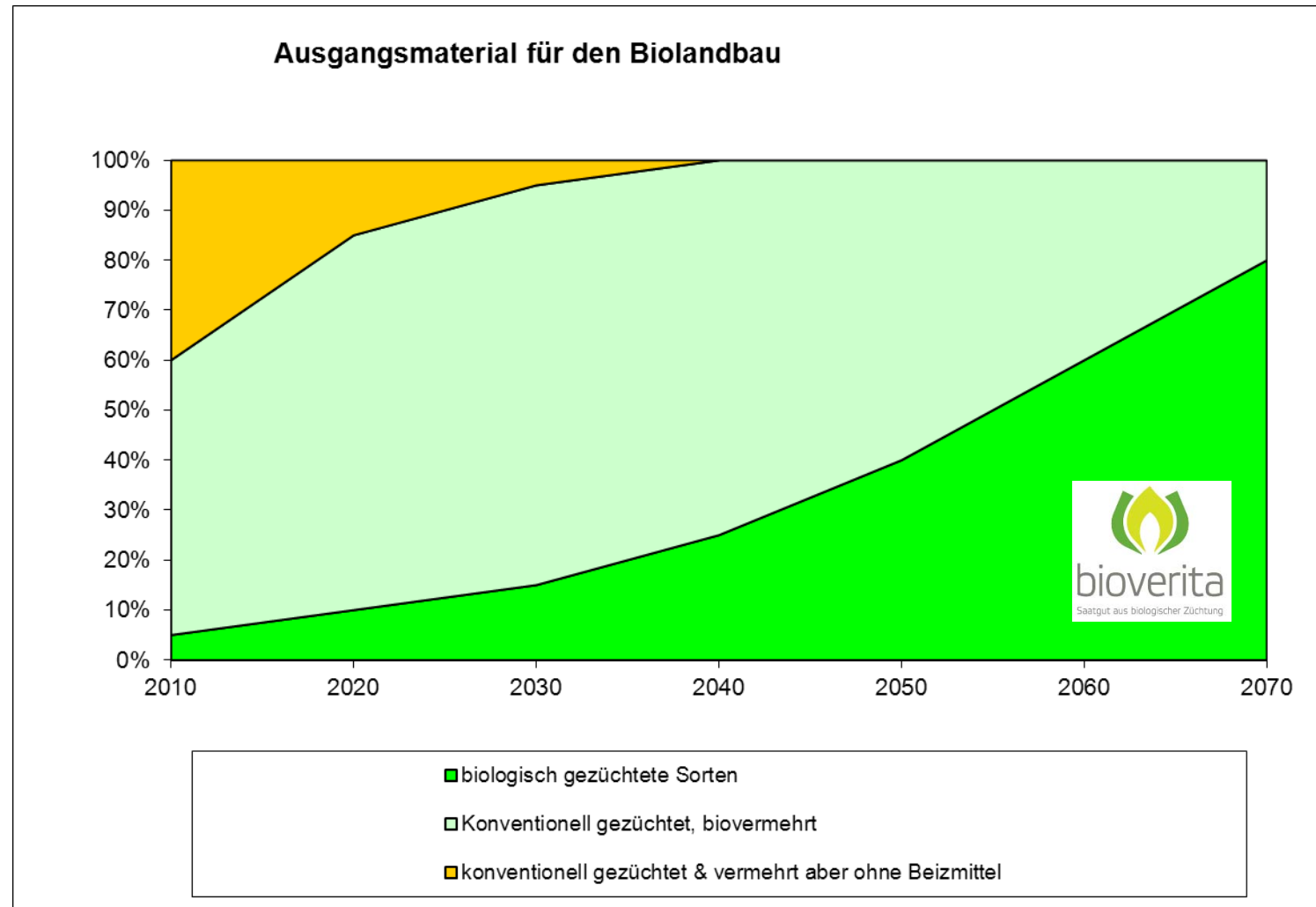




## Sorten für den ökologischen Landbau

Sorten-entwicklung	Sortenprüfung	Sorten-vermehrung
Konventionelle Züchtung (I)	Konventionelle Prüfung	Konventionell vermehrt ungebeizt mit Sonderbewilligung
Konventionelle Züchtung (I)	Konventionelle Prüfung	<b>Bio-vermehrt</b>
Konventionelle Züchtung (I)	<b>Bio-Prüfung</b>	<b>Bio-vermehrt</b>
<b>Züchtung für den Ökolandbau (II)</b>	<b>Bio-Prüfung</b>	<b>Bio-vermehrt</b>
<b>Ökologische Pflanzen-züchtung (III)</b>	<b>Bio-Prüfung</b>	<b>Bio-vermehrt</b>

# Stärkung des Biolandbaus durch Züchtung von Sorten für spezifische Anbaubedingungen



# Einteilung der Sorten gemäss Bio Suisse Richtlinie



BIO SUISSE

## Kap. 2.2.2.6 Kategorisierung der Sorten

- **Kat. I:** Sorte stammt aus zertifizierter Biozüchtung (Weizen 30%)
- **Kat. II:** Sorte stammt aus einem Bio nahen Züchtungsprogramm, für die Anforderung des Biolandbaus und unter Biobedingungen selektiert. (Weizen 68%)
- **Kat. III:** Sorte stammt aus herkömmlichem, konventionellem Züchtungsprogramm (Wintergerste 100%, Karotten 98%)
- **Kat. IV:** Sorte ist mithilfe Züchtungstechniken entstanden die im Bioanbau unerwünscht sind (z.B. Zellfusionstechnik) (Blumenkohl 76%)
- **Kat. X:** Alte Sorten und Herkünfte (z.B. ProSpecieRara-Sorten, Konservationsorten, Nischensorten, Hofsorten)

## Einteilung der Sorten gemäss Bio Suisse Richtlinie



Gibt es für einzelne Arten bzw. Verwendungszwecke mehrheitlich Sorten der **Kategorie IV**, wird eine Bio Suisse Arbeitsgruppe eingesetzt, die einen artspezifischen Massnahmenkatalog mit Zeitplan ausarbeitet, der den mittelfristigen Ausschluss dieser Sorten ermöglicht (z. B. Sammlung und Prüfung von Sorten aus alternativen Zuchtprogrammen, Initiierung von spezifischen Züchtungsprogrammen etc.).

⇒ Projektteam «Zellfusionsfreier Biogemüsebau»

Alle vier Jahre wird die Anzahl der Sorten der einzelnen Kategorien von der MKA überprüft, um den Fortschritt Richtung vermehrtes Angebot und Verwendung von biologisch gezüchteten Sorten festzustellen und zu fördern.

# Konsequenzen für den Biolandbau

- Bevorzugung von Sorten aus der Biozüchtung bzw. Züchtung für den Biolandbau
- Keine Verwendung von gentechnisch veränderten Sorten (GVO)
- Einsatz von Sorten, die aus Zellfusion stammen ist für einige Verbände verboten, obwohl nach EU-Ökoverordnung erlaubt
- Keine Verwendung von Sorten, bei deren Züchtung neue gentechnischen Methoden eingesetzt wurden, auch wenn das Endprodukt keine neue Gensequenz enthält (gemäss Bio Suisse, IFOAM EU, IFOAM International)

a ) Falls deklariert → geringere Auswahl an neuen Sorten

b) Falls nicht deklariert → es können keine Sorten verwendet werden, die nach 2018 zugelassen werden

→ es werden gemäss freiwilliger Auskunft der Züchter Positivlisten erstellt analog zu den Zellfusionsfreien Brassica-Gemüse

→ starke Einengung der Sortenwahl

→ grösser Ertragsunterschied zum konventionellen Anbau

# Herausforderungen des Bio-Sektors

Der Bio-Sektor ist Prozess-basiert und nicht nur Produkt-orientiert, daher ist die Art und Weise der Züchtung ebenfalls wichtig!  
(Äquivalenz des Produkts oder Fehler eines Nachweises ist vielfach gegeben für Bio vs. Konv. Produkte)

- Wie kann die Wahlfreiheit für Landwirte und Konsumenten garantiert werden, wenn die Sorten nicht reguliert und keine gesetzliche Kennzeichnungspflicht eingeführt wird?
- Wie stellt man sicher, dass den Bioproduzenten genügend Sorten zur Verfügung stehen, wenn diese Techniken routinemässig eingesetzt werden?
- Welches Ausgangsmaterial steht den Biozüchtern, die diese Techniken nicht anwenden wollen, in Zukunft noch zur Verfügung?
- Wie stellt man sicher, dass nicht alles Zuchtmaterial mit diesen Techniken verändert wird?
- Wie kann man Transparenz & Rückverfolgbarkeit durchsetzen?

# Bio-Pflanzenzüchtung – neue Konzepte

## › Nutzung der Biodiversität

- › Composite Cross Populationen / Sortenmischungen
- › Offenabblühende Populationen statt homogene Hybriden
- › Züchtung auf Mischkultureignung
- › Einbezug des Bodenmikrobioms

## › Partizipative Züchtung / Systemzüchtung

Vorangetrieben durch Zusammenschluss

- › der Landwirte: dezentrale Züchtung (moderne Landrassen)
- › der gesamten Wertschöpfungskette oder Gemeinschaften
- › Integration verschiedenster Strategien (Systemzüchtung)

## › Wertschätzung & Wertschöpfung

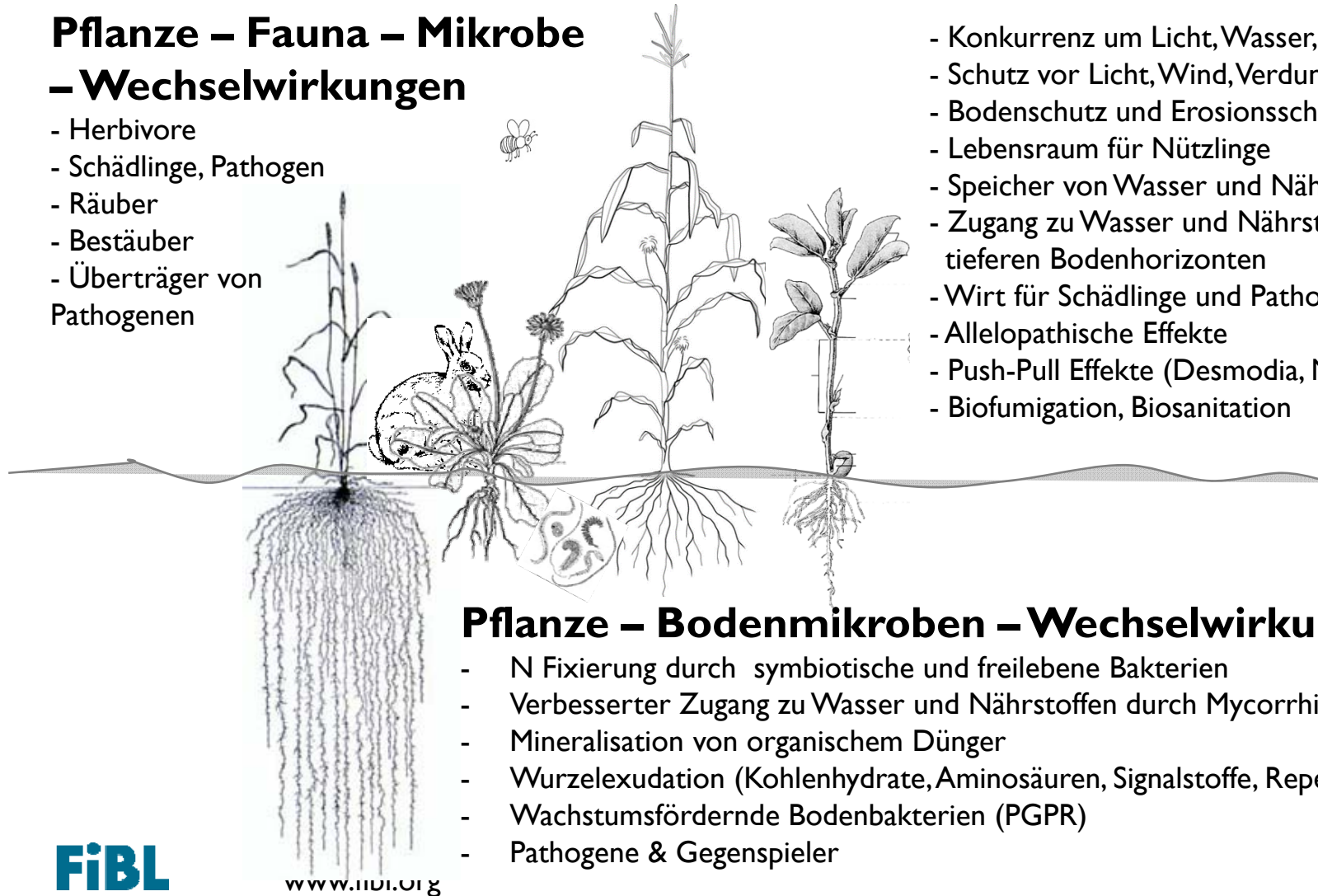
- › Neue Modelle der Züchtungsfinanzierung
- › Ownership und aktive Partizipation des Sektors
- › Saatgut als Gemeingut / Copy Far Left Saatgut



# FiBL Strategie: Alternative Wege der biologischen Pflanzenzüchtung

## Pflanze – Fauna – Mikrobe – Wechselwirkungen

- Herbivore
- Schädlinge, Pathogen
- Räuber
- Bestäuber
- Überträger von Pathogenen



## Pflanzen – Pflanzen – Wechselwirkungen

- Konkurrenz um Licht, Wasser, Nährstoffe
- Schutz vor Licht, Wind, Verdunstung
- Bodenschutz und Erosionsschutz
- Lebensraum für Nützlinge
- Speicher von Wasser und Nährstoffen
- Zugang zu Wasser und Nährstoffen aus tieferen Bodenhorizonten
- Wirt für Schädlinge und Pathogene
- Allelopathische Effekte
- Push-Pull Effekte (Desmodia, Napiergras)
- Biofumigation, Biosanitation

## Pflanze – Bodenmikroben – Wechselwirkungen

- N Fixierung durch symbiotische und freilebende Bakterien
- Verbessertes Zugang zu Wasser und Nährstoffen durch Mycorrhiza-Pilze
- Mineralisation von organischem Dünger
- Wurzelexudation (Kohlenhydrate, Aminosäuren, Signalstoffe, Repellents)
- Wachstumsfördernde Bodenbakterien (PGPR)
- Pathogene & Gegenspieler

# FiBL - Züchtungsstrategie

- Wissenschaftliche, methodische und organisatorische Unterstützung der Biozüchter und Information zum Thema Züchtung und Biosaatgut
- Züchtungsforschung von Merkmalen die speziell wichtig sind im Biolandbau (Samen und Bodenbürtige Krankheiten, Unkrautunterdrückung, Nährstoffeffizienz)
- Grundlagenforschung im Bereich Züchtung auf Mischkultureignung
- Grundlagenforschung im Bereich Pflanzen-Bodenbakterien Wechselwirkung (Erbsen – Bodenmüdigkeit)
- Vorstufenselektion von neuen Kulturarten, die wenig bearbeitet werden (weisse Lupine)
- Sortenprüfung unter Biobedingungen (Ackerkulturen, Gemüse, Obst)
- Unterstützung bei der Markteinführung (sozio-ökonomische Analysen)
- Gentechnik-freie Züchtung (partizipative Baumwolle in Indien)
- Förderung der Saatgutsouveränität

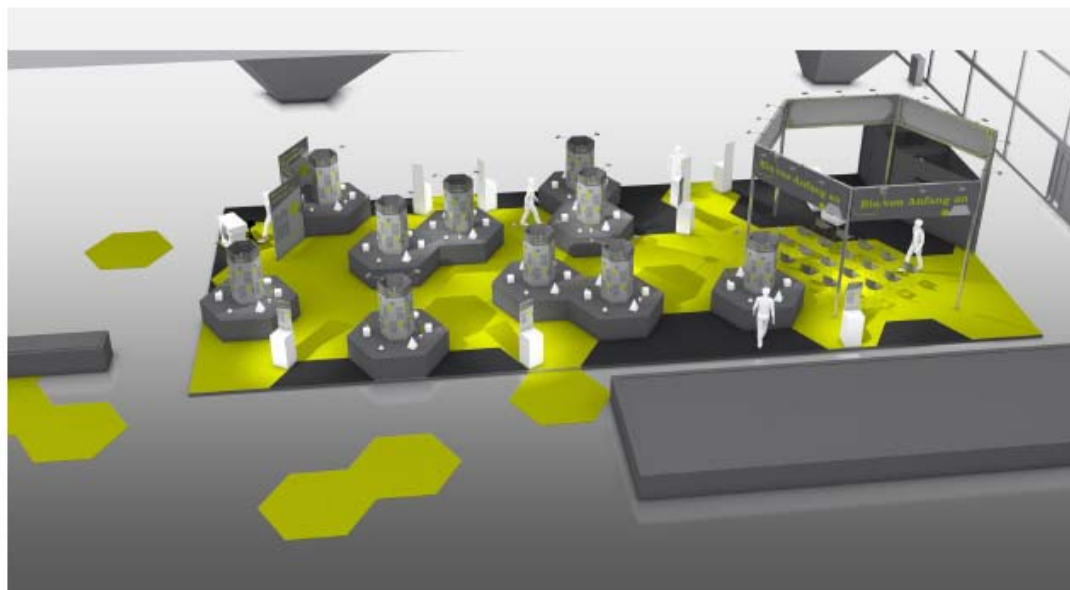
→ Kompetenzzentrum für Biozüchtung in Europa

# Bio von Anfang an

## Sonderausstellung zur Biozüchtung an der biofach Messe Nürnberg 14. – 17. Februar 2018

Auf 300 m<sup>2</sup> wird erstmalig die Biozüchtung (Pflanze & Tier) vorgestellt und Züchtungsthemen im Kongressprogramm erörtert

- Bedeutung der Biozüchtung untermauern
- Alternativen und positive Beispiele aufzeigen
- Züchtung mit der Wertschöpfungskette verbinden
- Bewusstsein für die Bedeutung unserer Sorten und Nutztierassen schaffen



# Weiter Infos zu Züchtungstechnologie

<https://shop.fibl.org/nc/de/shop-suche.html>



Normal people just see a seed:



Gardeners see the dreams within:



*Joseph Tychonievich*

**Vielen Dank für  
Ihre  
Aufmerksamkeit**