



www.efbs.admin.ch



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Swiss Confederation

Eidgenössische Fachkommission für biologische Sicherheit EFBS
Commission fédérale d'experts pour la sécurité biologique CFSB
Commissione federale per la sicurezza biologica CFSB
Cumissiun federala per la segirezza biologica CFSB

Swiss Expert Committee for Biosafety SECB

CH-3003 Bern
EFBS

POST CH AG

Bernadette Guenot
Sektion Biotechnologie
Bundesamt für Umwelt
3003 Bern

Elektronisch an: bernadette.guenot@bafu.admin.ch

Aktenzeichen: BAFU-622.5-64873/1

Geschäftsfall:

Ihr Zeichen:

Bern, 20. August 2024

Gesuch B24001: Freisetzungsvorhaben mit TEGenesis-Winterweizen (ArinaTE)

Stellungnahme der EFBS

Sehr geehrte Frau Guenot, liebe Bernadette

Sehr geehrte Damen und Herren

Die EFBS ist am 21. März 2024 vom BAFU darüber vorinformiert worden, dass Agroscope ein Gesuch für die Freisetzung von gentechnisch verändertem Winterweizen erhalten hat, der mit der Transposon-basierten, ungezielten Mutagenese-Methode TEGenesis gezüchtet wurde. Etienne Bucher (Agroscope) hat der EFBS das Gesuch am 8. Mai 2024 zur Verfügung gestellt und es an der EFBS-Sitzung vom 16. Mai 2024 auch präsentiert.

Das Gesuch wurde am 26. Juni 2024 im Bundesblatt publiziert und der EFBS zur Stellungnahme zugeschickt.

Ausgangslage

Agroscope beantragt die Durchführung eines Freisetzungsvorhabens mit der Winterweizensorte ArinaTE, die mit der neuen Pflanzenzüchtung-Methode TEGenesis behandelt worden ist. Übergeordnetes Ziel der Forschung mit ArinaTE-Linien ist, neue Weizensorten zu entwickeln, die resistent gegenüber verschiedenen Krankheiten sind, und die zugrunde liegenden molekularen Mechanismen zu untersuchen. Dies besonders mit Blick auf den Klimawandel und die Bestrebungen, den Einsatz von Pflanzenschutzmitteln in der Landwirtschaft zu reduzieren.

Eidgenössische Fachkommission für biologische Sicherheit
Monbijoustrasse 40, 3003 Bern
Tel.: +41 58 460 52 38 / Tel. +41 58 46 323 12
info@efbs.admin.ch
www.efbs.admin.ch



In diesem Freisetzungsversuch sollen erstmals in der Schweiz Pflanzen freigesetzt werden, die mittels TEgenesis hergestellt worden sind, eine Methode, die zwar als Mutageneseverfahren eingestuft wird, aufgrund der (vermeintlich?) fehlenden *history of safe use* im Gegensatz zur klassischen Mutagenese jedoch nicht aus dem Geltungsbereich der Freisetzungsverordnung (FrSV) ausgenommen ist.

TEgenesis zielt darauf ab, die Aktivierung von endogenen Transposons zu beschleunigen und bedient sich dazu zweier Substanzen - eines synthetischen Nukleosidanaloges von Cytidin (Zebularin) und eines Inhibitors der RNA Polymerase II (als Molekül X bezeichnet) -, die das Silencing von Transposons epigenetisch inhibieren: Zebularin hemmt direkt DNA-Methyltransferasen, so dass die DNA nicht mehr methyliert und somit die Transkription nicht länger blockiert wird – die DNA wird erneut abgelesen und die Transposons aktiviert. Molekül X entspricht in seiner Wirkung dem ursprünglich verwendeten α -Amanitin, einem natürlichen RNA Polymerase II-Inhibitor aus dem Knollenblätterpilz. Molekül X [REDACTED] ist für den Menschen um ein Vielfaches weniger toxisch als α -Amanitin, zeigt aber die gleiche Wirkung: Indem es die RNA Polymerase II hemmt, kann diese Transposons nicht mehr post-transkriptionell stilllegen und sie werden wieder exprimiert. In Kombination mit abiotischen Stressfaktoren wie Hitze, Kälte, Salz oder Trockenheit werden dadurch endogene Transposons mobilisiert und es entstehen Pflanzen mit unterschiedlichen genotypischen und phänotypischen Veränderungen. Die stärkste Aktivierung von Transposons wurde in Kombination mit Hitzestress erzielt. Die Methode wurde publiziert¹ und ist auch patentiert.

Resultate des im Rahmen des EU-Projektes BUNGEE hergestellten ArinaTE-Weizens zeigen, dass durch die Behandlung mit TEgenesis das Transposon *Helitron* H1 mobilisiert werden kann, was sich via extrachromosomaler zirkulärer DNA (eccDNA)² nachweisen lässt; diese amplifiziert sich und kann sequenziert werden. *Helitrons* gehören zur Gruppe der *copy-paste*-Transposons, die sich via *rolling circle replication* an neuen Stellen im Genom integrieren. Vergleiche der sequenzierten ArinaTE-Linien mit Kontrolllinien zeigen weiter, dass Transposons auch in letzteren aktiv sind, was die natürliche Plastizität des Genoms bestätigt.

Ausgangs-Weizensorte ist Arina, eine in der Schweiz zugelassene Winterweizensorte, die grossflächig kommerziell angebaut wird. Die Sorte wurde im Labor mit TEgenesis behandelt (M0) und nach Selbstung (M1) im Gewächshaus untersucht. Verschiedene interessante Phänotypen wurden erneut geselbstet (M2). Im beantragten Versuch soll eine Arina-TE Population untersucht werden, die aus rund 900 Linien besteht. Verwendet wird dazu das im Gewächshaus hergestellte M2-Saatgut. Im Gegensatz zu Freisetzungsversuchen mit «klassischen» GVO sind die einzelnen Pflanzen nicht molekular charakterisiert. Das Versuchsdesign sieht sowohl Einzelreihen als auch Mikro- und Makroparzellen vor. Letztere sollen nur für Arina-TE-M3-Linien verwendet werden, die im Freiland untersucht worden sind. Im ersten Versuchsjahr sollen folglich nur ArinaTE-M2-Linien angebaut werden.

Als Kontrollen werden sowohl Wildtyp-Arina-Weizen als auch mit klassischen Mutagenen behandelte Arina-Linien verwendet.

Verschiedene der ArinaTE-M2-Linien, die jeweils von einer einzelnen Pflanze abstammen, die mit TEgenesis behandelt worden ist, zeigten im Gewächshaus eine erhöhte Resistenz gegenüber Mehltau, was mit einer veränderten Expression des Lipoxygenase-Gens korreliert.

Die Gesuchsteller möchten im Freiland nun folgende Fragestellungen angehen:

1. Resistenzen gegen Echten Mehltau, Septoria, Gelb- und Braunrost untersuchen.
2. ArinaTE-Weizenlinien mit multiplen Resistenzen identifizieren.

¹ Thieme M, Lanciano S, Balzergue S, Daccord N, Mirouze M, Bucher E. Inhibition of RNA polymerase II allows controlled mobilisation of retrotransposons for plant breeding. *Genome Biol.* 2017 Jul 7;18(1):134. <https://doi.org/10.1186/s13059-017-1265-4>

² Haoran Peng, Marie Mirouze, Etienne Bucher, Extrachromosomal circular DNA: A neglected nucleic acid molecule in plants, *Current Opinion in Plant Biology*, Volume 69, 2022, 102263, ISSN 1369-5266, <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2022.102263>.

3. Häufigkeiten von Mehltaresistenzen aus Versuchen im Gewächshaus und im Freiland miteinander vergleichen.
4. Morphologische Eigenschaften und Ertragskomponenten analysieren.
5. Als Kontrollpflanzen wird neben unbehandeltem Arina-Weizen auch mit klassischer Mutagenese behandelter Arina-Weizen angebaut: Ein weiteres Ziel ist daher, verschiedene Mutageneseverfahren und deren Auswirkungen auf phänotypischer Ebene zu vergleichen. Ein Vergleich auf Genomebene, die es ermöglichen würde, die genetischen Veränderungen zu quantifizieren und zu qualifizieren, wird ebenfalls als sehr interessant eingestuft, ist aber mit zusätzlichen Kosten verbunden.
6. Phänotypisch interessante ArinaTE-Linien im Gewächshaus und / oder Freiland zu kreuzen und hybride Nachkommen im Freiland zu testen.

Die phänotypische Untersuchung der Pflanzen soll zusätzlich dazu beitragen, potentiell biosicherheitsrelevante Eigenschaften zu entdecken, beispielsweise morphologische Veränderungen der Blüten, welche zu einer erhöhten Pollenfreisetzung führen und damit das Risiko für Auskreuzungen vergrößern könnten.

Der Versuch soll von Herbst 2024 bis Herbst 2029 auf der Protected Site stattfinden, wobei u.a. folgende Sicherheitsmassnahmen getroffen werden:

- 2m hoher Doppelzaun, Zutrittsbeschränkung, professionelles Sicherheitspersonal etc.
- Isolationsabstand von 50m zu Feldern mit Anbau von Weizen, Roggen oder Triticale (kommerzieller Anbau, Versuche, Saatgutvermehrung)
- Triticale-Mantelsaat von 2.6m Breite
- Vor der Blüte Isolieren oder Entfernen der Ähren von Weizenpflanzen, die die Mantelsaat überragen
- Vogelnetze zum Schutz vor Vogelfrass nach der Aussaat und vor der Ernte
- Durchwuchskontrolle, in und 12m um die Versuchsfläche
- Reinigung der Maschinen, Geräte, Schuhe etc. vor Verlassen der Versuchsfelder
- Gesicherter Transport und Abfallentsorgung

Überlegungen der EFBS

Auskreuzungspotential und Monitoring

Weizen ist eine hochgradig selbstbefruchtende Art mit einer sehr geringen Fremdbefruchtungsrate von unter einem Prozent, was auch an den kleistogamen Blüten des Weizens liegt. Das Auskreuzungspotential hängt unter anderem von der Grösse der Pollenquelle ab und kann je nach Umweltbedingungen lokal variieren. Im Rahmen der Versuche soll unter anderem untersucht werden, ob bei den Arina-TE-Pflanzen Veränderungen in den Blüten zu beobachten sind, die eine Auskreuzungswahrscheinlichkeit erhöhen könnten; gemessen wird auch die Pollenmenge. Die Mantelsaat, die aus hochwachsendem Triticale besteht, sollte eine Auskreuzung weiter minimieren. Die EFBS hält die vorgeschlagene Massnahme für sehr sinnvoll, dass Ähren von Arina-TE-Pflanzen, die die Mantelsaat überragen, vor der Blüte entweder eingetütet oder entfernt werden. Eine mögliche Auskreuzung der Arina-TE-Pflanzen lässt sich nicht nachweisen, da es sich nicht um klassische GVO handelt, bei denen ein spezifisches (Trans-)Gen vorliegt. Ein Monitoring im herkömmlichen Sinne ist daher nicht möglich. Die EFBS teilt jedoch die Einschätzung des Gesuchstellers, dass Arina-TE-Pflanzen keine Mutationen aufweisen, die nicht auch natürlicherweise in einer Arina-Population vorkommen könnten. Die biologische Sicherheit wäre also auch bei einer allfälligen Auskreuzung nicht gefährdet. Die EFBS hält es für sehr interessant, dass auch mit klassischer Mutagenese erzeugte Arina-Pflanzen als Kontrolle eingesetzt werden sollen. Sie würde es begrüßen, wenn diese mit unterschiedlichen Zuchtmethoden erzeugten Pflanzen auch auf Ebene des Genoms untersucht und die genetischen Veränderungen quantifiziert und qualifiziert werden könnten.

Induzierte Veränderungen

Bei der Anwendung von TEgenesis war die Mobilisierung von Transposons insbesondere nach einer Hitzestressinduktion erfolgreich. Krankheitserreger sind dagegen nicht als Stressoren verwendet worden. Weshalb dennoch Resistenzen gegenüber Krankheitserregern induziert worden sind, ist nicht bekannt. Mögliche Mechanismen könnten aber epigenetische Veränderungen des Genoms und eine Re-Aktivierung von Resistenzgenen sein. Im Gesuch beschrieben und gezeigt ist die Aktivierung des Transposons *Helitron* H1. Die EFBS möchte darauf aufmerksam machen, dass TEgenesis auch andere als die beschriebenen epigenetischen Veränderungen auslösen und weitere Transposons aktivieren könnte, die mit der verwendeten Methode nicht nachweisbar sind, weil sie beispielsweise keine zirkuläre DNA bilden. Dies könnte aus ihrer Sicht auch bei den Arina-TE-Linien der Fall sein, die ja nicht einzeln molekular charakterisiert sind. Weitere Transposon-Aktivierungen zu untersuchen wäre jedoch sehr aufwändig, da das Weizengenom sehr gross ist und eine komplette Sequenzierung jedes einzelnen Genoms einen unverhältnismässig hohen Aufwand bedeuten würde. Wie bereits oben erwähnt, geht die EFBS nicht davon aus, dass Mutationen entstehen könnten, die negative Auswirkungen auf die biologische Sicherheit hätten.

Stabilität der induzierten Mutationen

Transposons zeichnen sich dadurch aus, dass sie im Genom «herumspringen». Die EFBS hält es einerseits für die Aussagekraft der Freisetzungsversuche und andererseits auch mit Blick auf eine mögliche Weiterentwicklung einer kommerziell nutzbaren Sorte für wichtig, dass mit TEgenesis generierte Pflanzen genetisch stabil sind. Dies ist bei dem mit TEgenesis induzierten *Helitron* Transposon deshalb der Fall, weil es sich um ein so genanntes Retrotransposon handelt, das sich via *Copy-paste*-Mechanismus an neue Stellen ins Genom kopiert und, im Gegensatz zum *Cut-and-paste*-Mechanismus, anschliessend nicht erneut ausgeschnitten wird. Die Stabilität konnte über drei Generationen hinweg gezeigt werden. Für eine Sortenzulassung muss geprüft werden, ob die Sorte in ihren morphologischen und phänologischen Eigenschaften unterscheidbar zu allen bekannten Sorten, homogen und beständig ist³. Diese Anforderung ist unabhängig von der zur Herstellung der Sorte verwendeten Methode und würde auch bei einer allfälligen Kommerzialisierung von TEgenesis-Pflanzen geprüft werden.

Regulatorische Aspekte

Die EFBS hatte bereits in ihrer 2020 publizierten «Ansicht zu TEgenesis⁴» dafür plädiert, dass mittels TEgenesis gezüchtete Pflanzen nicht als gentechnisch veränderte Organismen gelten sollten. Sie hatte dies u.a. damit begründet, dass TEgenesis aus ihrer Sicht nicht als Mutagenese im klassischen Sinn einzustufen ist, sondern vielmehr eine chemische Stimulation natürlich auftretender Vorgänge auf DNA-Ebene innerhalb der Pflanze darstellt. An dieser Ansicht hat sich seitdem nichts geändert, auch wenn die EFBS das 2021 erschienene Gutachten des Bundesamts für Justiz «L'applicabilité de l'exception de l'Annexe 1, al. 3, let. a ODE à la méthode 'TEgenesis' »⁵, zur Kenntnis genommen hat, das zum Schluss kommt, dass TEgenesis u.a. aufgrund einer fehlenden *history of safe use* nicht aus dem Geltungsbereich der FrSV ausgenommen werden kann und mit TEgenesis erzeugte Pflanzen somit als GVO im Sinne von Art. 5 Abs. 2 Gentechnikgesetz (GTG) gelten.

Einige der Überlegungen, die mit Blick auf die neuen gentechnischen Verfahren, für die Änderungen im GTG geplant sind, gemacht wurden, lassen sich auch auf TEgenesis übertragen. Bei beiden Ansätzen spielt beispielsweise für die rechtliche Einstufung die *history of safe use* eine zentrale Rolle. Wie die EFBS bereits bei früheren Gelegenheiten zum Ausdruck gebracht hat, kam bereits das NFP 59 zu «Chancen und Risiken der Freisetzung gentechnisch veränderter Pflanzen»⁶ zum Schluss, dass die

³ [SR 916.151 - Verordnung vom 7. Dezember 1998 über... | Fedlex \(admin.ch\)](#)

⁴ https://www.efbs.admin.ch/inhalte/dokumentation/Ansichten/D_Ansicht_EFBS_TEgenesis.pdf

⁵ https://www.bafu.admin.ch/dam/bafu/fr/dokumente/biotechnologie/rechtsgutachten/l-applicabilite-de-l-exception-de-l-annexe-1-ode--a-la-methode-tegenesis.pdf.download.pdf/Prise_de_position_Annexe_ODE.pdf

⁶ [NFP 59 "Nutzen und Risiken der Freisetzung genetisch veränderter Pflanzen" \(snf.ch\)](#)

Forschung keine speziell von der (klassischen) gentechnisch veränderten Pflanzen ausgehende Risiken für die Umwelt festgestellt hat. Dennoch sind die regulatorischen Hürden für die neuen Verfahren, die sowohl gegenüber der klassischen Mutagenese mit chemischen Substanzen oder radioaktiver Strahlung als auch gegenüber der klassischen Gentechnik (transgene Pflanzen) wesentlich schonender und zielgerichteter sind, nach wie vor sehr hoch.

Die EFBS betont nochmals, dass das GTG nicht dem Stand der Technik entspricht und auch für neue Methoden wie TEgenesis dringend risikobasiert angepasst werden sollte, zumal TEgenesis einen sanfteren Eingriff ins Genom darstellt als die klassischen Mutageneseverfahren und mögliche Auswirkungen tendenziell gleich oder geringer sind. Wäre TEgenesis vor 40 Jahren entwickelt worden, würde es heute auch als klassisches Mutageneseverfahren gelten, das von GTG und FrSV ausgenommen ist. Gerne möchten wir hier nochmals auf unsere Risikobewertung und die Schlussfolgerungen und Empfehlungen aus der «Ansicht zu TEgenesis» erinnern. Besonders wichtig wäre auch eine Konkretisierung und wissenschaftlich begründete sowie gesetzlich verankerte Definition des Begriffs *history of safe use*, die praktisch anwendbar ist und sich auch auf Weiterentwicklungen⁷ übertragen lässt: welche Anforderungen müssen eine Technologie, eine Methode und die damit entwickelten Pflanzen erfüllen, um den Status einer *history of safe use* zu erlangen?

Schlussfolgerungen der EFBS

Die EFBS hat in Bezug auf die biologische Sicherheit wenig Bedenken bei diesem Freisetzungsversuch. Der Versuch findet auf der Protected Site unter Einhaltung der oben aufgeführten Sicherheitsmassnahmen statt.

Im Gegensatz zu allen bisherigen Freisetzungsversuchen mit GVO gibt es keine Nachweismöglichkeiten und potentielle Auskreuzungen könnten nicht festgestellt werden. Da es aber mit Weizenanbau sehr viel Erfahrung gibt, Auskreuzungen aufgrund der hohen Selbstbestäubungsrate ohnehin eher selten sind, die üblichen Sicherheitsabstände eingehalten werden, die Ähren von Arina-TE-Pflanzen, die die Mantelsaat überragen, entweder vor der Blüte eingetütet oder entfernt werden und auch die Pollenmenge kontrolliert wird, hält die EFBS das Potential für Auskreuzungen und Gentransfer auf andere Kultur- und Wildarten für sehr gering.

Aus Sicht der EFBS ist TEgenesis eine sehr interessante Züchtungsmethode. Die mit TEgenesis erzeugte genetische Variabilität ist nützlich, um genetische Mechanismen zu untersuchen, die vielversprechenden Phänotypen zugrunde liegen. Dies setzt jedoch voraus, dass die Genome tatsächlich sequenziert und die genetischen Veränderungen qualifiziert und quantifiziert werden, was die EFBS begrüßen würde. Gerade mit Blick auf die Herausforderungen in der Landwirtschaft ist es äusserst wünschenswert, das methodische Spektrum zu erweitern und schneller Sorten zu entwickeln, die beispielsweise resistenter gegen Krankheiten oder toleranter gegenüber Hitze sind.

Die EFBS begrüsst es sehr, dass Agroscope trotz des damit verbundenen grossen Aufwands das vorliegende Freisetzungsgesuch eingereicht hat. Sie hält es für wichtig, dass solche Forschung nach wie vor auch in der Schweiz stattfindet und nicht nur in Ländern mit tieferen regulatorischen Hürden, darunter auch verschiedene europäische Länder. Wir möchten nochmals dringend dazu auffordern, das GTG auch für Methoden wie TEgenesis risikogerecht anzupassen und die Verwendung des Kriteriums einer *history of safe use* zu überdenken bzw. dergestalt zu konkretisieren, dass die Voraussetzungen klar sind, unter denen eine neue Methode und die damit gezüchteten Pflanzen zu einer *history of safe use* kommen kann.

Die EFBS hält das Risiko für Mensch, Tier und Umwelt für sehr klein und stimmt dem Freisetzungsversuch einstimmig zu.

⁷ Unter Weiterentwicklung versteht die EFBS beispielsweise die Verwendung einer neuen Substanz bei TEgenesis, die die Methode effizienter macht oder die weniger toxisch ist, wie der im Rahmen der beantragten Versuche verwendete Faktor X.

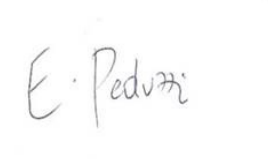
Bitte melden Sie sich, wenn Sie Fragen haben.

Freundliche Grüsse

Für die Eidgenössische Fachkommission für biologische Sicherheit EFBS



Prof. Jacques Schrenzel
Präsident



Dr. Elisabetta Peduzzi
Geschäftsführerin



Julia Link
wissenschaftliche Mitarbeiterin