

Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von
Aneurinibacillus migulanus* und *Paenibacillus polymyxa
als Spender- und Empfängerorganismen
gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV

Allgemeines

In Folge phylogenetischer Untersuchungen in den 1990er Jahren erfolgte eine taxonomische Neuordnung vieler Spezies des Genus *Bacillus*. Damit einhergehend wurden neue Genera beschrieben, darunter 1993 das Genus *Paenibacillus* [1] und 1996 das Genus *Aneurinibacillus* [2]. Beide Genera sind der Familie *Paenibacillaceae* zugeordnet.

Aneurinibacillus migulanus ist ein Gram-positives, bewegliches, strikt aerobes, stäbchenförmiges Bakterium, welches in der Lage ist, Endosporen zu bilden [2]. Die Spezies kommt weltweit in Böden, der Rhizosphäre von Pflanzen, sowie im menschlichen Darmtrakt und der marinen Gehörnten Turbanschnecke vor [2–4]. *A. migulanus* wächst bei Temperaturen zwischen 20 und 50 °C, bei einem pH-Wert von 5,0 bis 9,0 und bei Salzgehalten bis zu 2 % NaCl (w/v), wobei das Optimum bei 37 °C und einem pH-Wert von 7,0 liegt [2, 5]. Das Bakterium weist pflanzenwachstumsfördernde Eigenschaften auf [6], die u. a. auf die Produktion des Peptid-Antibiotikums Gramicidin S zurückzuführen sind [7, 8]. Die Genomsequenz einzelner Isolate liegt vor [9–11]. Basierend auf einem Abgleich mit der *Virulence Factor Database* (VFDB) [12] durch die ZKBS Geschäftsstelle konnten keine Virulenzfaktoren im Genom identifiziert werden. In den Technischen Regeln für Biologische Arbeitsstoffe (TRBA) 466 „Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea)“ wird *A. migulanus* der Risikogruppe 1 zugeordnet [13].

Paenibacillus polymyxa ist ein Gram-positives, bewegliches, stickstofffixierendes, fakultativ anaerobes, stäbchenförmiges Bakterium, welches in der Lage ist, Endosporen zu bilden [1]. Die Spezies kommt weltweit in Böden, marinen Sedimenten und der Rhizosphäre von Pflanzen vor [14]. Bei einer Patientin, die aufgrund ihres hohen Alters (93 Jahre) als abwehrgeschwächt anzusehen ist, wurde das Bakterium als Erreger einer Bakteriämie beschrieben, wobei eine Infektion über Hautverletzungen bei Gartenarbeiten postuliert wurde [15]. Ein Abgleich mit der VFDB [12] durch die ZKBS Geschäftsstelle zeigt, dass im Genom von *P. polymyxa* einzelne mit Adhärenz assoziierte Virulenzfaktoren vorliegen [16, 17]. *In vitro*-Untersuchungen zum Überleben probiotischer *P. polymyxa*-Stämme in einer simulierten Verdauungstraktumgebung zeigten eine schwache Adhärenz des Bakteriums an humane Enterozyten [18]. *P. polymyxa* wird als probiotischer Futtermittelzusatz für Geflügel sowie in Aquakulturen von Weißfußgarnelen und dem Nördlichen Wittling eingesetzt [19–23]. Das Bakterium weist auch pflan-

zenwachstumsfördernde Eigenschaften auf [14, 24]. Einzelne Stämme zeigen in Laboruntersuchungen schwach phytopathogene Eigenschaften gegenüber Acker-Schmalwand, Ficus und Weizen, die u. a. auf die Biofilmbildung an der aktiven Wurzelspitze und einer damit einhergehenden Störung des Wurzelwachstums zurückgehen [25–28]. In den Technischen Regeln für Biologische Arbeitsstoffe (TRBA) 466 „Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea)“ wird *Paenibacillus polymyxa* der Risikogruppe 1 zugeordnet [13].

Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien in Anlage 1 GenTSV werden *Aneurinibacillus migulanus* und *Paenibacillus polymyxa* als Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 1** zugeordnet.

Begründung

Für *A. migulanus* und *P. polymyxa* liegen bisher keine wissenschaftlich fundierten Hinweise auf ein Gefährdungspotenzial für abwehrgesunde Menschen und Tiere vor.

Für einzelne Stämme von *P. polymyxa* sind schwach phytopathogene Eigenschaften beschrieben. Da das Bakterium bereits in Deutschland und direkt angrenzenden Ländern verbreitet ist erfolgt gemäß der Stellungnahme der ZKBS zu Kriterien der Bewertung und der Einstufung von Pflanzenviren, phytopathogenen Pilzen und phytopathogenen Bakterien als Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten (Az. 6790-10-53) vom April 2007 keine Zuordnung in eine höhere Risikogruppe.

Literatur

1. **Ash C, Priest FG, Collins MD** (1993). Molecular identification of rRNA group 3 bacilli (Ash, Farrow, Wallbanks and Collins) using a PCR probe test. Proposal for the creation of a new genus *Paenibacillus*. *Antonie Van Leeuwenhoek* **64**(3-4):253–60.
2. **Shida O, Takagi H, Kadowaki K, Komagata K** (1996). Proposal for two new genera, *Brevibacillus* gen. nov. and *Aneurinibacillus* gen. nov. *Int J Syst Bacteriol* **46**(4):939–46.
3. **Shida O, Takagi H, Kadowaki K, Yano H, Abe M, Udaka S, Komagata K** (1994). *Bacillus aneurinolyticus* sp. nov., nom. rev. *Int J Syst Bacteriol* **44**(1):143–50.
4. **Hafsari AR, Purnawan L** (2020). Molecular Identification and Phylogenic Analysis of Phosphate Solubilizing Bacteria *Aneurinibacillus migulanus* From Rhizosphere *Imperata Cylindrica*, Karst Cistatah, Bandung Barat, Jawa Barat, Indonesia. *J. Phys.: Conf. Ser.* **1665**(1):1–6.
5. **Takagi H, Shida O, Kadowaki K, Komagata K, Udaka S** (1993). Characterization of *Bacillus brevis* with descriptions of *Bacillus migulanus* sp. nov., *Bacillus choshinensis* sp. nov., *Bacillus parabrevis* sp. nov., and *Bacillus galactophilus* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol* **43**(2):221–31.
6. **Asogwa LK, C. Ogbo F** (2021). Plant Growth Promotion and Biocontrol Properties of *Aneurinibacillus migulanus* Isolated from Maize Roots (*Zea mays*). *JAMB*:46–59.
7. **Alenezi FN, Rekik I, Chenari Bouket A, Luptakova L, Weitz HJ, Rateb ME, Jaspars M, Woodward S, Belbahri L** (2017). Increased Biological Activity of *Aneurinibacillus migulanus* Strains Correlates with the Production of New Gramicidin Secondary Metabolites. *Front Microbiol* **8**:1–10.
8. **Alenezi FN, Bouket AC, Cherif-Silini H, Silini A, Jaspars M, Oszako T, Belbahri L** (2022). Loss of Gramicidin Biosynthesis in Gram-Positive Biocontrol Bacterium *Aneurinibacillus migulanus*

- (Takagi et al., 1993) Shida et al. 1996 Emend Heyndrickx et al., 1997 Nagano Impairs Its Biological Control Ability of *Phytophthora*. *Forests* **13**(4):1–11.
9. **Alenezi FN, Weitz HJ, Belbahri L, Ben Rebah H, Luptakova L, Jaspars M, Woodward S** (2015). Draft Genome Sequence of *Aneurinibacillus migulanus* Strain Nagano. *Genome Announc* **3**(2):1.
 10. **Belbahri L, Alenezi FN, Luptakova L, Rateb ME, Woodward S** (2015). Complete Genome Sequence of *Aneurinibacillus migulanus* E1, a Gramicidin S- and d-Phenylalanyl-L-Propyl Diketopiperazine-Deficient Mutant. *Genome Announc* **3**(6):1–2.
 11. **Wang J-P, Liu B, Liu G-H, Ge C-B, Xiao R-F, Zheng X-F, Shi H** (2015). High-Quality Draft Genome Sequence of *Aneurinibacillus migulanus* ATCC 9999T (DSM 2895), a Gramicidin S-Producing Bacterium Isolated from Garden Soil. *Genome Announc* **3**(5):1–2.
 12. **Liu B, Zheng D, Zhou S, Chen L, Yang J** (2022). VFDB 2022: a general classification scheme for bacterial virulence factors. *Nucleic Acids Res* **50**(D1):D912-D917; Abgleich mit VFDB erfolgte am 21.11.2024.
 13. **TRBA 466** (2015). Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea) in Risikogruppen <https://www.baua.de/DE/Angebote/Regelwerk/TRBA/TRBA-466>. Besucht am 15.10.2024.
 14. **Lal S, Tabacchioni S** (2009). Ecology and biotechnological potential of *Paenibacillus polymyxa*: a minireview. *Indian J Microbiol* **49**(1):2–10.
 15. **Nasu Y, Nosaka Y, Otsuka Y, Tsuruga T, Nakajima M, Watanabe Y, Jin M** (2003). A case of *Paenibacillus polymyxa* bacteremia in a patient with cerebral infarction. *Kansenshogaku Zasshi* **77**(10):844–8.
 16. **Kim JF, Jeong H, Park S-Y, Kim S-B, Park YK, Choi S-K, Ryu C-M, Hur C-G, Ghim S-Y, Oh TK, Kim JJ, Park CS, Park S-H** (2010). Genome sequence of the polymyxin-producing plant-probiotic rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* E681. *J Bacteriol* **192**(22):6103–4.
 17. **Soni R, Nanjani S, Keharia H** (2021). Genome analysis reveals probiotic propensities of *Paenibacillus polymyxa* HK4. *Genomics* **113**(1 Pt 2):861–73.
 18. **Naghmouchi K, Baah J, Cudennec B, Drider D** (2013). Required characteristics of *Paenibacillus polymyxa* JB-0501 as potential probiotic. *Arch Microbiol* **195**(8):537–43.
 19. **Alagawany M, Madkour M, El-Saadony MT, Reda FM** (2021). *Paenibacillus polymyxa* (LM31) as a new feed additive: Antioxidant and antimicrobial activity and its effects on growth, blood biochemistry, and intestinal bacterial populations of growing Japanese quail. *Animal Feed Science and Technology* **276**(2):1–12.
 20. **Amoah K, Dong X-h, Tan B-p, Zhang S, Chi S-y, Yang Q-h, Liu H-y, Yang Y-z, Zhang H** (2021). Effects of three probiotic strains (*Bacillus coagulans*, *B. licheniformis* and *Paenibacillus polymyxa*) on growth, immune response, gut morphology and microbiota, and resistance against *Vibrio harveyi* of northern whittings, *Sillago sihama* Forsskål (1775). *Animal Feed Science and Technology* **277**(1):1–19.
 21. **Wang B, Gong L, Zhou Y, Tang L, Zeng Z, Wang Q, Zou P, Yu D, Li W** (2021). Probiotic *Paenibacillus polymyxa* 10 and *Lactobacillus plantarum* 16 enhance growth performance of broilers by improving the intestinal health. *Anim Nutr* **7**(3):829–40.
 22. **Zhou L, Abouelezz K, Momenah MA, Bajaber MA, Baazaoui N, Taha TF, Awad AE, Alamoudi SA, Beyari EA, Alanazi YF, Allohibi A, Saad AM** (2024). Dietary *Paenibacillus polymyxa* AM20 as a new probiotic: Improving effects on IR broiler growth performance, hepatosomatic index, thyroid hormones, lipid profile, immune response, antioxidant parameters, and caecal microorganisms. *Poult Sci* **103**(2):1–12.
 23. **Amoah K, Huang Q-c, Dong X-h, Tan B-p, Zhang S, Chi S-y, Yang Q-h, Liu H-y, Yang Y-z** (2020). *Paenibacillus polymyxa* improves the growth, immune and antioxidant activity, intestinal health, and disease resistance in *Litopenaeus vannamei* challenged with *Vibrio parahaemolyticus*. *Aquaculture* **518**:1–17.

24. **Langendries S, Goormachtig S** (2021). *Paenibacillus polymyxa*, a Jack of all trades. *Environ Microbiol* **23**(10):5659–69.
25. **Timmusk S, Wagner EG** (1999). The plant-growth-promoting rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* induces changes in *Arabidopsis thaliana* gene expression: a possible connection between biotic and abiotic stress responses. *Mol Plant Microbe Interact* **12**(11):951–9.
26. **Timmusk S, Grantcharova N, Wagner EGH** (2005). *Paenibacillus polymyxa* invades plant roots and forms biofilms. *Appl Environ Microbiol* **71**(11):7292–300.
27. **Lindberg T, Granhall U, Tomenius K** (1985). Infectivity and acetylene reduction of diazotrophic rhizosphere bacteria in wheat (*Triticum aestivum*) seedlings under gnotobiotic conditions. *Biol Fert Soils* **1**(3):123–9.
28. **Maes M, Baeyen S** (2003). Experiences and perspectives for the use of a *Paenibacillus* strain as a plant protectant. *Commun Agric Appl Biol Sci* **68**(4 Pt B):457–62.