

# **Einkreuzung transgener Eigenschaften aus Mais in benachbarte nicht-transgene Felder und Etablierung von Methoden zur Quantifizierung transgener Kontaminationen im Erntegut**

Joachim Schiemann<sup>1</sup> und Peter Zwirger<sup>2</sup>

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft (BBA),

<sup>1</sup>Institut für Pflanzenvirologie, Mikrobiologie und biologische Sicherheit,

<sup>2</sup>Institut für Unkrautforschung,

Messeweg 11/12, 38104 Braunschweig

## **Zusammenfassung**

Die Einkreuzung von Transgenen soll unter praxisüblichen Bedingungen des großflächigen Anbaus quantifiziert werden. Die Anbauversuche werden mit herbizidtolerantem Mais, für den eine Genehmigung zum Inverkehrbringen vorliegt, durchgeführt. Die hier modellhaft zu gewinnenden Erkenntnisse sind eine wichtige Grundlage für die Sicherheitsbewertung der Einkreuzung anderer transgener Eigenschaften mit einem höheren Risikopotential. Es werden PCR-abgeleitete Methoden, die eine Quantifizierung erlauben, etabliert und auf ihre praktische Anwendbarkeit überprüft.

## **Abstract**

The aim of the project is to quantify outcrossing of transgenes as it is to be expected under large-scale cultivation conditions. The tests will be made on herbicide tolerant maize approved for the market. The results obtained from these model-scale tests will serve as a basis for the safety evaluation of outcrossing events of other transgenic traits possibly meaning an increased risk. PCR-based methods appropriate for the quantification of results will be established and tested for their applicability.

## **Einleitung**

Durch den großflächigen kommerziellen Anbau transgener Pflanzen wird es zwangsläufig zur Einkreuzung transgener Eigenschaften in benachbarten Anbauflächen kommen. Dies wird insbesondere für Betriebe, die ihre Produkte als „Gentechnikfrei“ vermarkten wollen, zu Problemen führen. Im Sinne einer pränormativen Forschung ist es daher unerlässlich, die Einkreuzung von Transgenen unter praxisüblichen Bedingungen des großflächigen Anbaus zu quantifizieren. Aufgrund der gewonnenen Daten können Abschirmungsmaßnahmen oder Grenzwerte definiert werden. Weiterhin sollen Methoden etabliert werden, die eine einfache und reproduzierbare Überprüfung der Maßnahmen und Grenzwerte ermöglichen. Im Rahmen von großflächigen Anbauversuchen von herbizidtolerantem Mais (für den eine Genehmigung zum Inverkehrbringen vorliegt) auf dem Versuchsbetrieb der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft

(BBA) sollen die Einkreuzungsfrequenzen der Transgene in Abhängigkeit von der Entfernung zu den transgenen Anbauflächen modellhaft bestimmt werden. Gleichzeitig werden PCR-abgeleitete Methoden, die eine Quantifizierung erlauben, etabliert und anhand des gewonnenen Erntegutes auf ihre praktische Anwendbarkeit überprüft. Die anhand der transgenen Eigenschaft Herbizidtoleranz modellhaft zu gewinnenden Erkenntnisse sind eine wichtige Grundlage für die Sicherheitsbewertung der Einkreuzung anderer transgener Eigenschaften mit einem höheren Risikopotential.

## Projektbeschreibung

Neuere Untersuchungen zur Pollenverbreitung und zum Auskreuzungsverhalten von z.B. herbizidtolerantem Winterraps auf nicht-transgenen Raps lassen vermuten, dass sich bei einem großflächigen kommerziellen Anbau die Verbreitung der transgenen Eigenschaften durch den Pollen - auch über größere Distanzen - nicht wirkungsvoll einschränken lässt (Timmons et al., 1995; Feldmann et al., 1998; Pfeilstetter et al., 1999). Dies wird besonders dann zu Problemen führen, wenn das Erntegut oder daraus hergestellte Lebensmittel als „Gentechnikfrei“ vermarktet werden sollen. Davon betroffen ist u.a. der ökologische Landbau. Hier wird für die erzeugten landwirtschaftlichen Produkte die völlige Freiheit von Transgenen gefordert, und dies soll den Verbrauchern auch in Zukunft garantiert werden. Für Betriebe, die ihre eigenen Produkte von Nahrungsmitteln, die mit Hilfe der Gentechnik erzeugt wurden, abgrenzen wollen, könnte es durchaus sinnvoll sein, maximal zulässige Mengen an Kontaminationen durch Transgene festzulegen.

Voraussetzungen zur Festlegung derartiger Grenzwerte sind:

- a) Daten über das Einkreuzungsverhalten transgener Eigenschaften bei Mais in nicht-transgene Bestände unter den Bedingungen eines großflächigen Anbaus,
- b) empfindliche Methoden zum Nachweis von Fremd-DNA, die sich im Labor standardisieren lassen und quantitative Aussagen ermöglichen.

Innerhalb des beantragten Projektes wird Punkt a) durch einen 2-jährigen Feldversuch mit inverkehrgebrachtem herbizidtolerantem Mais auf dem Versuchsbetrieb der BBA bearbeitet. Für die Arbeiten unter Punkt b) kann auf bereits existierende Methoden zum PCR-Nachweis verschiedener Transgene in Pflanzenmaterial zurückgegriffen werden.

Folgende Ziele sollen im Rahmen der Projektbearbeitung erreicht werden:

- Erfassung der Einkreuzung transgener Eigenschaften aus großen transgenen Feldern in benachbarte nicht-transgene Flächen durch Beprobung der nicht-transgenen Felder in gestaffelten Distanzen, ausgehend von dem der transgenen Fläche zugewandten Feldrand;
- Erhebung der Daten zur Einkreuzung beispielhaft an herbizidtolerantem Mais (ausschließlich fremdbefruchtend);
- Abschätzung der Möglichkeiten eines „Schutzstreifen-Konzeptes“;
- Bestimmung der Möglichkeiten und Grenzen quantitativer PCR-Verfahren anhand standardisierter Laborversuche;

- Quantifizierung der Kontamination des Erntegutes mit transgenen Samen in Abhängigkeit von der vorherrschenden Windrichtung und unterschiedlichen Distanzen zum transgenen Feld mittels quantitativer PCR-Verfahren;
- Erarbeitung und Erprobung von Methoden sowie Schaffung einer Datenbasis für ein Konzept zur Festlegung von Grenzwerten bzw. Höchstmengen transgener Kontaminationen in z.B. ökologisch produziertem Erntegut.

Zur Bestimmung des Einkreuzungsverhaltens wird ein 2-jähriger Feldversuch unter praxisüblichen Bedingungen in den Jahren 2000 und 2001 durchgeführt. Die gesamte Anbautechnik (Saat, Düngung, Pflanzenschutz, Ernte) erfolgt praxisüblich. Die Aussaat wird Ende April/Anfang Mai, die Ernte Ende Oktober durchgeführt. Es erfolgt eine Probenahme von Einzelpflanzen per Hand. Bei nicht genügender Reife des Erntegutes erfolgt ein Nachtrocknen der Samen. Die Schlaggröße beträgt 4-5 ha. Das Kernstück des Versuchsfeldes stellt eine 1 ha (100 m x 100 m) große Parzelle mit transgenem Mais dar. Diese Parzelle ist von einem ca. 1,5 m breiten Weg umgeben und eingebettet in einen 50 m breiten Streifen von nicht-transgenem Mais. Das Einmessen der Parzellen und Teilstreifen erfolgt mit Hilfe eines GPS (global positioning system). Die Beprobung erfolgt in den Teilstreifen in einem festen Raster. Ausgehend vom transgenen Kern erfolgt im Abstand von 1,5; 3; 6; 12; 24 und 48 m eine Probenahme, wobei in jedem Streifen um den Kern insgesamt 16 Probestellen gleichmäßig verteilt werden (= 96 Probestellen). Eine Probe umfasst 5 Maispflanzen. Zur Ernte wird von jeder der besagten Pflanzen der größte Kolben abgebrochen, bis zur Druschreife getrocknet und gedroschen. Pro Kolben wird mit ca. 500 Samen gerechnet. Die vorhandene Probenmenge von ca. 2.500 Samen je Probe muss vor der weiteren Untersuchung (Keimungstest) eingeeengt werden. Es wird unterstellt, dass in der ersten Reihe die Einkreuzung bei durchschnittlich 25% liegt. Im Sinne der Hypothesenfindung sollen pro Untersuchung 20 Samen die transgene Eigenschaft haben, so dass bei einer angenommenen Einkreuzungsrate von 25% 80 Samen untersucht werden müssen. Diese Zahl erhöht sich entsprechend mit zunehmender Entfernung vom Kern. Aus den relativen Häufigkeiten der Probestellen werden die Wahrscheinlichkeiten und deren 95%-Konfidenzintervalle für das Auftreten von Einkreuzungen geschätzt. Die Abnahme der Pollendichte und damit der Einkreuzungen wird mit Hilfe nicht-linearer (exponentieller) Wachstumfunktionen beschrieben. Die transgenen und nicht-transgenen Maispflanzen sind isogene Linien bzw. gehören vergleichbaren Reifegruppen an. Die gesamte Versuchsdauer beträgt 3 Jahre.

## Literatur

- Timmons, A.M., O'Brien, E.T., Charter, Y.M., Dubbels, S.J., Wilkinson, M.J.:  
Assessing the risks of wind pollination from fields of genetically modified *Brassica napus* ssp. *oleifera*. *Euphytica* 85, 417-423, 1995.
- Feldmann, S.D., Brandes, S., Pfeilstetter, E., Matzk, A., Schiemann, J.:  
Begleituntersuchungen des Landes Niedersachsen zur Freisetzung transgener, herbizidresistenter Rapspflanzen. *Bundesgesundhbl.* 12, 536-542, 1998.

Pfeilstetter, E., Matzk, A., Schiemann, J., Feldmann, S.D.:

Untersuchungen zum Auskreuzungsverhalten von Liberty-tolerantem Winterraps auf nicht-transgenen Raps. In: Schiemann, J. (Hrsg.): Biologische Sicherheit – Proceedings zum BMBF-Workshop, Braunschweig 1998. Freisetzungsbegleitende Sicherheitsforschung mit gentechnisch veränderten Pflanzen und Mikroorganismen. Braunschweig, Jülich, BEO (Projekträger Biologie, Energie, Umwelt des BMBF), S. 175-184, 1999.