

Bestimmung der Persistenz transgenen Rapses in der landwirtschaftlichen Umwelt

Dr. Gerhard Schwarz, Technische Universität München, Lehrstuhl für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung

Für ein routinemäßiges Monitoring von transgenem Raps in der landwirtschaftlichen Umwelt ist die Entwicklung und Optimierung quantitativer Nachweisverfahren von besonderem Interesse. Basierend auf der 'real time' PCR-Technologie wurde deshalb ein Verfahren für den quantitativen Nachweis von herbizidtolerantem LibertyLink (LL) Raps entwickelt. Im Gegensatz zu den üblichen Verfahren, die auf dem sequenzspezifischen Nachweis des 35S-Promoters des Cauliflower Mosaic Virus (CaMV) beruhen, wurde eine konstruktsspezifische Sonde für den Übergangsbereich von Promotor und Strukturgen gewählt, um falschpositive Ergebnisse – hervorgerufen durch eine natürliche CaMV-Infektion – zu vermeiden. Für eine Standardisierung quantitativer Analysen wurden zudem verschiedene genomische und klonierte (plasmidale) Kalibrationsstandards auf ihre Handhabung und Präzision für den quantitativen Nachweis von LL Raps in Saatgutproben untersucht. Kalibrierungsstandards aus plasmidaler DNA bieten hinsichtlich ihrer Erstellung und Handhabung gegenüber herkömmlichen Standards, die aus zertifiziertem Referenzmaterial (certified reference material, CRM) des 'Institute for Reference Materials and Measurements' (IRMM) hergestellt werden, entscheidende Vorteile. CRM wird als Mahlgut mit definierten Massenanteilen von transgenem Material angeboten, aus welchem die DNA zur Erstellung der Kalibrierungsstandards isoliert wird. Lagerung und Versand des CRM können zu Qualitätsverlusten bzw. Degradierung der DNA führen. Außerdem stehen CRM Standards bislang nur für gentechnisch veränderten Mais bzw. Soja zur Verfügung. Im Vergleich zu den herkömmlichen Standards aus genomischer DNA erwiesen sich Plasmide hinsichtlich Präzision und Wiederfindung als ebenbürtig. Durch Zugabe von Plasmiden in die DNA-Hintergründe von Lebensmittel – u. Futterproben können die Reaktionsbedingungen von Standards der speziellen Probensituation optimal angepasst werden. Plasmide können mit Hilfe gängiger Isolationsprotokolle schnell und einfach als Standards im Labor etabliert werden. Aufgrund ihrer guten Lagerfähigkeit können sie problemlos zwischen Laboratorien versendet werden und haben so das Potenzial als 'goldene Standards' für eine standardisierte GVO-Analytik.

Im Rahmen eines Feldversuchs auf dem Versuchsgut Roggenstein wurde die Ausbreitung und Überdauerung von LL Raps in der landwirtschaftlichen Umwelt untersucht. Der Pollenflug wurde mit Hilfe von Objektträgerfallen im Abstand von 0 m, 50 m, 100 m und 150 m sowie in 1 m, 2 m, 3 m und 4 m Höhe während der Blühzeit gemessen. Dabei wurden signifikante Korrelationen zwischen der Pollenzahl und den Faktoren Datum, Fallendistanz, Temperatur, Windrichtung, –stärke und Niederschlag nachgewiesen. Die Anteile der Faktoren Fallendistanz und –höhe an der Gesamtvarianz wurden mit Hilfe einer mehrfaktoriellen Varianzanalyse geschätzt. Für die Fallendistanz wurde ein signifikanter Anteil von nur 1,5 % ermittelt, während für die Fallhöhe kein Einfluss auf die Varianz der Pollenzahl abzusichern war. Die Ergebnisse zeigen die enorme Bedeutung der detaillierten Erfassung aller Einflussfaktoren für eine Beurteilung und Modellierung des Pollenfluges bei Raps. Die Auskreuzung von transgenem Raps in benachbarte nicht-transgene Rapsbestände wurde mit Fangparzellen in unmittelbarer Umgebung von Transgenparzellen ermittelt (Parzellengrößen 6 m x 6 m). Die Auskreuzungsraten von zwei Parzellen mit 100 % Transgenanteil in die umgebenden nicht-transgenen Rapsparzellen lagen bei 0,29 % bzw. 0,28 %. Es war kein Auskreuzungsgradient bezüglich der Entfernung zur 100 % transgenen Parzelle erkennbar. Es wurde kein

signifikanter Zusammenhang zwischen Wind- und Auskreuzungsverteilung gefunden. Die Insektenbestäubung spielt für die Auskreuzung in die unmittelbare Umgebung demnach eine große Rolle. Bei der Windbestäubung wirkt zudem der Pollendruck innerhalb der Fangparzellen dem Eindringen von externen Pollen entgegen. Der diskutierte Schwellenwert von 0,3 % für Fremdbefruchtung wurde in beiden Wiederholungen nicht überschritten. Die Auskreuzung auf kreuzungskompatible Kulturpflanzen wurde für Sommerübsen ermittelt. Aus drei Sommerübsenparzellen und von Fangpflanzen in Töpfen wurden insgesamt 53.346 Körner geerntet und 83 herbizidresistente Hybride (0,16 %) selektiert. Zur Bestimmung der Überdauerung des transgenen Rapses im Boden wurde bei der Ernte die Anzahl der Körner ermittelt, die während des Druschvorgangs auf den Boden fielen. Die durchschnittlichen Werte lagen bei allen Testparzellen bei ca. 10.000 Körnern/m². Nach zweimaligem Grubbern zur Beseitigung von Auflauftraps und anschließender Aussaat des nachfolgenden Winterweizens wurden zur Ermittlung des noch im Boden verbliebenen Samenpotenzials Bodenproben bis in eine Tiefe von 30 cm gezogen. Die Auswaschung dieser Proben ergab Werte von 15 – 83 Körnern/m². Durch diese Bodenbearbeitungsmaßnahme ergab sich eine Abnahme der Samen im Boden von über 99 %.

Durch eine Wiederholung der Versuche in den Jahren 2003 und 2004 sollen die Ergebnisse statistisch abgesichert und der Einfluss pflanzenbaulicher Faktoren auf die Überdauerung des transgenen Rapses in der landwirtschaftlichen Umwelt erfasst werden.

Die gewonnenen Erkenntnisse aus der Entwicklung von konstruktsspezifischen Nachweismethoden und aus den praxisorientierten Feldversuchen sollen eine wissenschaftliche Grundlage für die aktuell geführten Diskussionen über die GVO-Schwellenwerte in landwirtschaftlichen Primär- und Verarbeitungsprodukten bilden.

Technische Universität München
Lehrstuhl für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung
Alte Akademie 12
85350 Freising-Weihenstephan

Dr. Gerhard Schwarz

Tel.: (08161) 71 – 31 89

gschwarz@weihenstephan.de

Prof. Dr. Gerhard Wenzel

Tel.: (08161) 71 – 34 22

gwenzel@weihenstephan.de