

# Untersuchungen zum GVO-Anbau in Sachsen

## Nachweis von Cry1Ab-Protein im Boden nach dreijährigem Bt-Maisanbau

**Helga Gruber**

**Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft**

- Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, IPZ 1c, Martin Müller, Freising

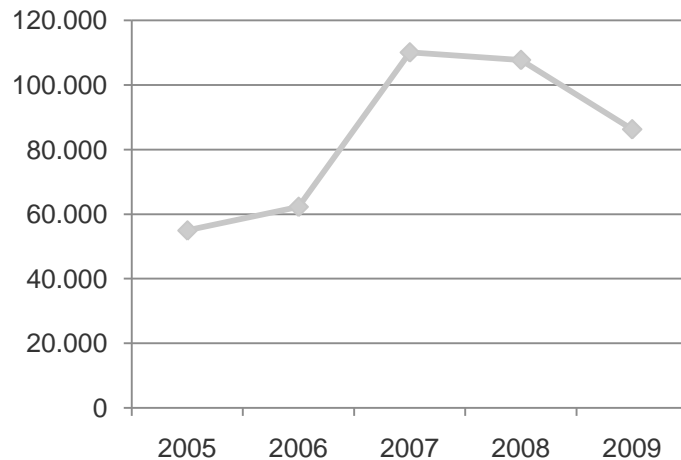
**Technische Universität München**

- Lehrstuhl für Physiologie, Prof. H.H.D. Meyer, Weihenstephan

## Bt-Mais MON810

- Einzige gv-Pflanze, die bislang in Deutschland landwirtschaftlich genutzt werden durfte
- 1998: EU-Zulassung nach dem Gentechnikrecht
- 2005: Zulassung von MON810-Maissorten in Deutschland
- 2009: nationales Anbauverbot in Deutschland

GV-Mais in der EU in ha



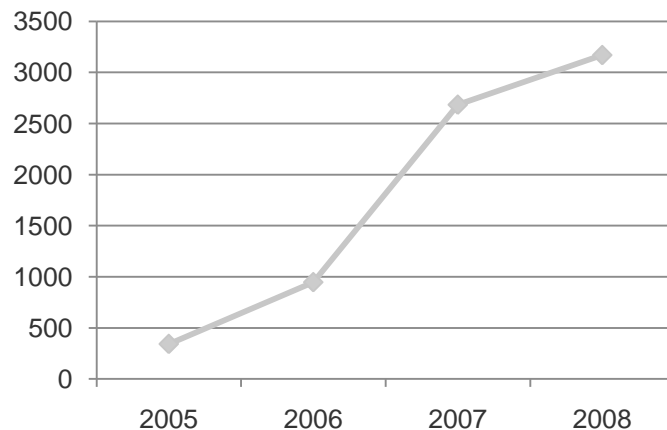
	Anbau von gv-Pflanzen in der EU in Hektar				
	2005	2006	2007	2008	2009
<b>Spanien</b>	53.225	53.667	75.148	79.269	70.000
<b>Frankreich</b>	492	5.000	21.147	-	-
<b>Tschechien</b>	150	1.290	5.000	8.380	7.000
<b>Portugal</b>	750	1.250	4.500	4.851	5.000
<b>Deutschland *</b>	342	947	2.685	3.173	-
<b>Slowakei</b>	-	30	900	1.900	875
<b>Rumänien</b>	**110.000	**90.000	350	7.146	3.400
<b>Polen</b>	-	100	320	3.000	?
<b>Summe gv-Mais</b>	<b>54.959</b>	<b>62.284</b>	<b>110.050</b>	<b>107.719</b>	<b>86.275</b>

(Quelle: Industrieverband EuropaBio. und BVL)

## Bt-Mais MON810

- Einzige gv-Pflanze, die bislang in Deutschland landwirtschaftlich genutzt werden durfte
- 1998: EU-Zulassung nach dem Gentechnikrecht
- 2005: Zulassung von MON810-Maissorten in Deutschland
- 2009: nationales Anbauverbot in Deutschland

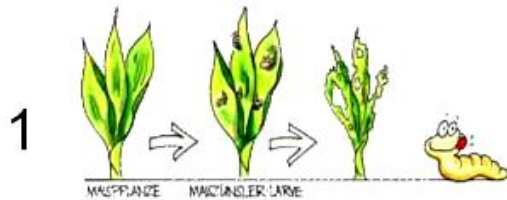
GV-Mais in der BRD in ha



	2005	2006	2007	2008
Brandenburg	119	443	1.347	1.244
Sachsen	64	230	556	952,6
Meck-Pomm	107	238	638	745,6
Sachsen-Anhalt	24	17,5	113	196,2
Niedersachsen	10,4	7	17,6	14,08
Bayern	14,2	5,4	5,9	9,9
Baden-W'berg	2	4,6	7,3	3,4
Thüringen	0,07	0,1	0,25	4,07
R'land-Pfalz	0	0,2	0,34	0,7
Hessen	0	0,01	0,25	0
Schleswig-Hst.	0	0,02	0,02	0,04
NRW	0,3	0,5	0,04	0
<b>Summe BRD (ha)</b>	<b>342</b>	<b>947</b>	<b>2.685</b>	<b>3.171</b>

(Quelle: Standortregister BVL)

## Bt-Mais (MON 810) - Funktionsweise



Der Maiszünsler (*Ostrinia nubilalis*) zerstört jährlich 7% des weltweiten Maisanbaus

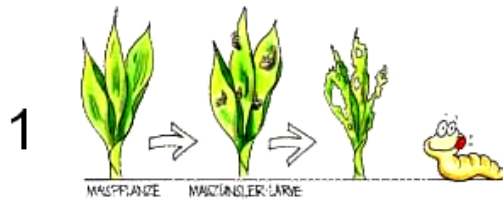


Quelle: [www.transgen.de](http://www.transgen.de)

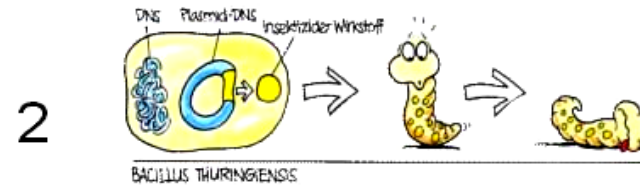


Quelle: [www.transgen.de](http://www.transgen.de)

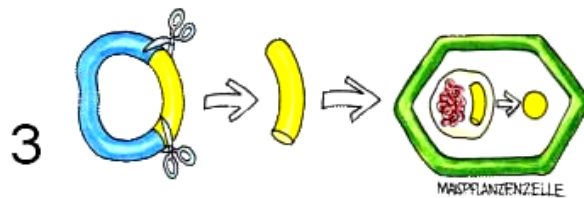
## Bt-Mais (MON 810) - Funktionsweise



Der Maiszünsler (*Ostrinia nubilalis*) zerstört jährlich 7% des weltweiten Maisanbaus



Das Bakterium *Bacillus thuringiensis* (Bt) bildet das Cry1Ab Protein, dass auf den Maiszünsler tödlich wirkt



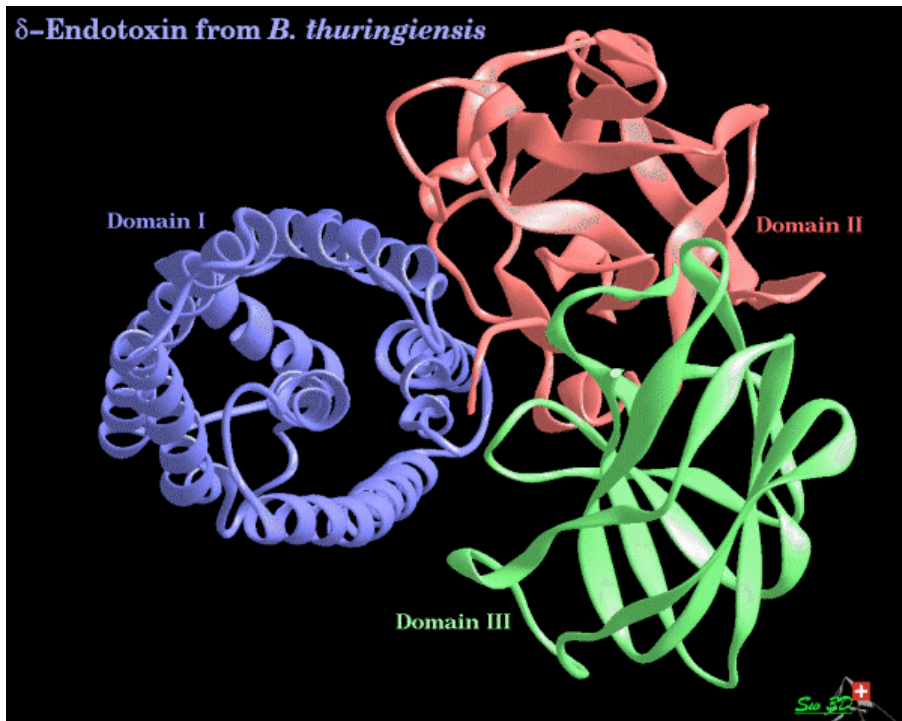
Das *cry1Ab-Gen* wurde aus dem Bakterium isoliert und in das Maisgenom eingebaut



Die Maispflanze kann sich nun „selbst“ gegen den Maiszünsler schützen

Quelle: [www.gensuisse.ch](http://www.gensuisse.ch)

## Struktur der Bt-Toxine (Cry-Proteine)



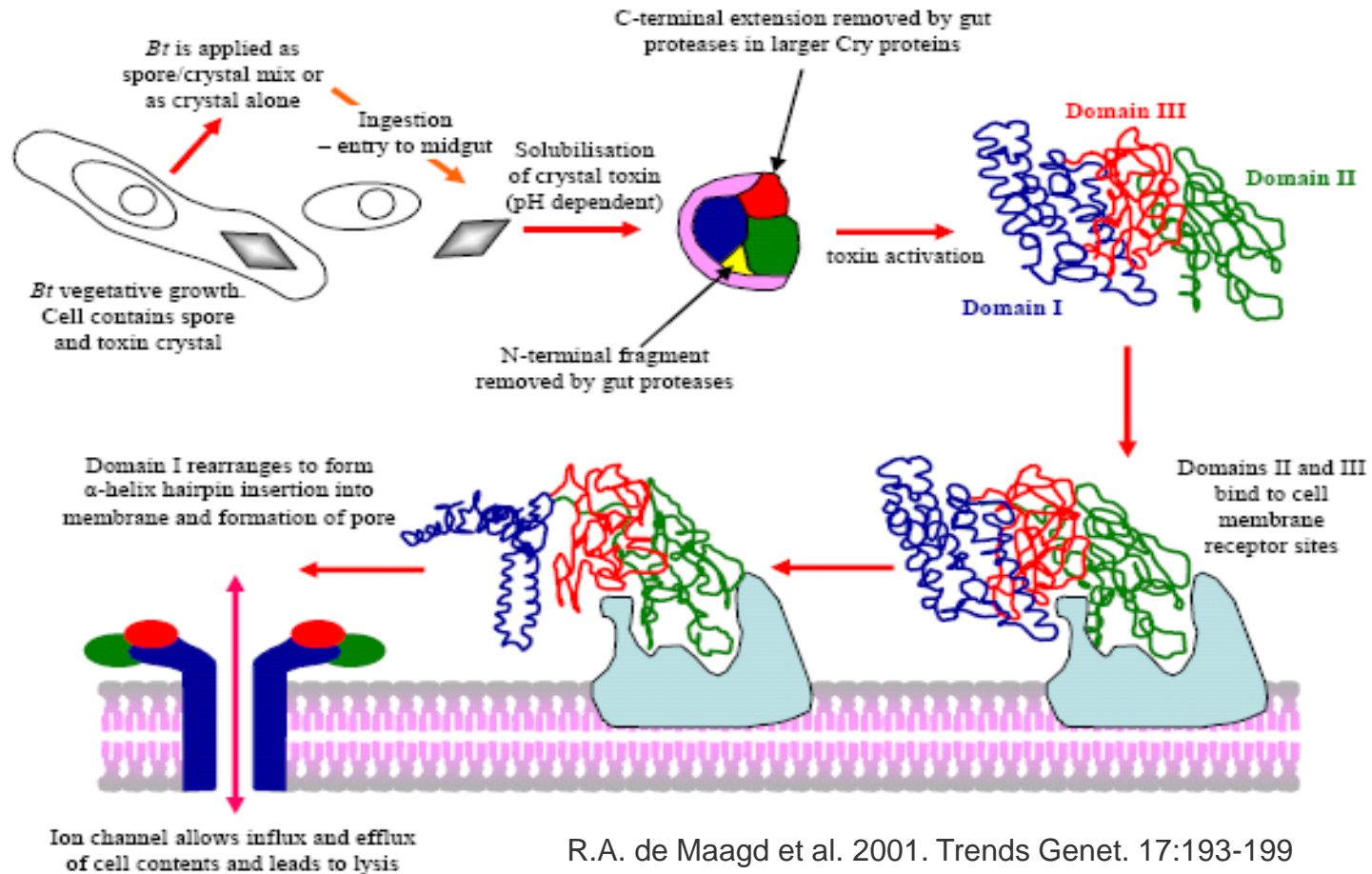
3 - Domänen- Struktur

I: Membraninsertion & Porenbildung

II + III: Rezeptorererkennung

III: Porenfunktion

nach R.A. de Maagd et al. 2001. Trends Genet. 17:193-199

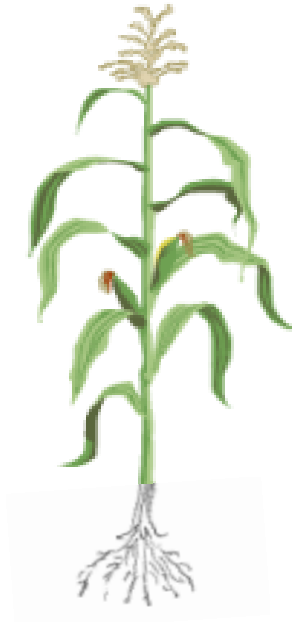


## Bt-Toxine sind Proteine

- Nur das Gesamtmolekül mit allen funktionellen Domänen ist toxisch wirksam
- hohe Spezifität durch Rezeptorbindung
- anderes Abbauverhalten im Vergleich zu anderen synthetischen Insektiziden



**Bt-Mais MON810**



Ernterückstände

Wurzelexsudate

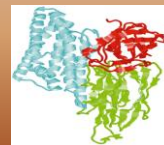
Pollen



**Akkumulation und Persistenz des Bt-Toxins ?**

Boden unter landwirtschaftlicher Nutzung

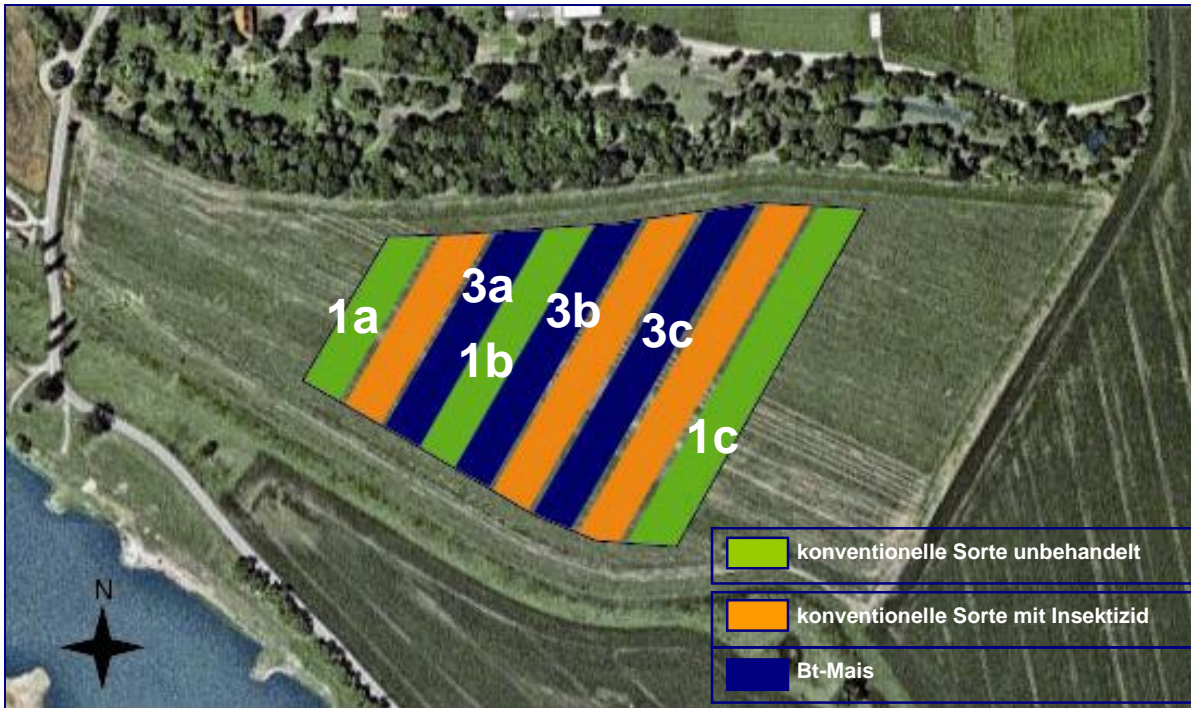
Chemischer und mikrobieller Abbau des Proteins



**Bt-Protein**



Bindung an organische und anorganische Bodenbestandteile



## Sorten

Bt-Mais  
**DKC 3421 YG**

nah isogene Sorte  
**DKC 3420**

Versuchsanlage zum dreijährigen Bt-Mais-Versuchsanbau in Köllitsch/Sachsen  
Quelle: google map, zur Verfügung gestellt von A. Kühne

## Bodenprobenahme

- Juni 2009 nach 3-jährigem Bt-Mais-Anbau auf der GVO-Versuchsfläche Köllitsch/Sachsen
- Mischproben aus je 10 Bohrkernen pro Parzelle und Tiefenstufe

Proben	Variante	Maissorte	Tiefenstufe
1a I, 1b I, 1c I	Konventionelle Sorte ohne Insektizid	DKC 3420	0 - 30 cm
3a I, 3b I, 3c I	Bt-Mais	DKC 3421 YG	0 - 30 cm
1a II, 1b II, 1c II	Konventionelle Sorte ohne Insektizid	DKC 3420	30 - 60 cm
3a II, 3b II, 3c II	Bt-Mais	DKC 3421 YG	30 - 60 cm

## Immunologischer Nachweis des Cry1Ab-Proteins im Sandwich ELISA unter Einsatz von spezifischen Anti-Cry1Ab-Antikörpern

### 1. Proteinextraktion

200 mg Boden in

2 ml Extraktionspuffer

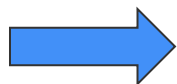
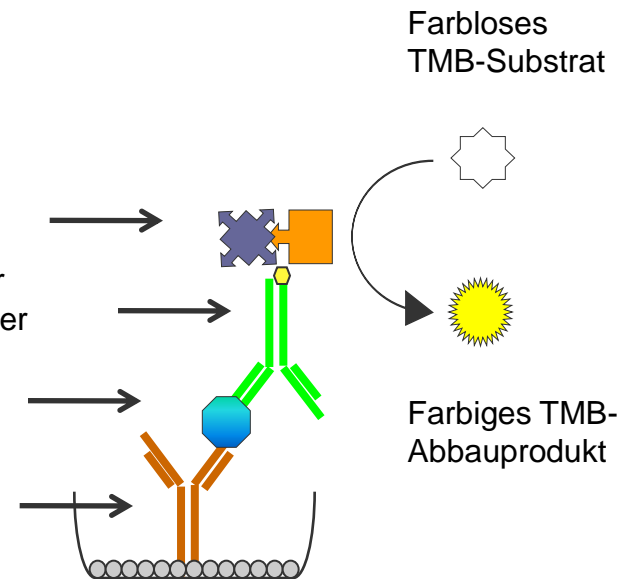
### 2. ELISA

Streptavidin-  
Peroxidase

Biotin-gekoppelter  
Nachweisantikörper

Cry1Ab-  
Antigen

Fang-  
Antikörper



**Analytischer Messbereich: 0.04-20 ng Cry1Ab-Protein ml<sup>-1</sup> Extrakt**

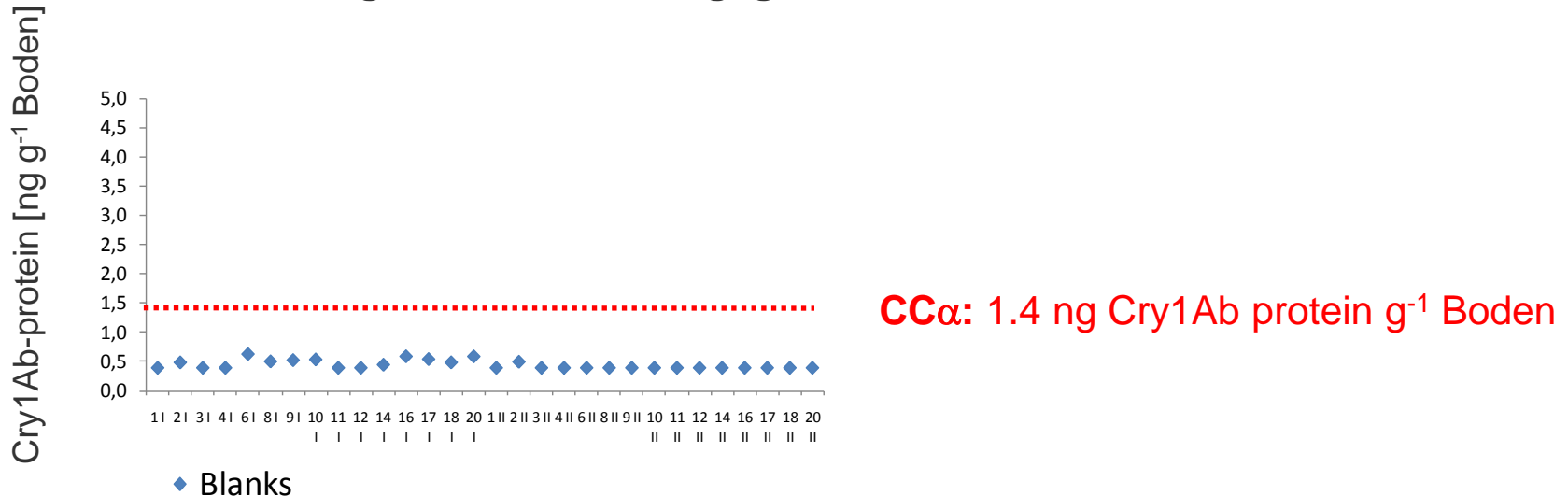
Paul et al (2008) *Analytica Chimica Acta*, **607**, 106-113

Validierung des ELISA zur Bestimmung von Cry1Ab-Protein in Bodenproben des Standortes Köllitsch/Sachsen

**Richtlinie:** EU-Decision 2002/657/EC

**Material:** 30 Bt-freie repräsentative Bodenproben vom die Versuchsfläche umgebenden Schlag (15 x 0-30 cm; 15 x 30-60 cm)

## 1. Bestimmung der Entscheidungsgrenze $CC\alpha$

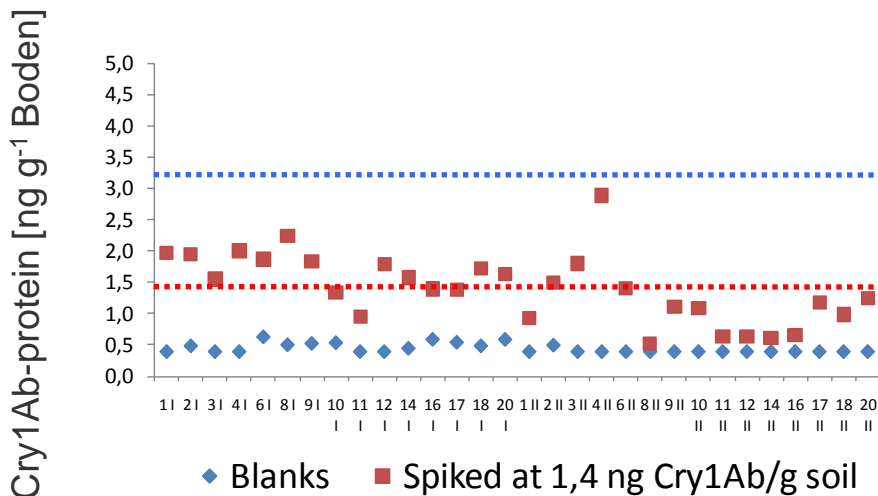


Validierung des ELISA zur Bestimmung von Cry1Ab-Protein in Bodenproben des Standortes Köllitsch/Sachsen

**Richtlinie:** EU-Decision 2002/657/EC

**Material:** 30 Bt-freie repräsentative Bodenproben vom die Versuchsfläche umgebenden Schlag (15 x 0-30 cm; 15 x 30-60 cm)

## 2. Bestimmung des Nachweisvermögens $CC\beta$



**$CC\beta$ :** 3.2 ng Cry1Ab protein g<sup>-1</sup> soil

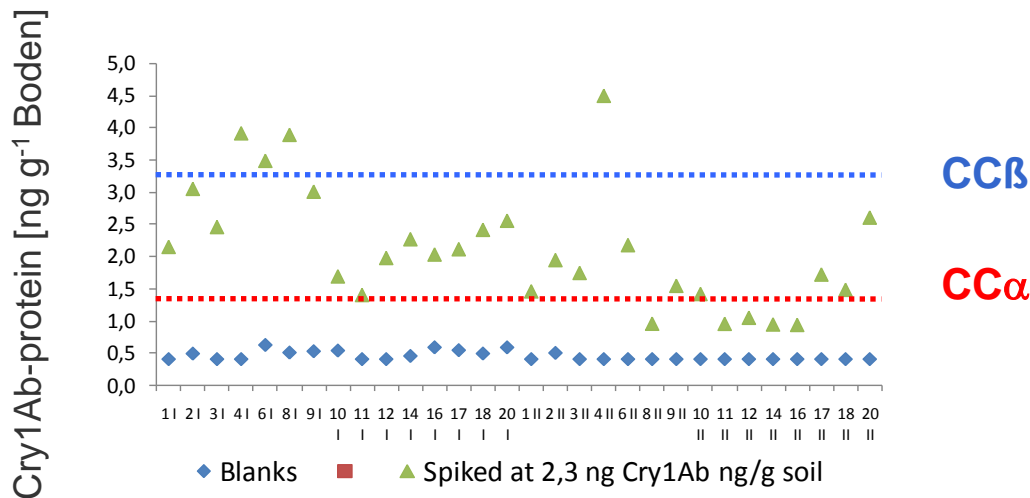
**$CC\alpha$ :** 1.4 ng Cry1Ab protein g<sup>-1</sup> Boden

Validierung des ELISA zur Bestimmung von Cry1Ab-Protein in Bodenproben des Standortes Köllitsch/Sachsen

**Richtlinie:** EU-Decision 2002/657/EC

**Material:** 30 Bt-freie repräsentative Bodenproben vom die Versuchsfläche umgebenden Schlag (15 x 0-30 cm; 15 x 30-60 cm)

### 3. Bestimmung von $\alpha$ -Fehler und $\beta$ -Fehler



## 4. Analytische Wiederfindung von Cry1Ab-Protein in Bodenproben

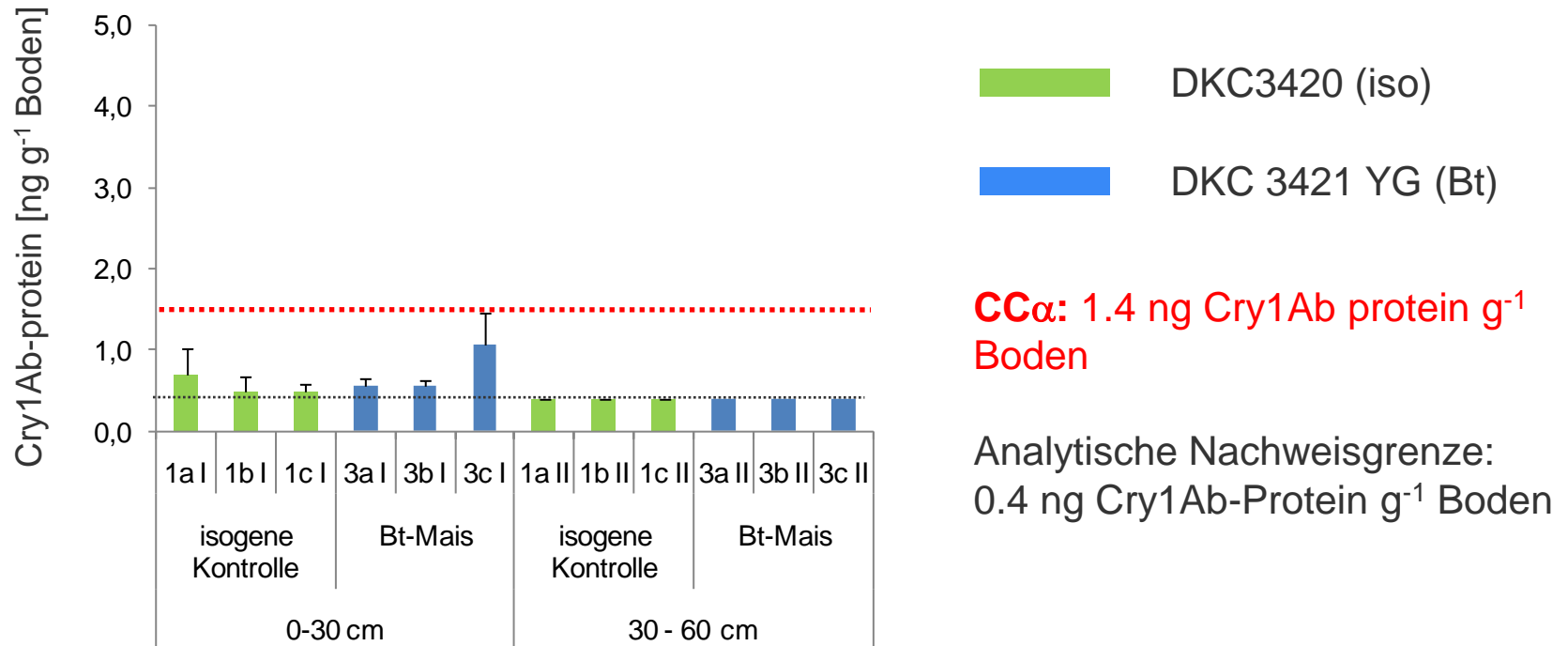
Vorgehensweise: Bodenproben wurden mit 5, 20 und 60 ng Cry1Ab-Protein g<sup>-1</sup> Feuchtboden versetzt. Cry1Ab-Protein wurde im Bodenextrakt mittels ELISA quantifiziert.

Dargestellt sind Wiederfindungsraten (MW ± STABW aus 4 Bestimmungen) in Prozent bezogen auf die Cry1Ab-Konzentrationen in den Spike-Lösungen.

	Tiefenstufe 0-30 cm			Tiefenstufe 30-60 cm		
<b>Spikeansatz (ng Cry1Ab g<sup>-1</sup> Boden)</b>	5	20	60	5	20	60
<b>Mittlere Wiederfindung (%)</b>	78,5 ± 7,8	67,9 ± 6,7	70,8 ± 7,0	54,8 ± 7,0	52,9 ± 4,2	58,4 ± 4,7
<b>Mittlere Wiederfindung in der Tiefenstufe (%)</b>		<b>72,4 ± 8,0</b>			<b>55,4 ± 5,5</b>	



**ELISA-Messwerte für Cry1Ab-Protein** in Bodenproben des GVO-Feldversuchs Köllitsch/Sachsen im Juni 2009 nach drei Jahren Versuchsanbau. Dargestellt sind die MW und STABW aus drei Cry1Ab-Bestimmungen je Bodenprobe einer Einzelparzelle.



- Der Cry1Ab-Protein ELISA wurde für die Böden des GVO-Versuchstandortes Köllitsch nach EU-Decision 2002/657/EC validiert.
- Die Entscheidungsgrenze  $CC_{\alpha}$  liegt bei 1.4 ng Cry1Ab Protein  $g^{-1}$  Boden.
- Die Wiederfindung für Cry1Ab-Protein in den Böden der Versuchsfelder Köllitsch liegt bei 72 % und 55 % für die obere und untere Tiefenstufe.
- Alle im Juni 2009 auf den Versuchsfelder gezogenen Bodenproben lagen in ihren Cry1Ab-Messwerten unterhalb  $CC_{\alpha}$  für Cry1Ab Protein in Boden.



**Keine nachweisliche Anreicherung des Cry1Ab Proteins aus  
Bt-Mais (MON810) in Boden des Standortes Köllitsch/Sachsen  
nach dreijährigem Bt-Mais-Anbau**



Danke für Ihre Aufmerksamkeit !

