

# Nachweis von gentechnischen Veränderungen in Baumwolle

Lothar Kruse, Hermann Rüggeberg; Impetus Bioscience GmbH, Bremerhaven

**Der weltweite Anbau von gentechnisch veränderter Baumwolle hat rasant zugenommen. Gleichzeitig ist die Nachfrage nach ökologischer Baumwolle enorm gestiegen. Öko-Baumwolle schließt die Anwendung von Gentechnik auf allen Stufen kategorisch aus. Die Problematik der unvermeidbaren aber auch bewussten Vermischung von ökologischer mit gentechnisch veränderter Baumwolle nimmt zu. Wir stellen ein von uns entwickeltes Verfahren vor, mit dem gentechnische Veränderungen in Baumwollfasern sicher und sensitiv detektiert werden können.**

## Einleitung

Baumwolle (*Gossypium spec.*) hat einen weltweiten Anteil von ca. 40% aller Textilien und ist damit die wichtigste Naturfaser. Die Weltproduktion betrug 2007 rund 25 Millionen Tonnen, die auf 35 Millionen ha in über 50 Ländern angebaut wurden (1).

Der Anteil der nach „biologischen“ Kriterien produzierten Baumwolle (organic, kBA, bio, öko, green cotton etc.) ist zwar noch verschwindend gering - weltweit nur etwa 1% (2) – steigt aber kontinuierlich. Die Voraussetzungen für kontrolliert biologischen Anbau werden in den deutschsprachigen Ländern in der so genannten Öko-Verordnung (EG-Verordnung 2092/91) definiert. Andere große Absatzmärkte (EU, USA, Japan) verfügen über entsprechende Gesetze, um eine Basis für kontrolliert biologischen Anbau festzulegen.

So dürfen beispielsweise keinerlei synthetische Pestizide, Insektizide sowie synthetische Dünger verwendet werden, die Baumwolle soll manuell geerntet werden, das heißt, ohne Einsatz von Entlaubungsmitteln und die Fruchtbarkeit des Bodens ist zu erhalten bzw. zu verbessern (3).

Bei allen Unterschieden zwischen den einzelnen Verordnungen gibt es einen gemeinsamen Nenner - das absolute Verbot von Gentechnik.

2007 wurden auf insgesamt 43% (15 Millionen ha) der globalen Baumwoll-Anbaufläche ca. 20 verschiedene gentechnisch veränderte Baumwolllinien gepflanzt. In Indien sind derzeit 66%, in China 68% und in den USA und Argentinien jeweils über 90% der geernteten Baumwolle gentechnisch verändert (4).

Die wichtigsten Ziele dieser Veränderungen sind:

- Resistenzen gegen Schädlinge, z. B. gegen den Baumwollkapselwurm (Bt-Baumwolle)
- Toleranz gegen Herbizide, z. B. gegen die Wirkstoffe Glyphosat (RoundUp Ready) und Glufosinat (Liberty Link)
- Anpassung an abiotische Faktoren wie Kälte, Hitze, Trockenheit, Salz
- Veränderte Fasereigenschaften, z. B. Optimierung von Länge und Stärke der Baumwollfasern

Zwischen 2001 und 2005 stiegen die weltweiten Verkäufe biologischer Baumwollprodukte jährlich schätzungsweise um 35%, von 245 Millionen US \$ im Jahre 2001 auf 583 Millionen Dollar 2005. Das weltweite Angebot an biologisch produzierten Baumwollfasern war von 6.480 Tonnen während der Ernte von 2000-01 auf 25.394 Tonnen im Erntejahr 2004-05 angestiegen. Während der Ernte 2004-05 wurde in 22 Ländern Biobaumwolle produziert, davon 40% in der Türkei, 25% in Indien, 7,7% in den USA und 7,3% in China (5).

Unbeabsichtigte Vermischungen von ökologischer und gentechnisch veränderter Baumwolle sind im Zuge globaler Warenströme kaum zu vermeiden. Auch absichtliches Mischen dürfte angesichts des deutlich höheren Preises für ökologische Baumwolle nicht ausgeschlossen sein.

Zertifizierungsprogramme und Standards, die den „organic“ Status garantieren, verzichten bislang auf eine analytische Überprüfung dieses Problems.

Wir haben ein Verfahren entwickelt, um gentechnische Veränderungen in Baumwoll-Fasern zu detektieren.

## **DNA-Analytik**

Die Erbsubstanz aller Organismen besteht aus DNA (englisch: „DeoxyriboNucleic Acid“, frühere Bezeichnung: DNS Desoxy-Ribonuklein-Säure), einem sehr langen doppelsträngigen Molekül, das aus einer Wiederholung von nur vier Nukleotid-Grundbausteinen - Adenin, Thymin, Cytosin, Guanin - besteht. Die genaue Reihenfolge oder Sequenz dieser Bausteine unterscheidet sich von Organismus zu Organismus. Voneinander weit entfernte Arten weisen mehr Sequenzunterschiede auf als nah verwandte. Diese Unterschiede stellen die Basis für die Identifikation verschiedener Arten dar. Unabhängig von der Art der zu analysierenden Probe umfasst die Untersuchung in der Regel drei Schritte.

### **1. Extraktion der DNA**

Entscheidend für den Erfolg jeder DNA-analytischen Untersuchung ist die Verfügbarkeit möglichst reiner DNA in ausreichender Menge. Die Qualität und Quantität der aus einer Ausgangssubstanz isolierten DNA ist direkt abhängig von dessen Verarbeitungsgrad. Je stärker verarbeitet ein Rohstoff ist, umso kürzer wird die durchschnittliche Fragmentlänge der ursprünglich sehr langen DNA sein.

### **2. Polymerase-Kettenreaktion (PCR)**

Bei der PCR handelt es sich um eine enzymatische Methode, die innerhalb von ca. 2 Stunden eine milliardenfache Vermehrung (Amplifikation) eines gewünschten Teilschnittes der DNA generiert. Eine typische PCR-Reaktion umfasst 35-50 Amplifikationszyklen, wobei jeder Zyklus aus drei aufeinander folgenden Schritten besteht:

#### Denaturierung

Das Reaktionsgemisch mit allen zur Synthese von neuer DNA notwendigen Komponenten wird auf ca. 95°C erhitzt. Dadurch wird die doppelsträngige DNA denaturiert, d.h. in zwei Einzelstränge zerlegt.

#### Annealing

An definierte Abschnitte der denaturierten DNA binden hochspezifisch - wenn in der Probe vorhanden – so genannte Primer, d.h. kurze einzelsträngige DNA-Sequenzen. Eine grundsätzliche Bedingung zur Herstellung spezifischer Primer ist die Verfügbarkeit von DNA-Sequenz-Informationen, d.h. es muss bekannt sein, welche Sequenzen für bestimmte Spezies, Ordnungen, Klassen etc. typisch sind. Diese Informationen sind in vielen Fällen in internationalen Datenbanken abrufbar.

#### Elongation

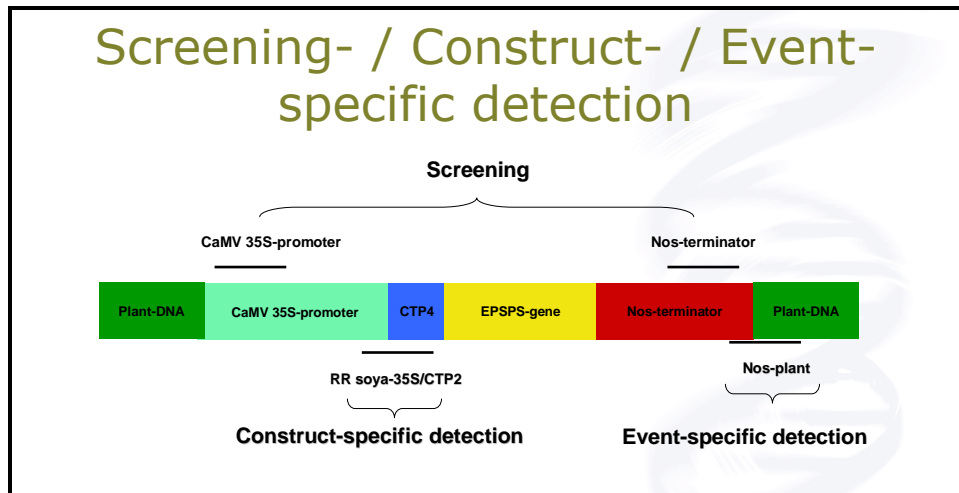
In diesem Schritt erkennt das Enzym - die Polymerase – den kurzen doppelsträngigen DNA-Bereich, der aus der denaturierten Ziel-DNA und dem daran gebundenen Primer gebildet wird. Von diesem Startpunkt aus wird der neue DNA-Strang synthetisiert, wobei der komplementäre Einzelstrang als Matrize dient.

### **3. Detektion**

Die Detektion von PCR-Produkten erfolgt entweder gelelektrophoretisch, also durch direkte Visualisierung nach Auftrennung und Färbung in einem Agarose-Gel oder online, d.h. durch den Einsatz von Farbstoff-markierten Sonden. In diesem Fall wird mit Hilfe entsprechender Geräte, z.B. TaqMan, die Amplifikation direkt gemessen und ermöglicht außerdem eine sehr sensitive und genaue Quantifizierung.

Gentechnische Veränderungen können auf verschiedenen Ebenen detektiert bzw. identifiziert werden (Abb. 1).

# Screening- / Construct- / Event-specific detection



## Screening

Gentechnisch veränderte Pflanzen (gv Pflanzen) enthalten Gene, die ihnen bestimmte neue Eigenschaften wie Herbizidtoleranz oder Insektenresistenz verleihen. Die Funktion der Gene ist abhängig von zusätzlichen regulatorischen DNA-Sequenzen, so genannte Promotoren und Terminatoren.

Sämtliche in der EU zugelassenen und die meisten der weltweit angebauten gv Pflanzen enthalten ähnliche Regulatoren.

Da oftmals die gleichen Sequenzen in den unterschiedlichsten gv Pflanzen eingesetzt werden, deutet ein positives Screening-Ergebnis auf eine gentechnische Veränderung hin, ohne eine genaue Identifizierung der entsprechenden gv Pflanze zu ermöglichen.

## Konstruktspezifischer Nachweis

Bei einem Gen-Konstrukt handelt es sich um ein Gen oder mehrere Gene und die notwendigen regulatorischen Sequenzen.

Identische Konstrukte sind häufig in verschiedene Pflanzenarten transformiert worden, so dass der Nachweis eines Konstruktes zwar eine bestimmte gentechnische Veränderung beweist, jedoch keine Aussage über die spezifische Pflanzenart erlaubt.

## Eventspezifischer Nachweis

Hierbei wird der exakte Übergangsbereich zwischen dem eingebrachten Konstrukt und der Wirts-DNA detektiert. Während Screening- und Konstrukt-Nachweise lediglich Hinweise auf eine gentechnische Veränderung geben können und zur genauen Identifizierung weitere analytische Schritte erforderlich sind, gelten Event-Nachweise als direkt und erlauben eine sofortige zweifelsfreie Zuordnung der jeweiligen gentechnisch veränderten Pflanze.

## Zusammenfassung und Ausblick

Ökologisch produzierte und so gekennzeichnete Baumwollerzeugnisse schließen den Gebrauch von Gentechnik auf allen Stufen aus. Schon jetzt ist knapp die Hälfte der weltweit angebauten Baumwolle gentechnisch verändert bei gleichzeitig steigender Nachfrage nach Öko-Baumwollprodukten. Das lässt vermuten, dass die unbeabsichtigte aber auch beabsichtigte Vermischung von ökologischen und gentechnisch veränderten Baumwollfasern ebenfalls ansteigen wird.

Eine ähnlich gelagerte Problematik findet sich im Bereich der Edelhaare (Kaschmir, Alpaka, Kamel etc.). Da Kaschmir- und feine Merinowolle im gleichen Feinheitsbereich liegen können, sind geblendete Chargen nicht optisch zu unterscheiden. Es können nicht mehr als ca. 6000 Tonnen Kaschmirfasern pro Jahr in die Weiterverarbeitung gelangen (6). Experten gehen jedoch davon aus, dass viel mehr Kaschmir im Umlauf ist, als überhaupt möglich ist (7).

Wir haben analytische Verfahren entwickelt, um in „schwierigen“ Matrices wie tierischen Haaren und pflanzlichen Fasern die jeweiligen Spezies bzw. gentechnische Veränderungen zu identifizieren. Baumwollfasern enthalten zwar nur sehr geringe Mengen DNA, doch sind diese ausreichend um gentechnische Veränderungen sicher und sensitiv nachzuweisen und selbst noch quantitative Aussagen treffen zu können.

In ca. 30% der von uns bislang analysierten und als „organic“ gekennzeichneten Baumwollproben konnten wir gentechnische Veränderungen detektieren. In den meisten Fällen handelte es sich um geringe Mengen (< 2%), was auf unbeabsichtigte Verschleppungen deutet.

Momentan gilt die so genannte „Nulltoleranz“, d.h. selbst kleinste Spuren von gentechnischen Veränderungen schließen eine „organic“ Kennzeichnung aus. Es wäre zu überlegen, ob nicht – wie in der EU-Verordnung 1829/2003 für gentechnisch veränderte Lebens- und Futtermittel oder in der deutschen Textilkennzeichnungs-Verordnung – Schwellenwerte für technisch unvermeidbare Kontaminationen zu definieren wären.

Wir sehen in der von uns entwickelten Analytik eine sinnvolle und hilfreiche Möglichkeit zur Verbesserung der Qualitätskontrolle, zum Aufspüren möglicher Kontaminationsquellen sowie zur Ergänzung von Standards und Zertifizierungsprogrammen.

## Literatur

1. [www.cleanclothes.com](http://www.cleanclothes.com)
2. Sanders, D., Grose, L., and Sandra Marquardt; (2006). "Cleaner Cotton Campaign." Sustainable Cotton Project
3. [www.biothemen.de](http://www.biothemen.de)
4. [www.isaaa.org](http://www.isaaa.org)
5. organic cotton circular 2/06
6. Gräber, B.; (1999). "Es ist nicht unbedingt Kaschmir drin. Bei Wolle wird hemmungslos geschwindelt/ Selbst auf das Etikett ist kein Verlass". In: Weser Kurier (1999-11-18)
7. Reinhold, K.; (2001). „Kaschmir hat`s eiskalt erwischt“. In: TextilWirtschaft, Nr. 16, 19.04.2001, S. 61/62