

7 Summary

Detection of Genetically Modified Soybeans and Maize in Egypt as well as Comparative Nutritional Safety Investigations of Isogenic and Transgenic (Bt) Maize in Broiler Nutrition: Broiler Performance, Degradation and Metabolic Fate of Maize DNA in some Tissues and Organs

Detection and monitoring of GM soybeans and maize in Egypt

As a consequence of rapid progress in agricultural biotechnology, increasing amounts of genetically modified (GM) crops have entered the food and feed chain in recent years. The first aim of the present study, which was conducted during 2000 – 2001, was to monitor the incidence of Roundup Ready soybean (RRS) and the GM maize lines Bt176, Bt11, T25, MON810 and StarLink™ in Egypt.

With the exception of StarLink™, which was approved only for feed use, the other constructs were approved for use as food and/or feed in the US and other countries. Fifty-one soybean samples and 61 maize samples were randomly collected from different localities in Egypt. The detection techniques applied were based on Polymerase Chain Reaction (PCR).

The results of this survey showed that all soybean samples imported from Argentina, and 50% of American soybean samples contained RRS. Of the 20 maize samples imported from USA, 16 contained Bt176, 17 Bt11, 12 MON810, 19 T25 and 9 StarLink™. In addition, of the 7 maize samples imported from Argentina, 4 each contained Bt176 and MON810, 5 T25, 6 Bt11 and 2 StarLink™. In contrast, all Egyptian local varieties of soybean and maize were non transgenic.

Nutritional and safety assessment of Bt-maize in broiler nutrition

The further goal of the present work was to investigate the nutritional and safety aspects of a new Bt176 hybrid (NX 6262-Bt176) in broiler nutrition, degradability of maize-DNA in GIT and the metabolic fate of recombinant DNA in broiler's body as well.

The experiment was conducted to determine the impact of feeding of Bt176 maize on general health condition and performance of broiler chickens in comparison with the non-transgenic conventional maize. Maize grains and diets were subjected to proximate analyses. Amino and fatty acids analyses were applied for both maize grains before used in broiler feed to monitor the substantial equivalence of the transgenic maize used.

To evaluate the degradation of maize DNA and its metabolic fate in broiler blood, muscles and organs, a feeding experiment with 35 chicks was carried out. One-day-old male broilers were fed *ad libitum* on either an experimental diet containing 73.6% isogenic or transgenic Bt176 maize grains for 35 days. Maize samples as well as diets were investigated for the proximate chemical composition, amino and fatty acids. All chickens were subjected to nutritional evaluation period at 20th day of age for five successive days, to calculate apparent digestibility organic matter in both diets. At thirty-five days samples were collected at several intervals after feed withdrawal. Prior to slaughter blood samples were collected from all birds by heart puncture to prevent DNA cross contamination. Samples from pectoral and thigh muscles, liver, spleen, kidney, heart muscle, bursa Fabricius and thymus glands were collected. Digesta from different sections of the gastrointestinal tract (GIT) were collected as well. Packed cell volume (PCV) and some serum parameters were investigated.

There were no significant differences between control and experimental group concerning chemical composition of feeds, apparent digestibility of organic matter, and all performance parameters measured ($P>0.05$). Furthermore, there were no differences in the PCV and the analyzed serum parameters between the control and experimental group.

Results of the metabolic fate of maize DNA in broiler blood, muscles and organs indicated that only short DNA fragments (199 bp) derived from the plant *chloroplast* gene could be detected in the blood, skeletal muscles, liver, spleen and kidney, which disappeared after prolongation the fasting time. In heart muscle, bursa of Fabricius and thymus, no plant chloroplast DNA was found. Bt gene specific constructs from Bt176 maize were not detected in any investigated blood or tissue samples.

8 Zusammenfassung und Schlussfolgerung

Nachweis von gentechnisch veränderten Sojabohnen und gentechnisch verändertem Mais in Ägypten sowie vergleichende Untersuchungen zur ernährungsphysiologischen und Sicherheitsbewertung von isogenem und transgenem (Bt) Mais in der Broilerfütterung: Leistung der Broiler, Abbau und Verbleib von Mais-DNA in verschiedenen Geweben und Organen

Nachweis und Überwachung von gentechnisch veränderten Sojabohnen und Mais in Ägypten

Gentechnisch modifizierte (GM) Nutzpflanzen haben Eingang in die Nahrungs- und Futtermittelkette gefunden. Ein Ziel der vorliegenden Studie, die zwischen 2000 - 2001 durchgeführt wurde, war die Überwachung des eventuellen Vorkommens von Roundup Ready Sojabohnen (RRS) und GM Mais der Linien Bt176, Bt11, T25, MON810 und StarLinkTM in Ägypten.

Mit der Ausnahme von StarLinkTM-Mais, der nur für den Futtergebrauch genehmigt wurde, erhielten die anderen Sorten eine Genehmigung als Lebens- bzw. Futtermittel, z. B. in den USA und anderen Ländern. Einundfünfzig Sojabohnenproben und 61 Maisproben wurden nach dem Zufallsprinzip in verschiedenen Gegenden in Ägypten gesammelt. Zur Ermittlung einer eventuellen gentechnischen Modifikation in den Proben wurde die Polymerase Ketten Reaktion (PCR) angewandt.

Die Ergebnisse dieser Studie haben gezeigt, dass nahezu alle Sojabohnen, d.h. alle aus Argentinien und 50 % der aus Amerika nach Ägypten importierten Sojabohnen, RRS enthielten. Von 20 Maisproben aus den Vereinigten Staaten enthielten 16 Proben die Maislinie Bt176, 17 Bt11, 17 MON810, 19 T25 und 9 StarLink. Von 7 untersuchten Maisproben aus Argentinien enthielten je 4 Bt176 und MON810, 5 T25, 6 Bt11 und 2 StarLinkTM. Alle in Ägypten erzeugten Sojabohnen und Mais wiesen keine gentechnischen Veränderungen auf.

Ernährungsphysiologie und Sicherheitsbewertung von Bt-Mais

Ein weiteres Ziel der Arbeit bestand in der Abschätzung von Ernährungsphysiologie und Sicherheitsaspekten, die bei der Verfütterung von Körnern der Bt176 Maishybride (NX 6262-Bt176) an Broiler zu beachten sein könnten.

Zur Erfüllung der Zielstellung wurde ein Fütterungsversuch mit 35 männlichen Broilern über 35 Tage durchgeführt. Die Tiere wurden in zwei Gruppen aufgeteilt, deren Mischfutter 73,6% isogenen oder transgenen Mais (Bt176) enthielt. Von den Maisproben bzw. vom Mischfutter erfolgte die Bestimmung der Roh Nährstoffe sowie der Amino- und Fettsäuren. Vom 20. - 25. Lebenstag wurde der Kot gesammelt, um Aussagen zur Verdaulichkeit zu erhalten. Am Versuchsende erfolgte die Schlachtung aller Tiere zu unterschiedlichen Zeiten nach Futterentzug (0 - 24 h). Nach der Schlachtung wurden den Versuchstieren Proben aus der Brust- und Oberschenkelmuskulatur, der Leber, der Niere, dem Herzmuskel, dem Bursa-Fabricius und der Thymusdrüse entnommen. Extrakte von unterschiedlichen Bereichen des Magen-Darm-Traktes (GIT) wurden ebenso gesammelt. Der Hämatokrit-Wert (packed cell volume "PVC") und einige Serumparameter wurden ermittelt.

Zwischen beiden Maislinien konnten keine signifikanten Unterschiede in den Mastkriterien (Futtermittelaufnahme, Lebendmassezunahme, Futtermittelaufwand) der Broiler ermittelt werden. Diese Feststellung trifft auch auf die Verdaulichkeit, die Hämatokrit-Werte und weitere Serumparameter zu.

Die Untersuchungen im Blut, Muskeln und weiteren Organen der Broiler zeigten, dass kurze DNA-Fragmente (199 bp), die aus den Chloroplasten stammen, im Blut, in der quergestreiften Muskulatur, der Leber, der Milz, der Niere nachweisbar sind. Nach längerem Futterentzug waren diese DNA-Fragmente nicht mehr nachweisbar. Im Herzmuskel, dem Fabricius-Schleimbeutel und im Thymus konnte keine Pflanzen-Chloroplasten-DNA gefunden werden. Transgene DNA-Konstrukte wurden weder im Blut noch in Gewebeproben gefunden.

Schlussfolgerung

1. Aus den Ergebnissen des ersten Teils dieser Studie kann geschlossen werden, dass die in Ägypten angebauten Sojabohnen und der Mais frei von transgenem Material sind, das dem in dieser Studie diskutierten Konstrukt entspricht. Andererseits enthalten sowohl die nach Ägypten importierten Sojabohnen als auch der Mais verschiedene GM-Konstrukte. Um einen Überblick über den GM-Anteil in importierten Lebens- und Futtermitteln zu erhalten, wird ein entsprechendes Monitoring empfohlen.
2. Isogener und transgener (Bt) Mais zeigten keine signifikanten Unterschiede in den untersuchten Inhaltsstoffen und in der Wachstumsbelastung von Broilern und können demnach als substantiell äquivalent bezeichnet werden.
3. Außerdem haben die Ergebnisse der Studie gezeigt, dass die mit dem Futter aufgenommene DNA nicht vollständig im Verdauungstrakt abgebaut wurde. Sowohl die isogene als auch die transgene Bt176-Maislinie verhielten sich während der Futterpassage im Verdauungstrakt der Hühner vergleichbar. Kleine DNA-Fragmente aus den Futterpflanzen (199 bp) können das Epithelium des Darmes passieren und in das Blut, in einige Organe und das Gewebe gelangen, sind aber etwa 24 Stunden nach Futterentzug nicht mehr nachweisbar. Bt-Gen-spezifische Konstrukte der Bt176-Maislinie konnten in keiner der untersuchten Blut- bzw. Gewebeproben nachgewiesen werden.