



Doctoral Thesis

Physiological characteristics of Bt176 corn in poultry, fate of recombinant DNA and further estimate of a possible horizontal transfer of genes from Bt176 corn to microorganisms

Author(s):

Aeschbacher, Karin

Publication Date:

2003

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-004622525> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH No. 15112

**Physiological characteristics of *Bt176* corn in poultry, fate of
recombinant DNA and further estimate of a possible
horizontal transfer of genes from *Bt176* corn to
microorganisms**

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH
for the degree of
Doctor of Natural Sciences

presented by
Karin Aeschbacher
Dipl. Lm.-Ing. ETH
born June 23, 1970
citizen of Zurich

accepted on the recommendation of
Prof. Dr. Caspar Wenk, examiner
PD Dr. Leo Meile, co-examiner

Zurich 2003

SUMMARY

The safety of genetically modified food or feed or from products which are produced with genetically modified organisms is of worldwide essential interest. Genetic engineering poses significant technical and ecological benefits, as well as some potential risks, which can be divided into two categories: firstly, the effects on human and on animal health through the possible transfer and/or creation of toxic or allergenic compounds, or through a horizontal gene transfer and secondly, the environmental impact through the possibility of out-crossing with wild species and therefore the threat to biodiversity.

The objectives of this study were to observe the influence of isogenic feed and the transgenic variant on animal health and performance, and to follow the fate of the nucleic acids in the digestive tract of broilers and laying hens. Thereby, the possibility of a transfer of plant DNA, especially of transgenic DNA, into bacteria and into broilers or laying hens and their products meat and egg was investigated.

In the first experiment 36 laying hens were fed for six months either 60 % transgenic (*Bt176*) or 60 % conventional, non modified corn in their diet. In three further studies 94 broilers were fed two feed varieties with 60 % corn (genetically modified or unmodified). Half of each feed variety was furthermore supplemented with a protease to increase the degradation of dietary protein. In all feeding experiments a transgenic hybrid of corn, the *Bt176* corn, and its conventional, non modified counterpart were used. The *Bt176* corn contains three foreign genes in his genome. The *cry* gene

Summary

serves for the production of the insecticidal protein against the European corn borer, the *bar* gene for a herbicide tolerance and the ampicillin resistance gene *bla*.

Neither the nutrient composition of the corresponding corn or feed (more than seven parameters were analyzed), nor the metabolism data revealed significant differences between the feeding treatments in all experiments. No difference in performance was observed between the corresponding feeding groups in all experiments.

For the detection of gene fragments in samples from corn, feed and the chickens the polymerase-chain-reaction (PCR) was applied. It was based on the one hand on a universal plant-DNA primer-pair (*ivr*) to detect the in corn highly abundant plant chloroplast gene and on the other hand on a poultry-specific mitochondrial (227 bp) and on a *Bt176*-specific (479 bp) primer pair. The corn-specific gene *ivr* (226 bp) was detected in corn and feed as well as in digesta samples of broilers as far as the small intestine. In addition, chloroplast fragments were detected in meat samples, whereas the *Bt176*-specific gene (479 bp), apart from modified *Bt* corn and feed, could only be detected in the crop from the *Bt* group. No fragments of any kind were detected in eggs.

From these results it can be concluded that the two investigated corn varieties are substantially equivalent and they have no detectable difference in their influence on the performance or metabolism of laying hens and broilers. The nucleic acids are degraded very early in the digestive tract, namely in the crop. If there exists a chance of a gene transfer to bacteria or animal cells it would be only possible in the crop.

The supplementation of the broiler feed with protease apparently has no influence on nutrient composition of the feed or any of the investigated parameter.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Sicherheit von gentechnisch veränderten oder aus gentechnisch veränderten Zutaten hergestellten Lebens- oder Futtermitteln ist von wesentlichem weltweitem Interesse. Die Gentechnologie birgt neben technischem und ökologischem Nutzen mögliche Risiken, welche in zwei Kategorien unterteilt werden können: erstens der Einfluss auf die Gesundheit von Mensch und Tier einerseits durch die Bildung und/oder Übertragung von toxischen oder allergenen Substanzen, oder andererseits durch einen horizontalen Gentransfer und zweitens der Einfluss auf die Umwelt durch die Möglichkeit der Auskreuzung mit wilden Spezies und infolgedessen die Gefährdung der Biodiversität.

Die Ziele der vorliegenden Studie waren die Evaluierung der ernährungsphysiologischen Eigenschaften von isogenem Futter und der transgenen Variante, die Abklärung des Einflusses von transgenem Mais im Futter auf die Gesundheit und die Leistung von Geflügel, wie auch die Verfolgung des Abbaus der Nukleinsäuren im Verdauungstrakt des Geflügels. Damit wurde die Möglichkeit eines Transfers von Pflanzen DNA, im Besonderen von transgener DNA, in Bakterien und in das Geflügel und dessen Produkte Fleisch und Eier untersucht.

In einem ersten Versuch wurden 36 Legehennen während sechs Monaten entweder mit 60 % transgenem (*Bt176*) oder mit 60 % Kontrollmais in der Ration gefüttert. In drei weiteren Versuchen wurden jeweils 94 Broiler mit je zwei Futtervarianten mit einem Maisanteil von 60 % (gentechnisch verändert bzw. unverändert) gefüttert. Jeder Futtervariante wurde zur

Zusammenfassung

Hälfte zusätzlich eine Protease zur Verbesserung des Abbaus der Nahrungsproteine zugesetzt. Für alle Fütterungsversuche wurde eine transgene Hybride von Mais, der *Bt176* Mais, sowie seine Ausgangslinie (konventionell, nicht modifiziert) verwendet. Der *Bt176* Mais enthält als Fremdgene in seinem Genom ein *cry* Gen zur Produktion eines insektiziden Proteins gegen den Maiszünsler, das Herbizidresistenzgen *bar* und das Ampicillinresistenzgen *bla*.

Weder die Nährstoffzusammensetzung der Maiskörner und des Futters (mehr als sieben Parameter wurden analysiert), noch die Stoffwechseldaten liessen signifikante Unterschiede zwischen den Fütterungsvarianten aller Versuche erkennen. Zwischen den entsprechenden Varianten in allen Versuchen war kein Leistungsunterschied erkennbar.

Für den Nachweis von Genfragmenten in den Mais, Futter- und Geflügelproben wurde die Polymerasen-Kettenreaktion (PCR) angewendet. Diese basierte zum einen auf einem universellen Pflanzen-DNA Primerpaar (*ivr*) für ein im Mais reichlich vorhandenes Chloroplastengen, zum anderen auf einem geflügelspezifischen mitochondrialen (227 bp) und auf einem *Bt176*-spezifischen (479 bp) Primerpaar. Das maisspezifische Gen *ivr* (226 bp) wurde in den Mais- und Futterproben entdeckt, wie auch in den Proben des Verdauungstraktes der Broiler bis zum Dünndarm. Ausserdem wurde das Chloroplastenfragment in Fleischproben nachgewiesen. Das *Bt176*-spezifische Gen (479 bp) dagegen konnte ausser im *Bt* Mais und Futter nur noch im Kropf der *Bt* Variante nachgewiesen werden. In den Eiern wurden gar keine Fragmente detektiert.

Aus diesen Ergebnissen kann geschlossen werden, dass die zwei untersuchten Maisvarianten substantiell äquivalent sind und keinen nachweisbaren Unterschied in ihrem Einfluss auf die Leistung und den Stoffwechsel von Geflügel zeigen. Die Nukleinsäuren werden bereits früh im Verdauungstrakt, nämlich im Kropf, sehr stark zerkleinert. Ein allfälliger Gentransfer auf Bakterien oder in Tierzellen ist daher höchstens im Kropf möglich. Die Supplementierung des Broilerfutters mit Protease hat keinen Einfluss auf die Nährstoffzusammensetzung des Futter noch auf einen der anderen untersuchten Parameter.