

Abschlussbericht

Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung von Maissaatgut auf GVO- Verunreinigungen

(Frühjahr 2018)

Impressum

Herausgeber: Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft
Naumburger Str. 98, 07743 Jena
Tel.: 0361 574041-0, Fax: 0361 574041-390
Mail: pressestelle@tll.thueringen.de

Autoren: Abteilung Untersuchungswesen
Dr. Sabine Domey
Dipl. Ing. (FH) Maren Schmidt

April 2018

Copyright:

Diese Veröffentlichung ist urheberrechtlich geschützt. Alle Rechte, auch die des Nachdrucks von Auszügen und der foto-mechanischen Wiedergabe sind dem Herausgeber vorbehalten.

Inhaltsverzeichnis

1	Aufgabenstellung	4
2	Material und Methoden	4
2.1	Anzahl und Menge der Proben	4
2.2	Probenaufbereitung	4
2.3	DNA-Extraktion	4
2.4	Untersuchung der gentechnischen Veränderung mittels Real-time PCR.....	4
3	Ergebnisse	5
4	Zusammenfassung	6

1 Aufgabenstellung

Auf Grundlage des gemeinsamen Erlasses des Thüringer Ministeriums für Soziales, Familie und Gesundheit (TMSFG) - jetzt *Thüringer Ministerium für Migration, Justiz und Verbraucherschutz (TMMJV)* - und des Thüringer Ministeriums für Landwirtschaft, Forsten, Umwelt und Naturschutz (TMLFUN) - jetzt *Thüringer Ministerium für Infrastruktur und Landwirtschaft (TMIL)* - vom 28. Januar 2003, zuletzt geändert am 20.12.2011, sollten im Auftrag des Thüringer Landesverwaltungsamtes (TLVvA) 35 Maissaatgutproben mit ausländischem Erzeugerland von der Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft (TLL) gezogen und auf Verunreinigungen mit gentechnisch-veränderten Organismen (GVO) im I. Quartal 2018 untersucht werden.

2 Material und Methoden

Die molekularbiologische Diagnostik basierte auf der Subsamplingmethode der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 28b GenTG zum "Nachweis von gentechnischen Veränderungen in Saatgut" (G30.00.2, 2012).

2.1 Anzahl und Menge der Proben

Die Probenahme erfolgte durch Mitarbeiter des Außendienstes der TLL unter Anleitung des Referates Saatgut nach den dafür geltenden Vorschriften im Zeitraum vom 06.02. - 13.03.2018. Beprobte wurden Saatguthändler und landwirtschaftliche Betriebe laut Empfehlung der Bund/Länderarbeitsgemeinschaft Gentechnik (LAG) unter besonderer Berücksichtigung von zertifiziertem Importsaatgut (Drittstaaten und EU-Mitgliedstaaten). Es wurden insgesamt 35 Proben geprüft. Für jede Probe existiert eine amtlich verschlossene Rückstellprobe, die im Referat Saatgut hinterlegt ist.

Alle Proben gelangten trocken, amtlich verschlossen und gut beschriftet in das Gendiagnostiklabor der TLL.

Da für Saatgut noch kein Schwellenwert für GVO-Verunreinigungen festgelegt wurde, besteht Nulltoleranz. Für die sichere Detektion eines GVO-Samens ist nach statistischer Berechnung eine Probenmenge von rund 3 000 Samen (mindestens 2 995 Samen) erforderlich, um die Hypothese, dass kein GVO-Samenskorn vorhanden ist, mit 95 %iger Sicherheit zu widerlegen. Das entspricht bei Mais unter Zugrundelegung des durchschnittlichen Tausendkorngewichtes ca. 1 bis 1,3 kg. Unter Berücksichtigung einer technisch realisierbaren Erfassungsgrenze von 0,1 % wurden die Proben in drei Teilproben von jeweils 1 000 Samen unterteilt (Subsampling).

2.2 Probenaufbereitung

Die Maisproben wurden in jeweils drei Teilproben mit je 1 000 Samen mittels Körnerzählgerät unterteilt und jede Teilprobe getrennt vermahlen, homogenisiert und analysiert.

Zum Mahlen der Samen diente die Küchenmaschine TM 21 der Firma Vorwerk.

2.3 DNA-Extraktion

Zur DNA-Extraktion wurden jeweils 3 g Maismehl jeder Teilprobe eingesetzt und mit 10 ml PL1-Lysepuffer aus dem Nucleo Spin Plant II Kit (Fa. Macherey/Nagel) versetzt. Nach 30-minütiger Inkubation bei 65 °C im Schüttelwasserbad und anschließender Zentrifugation (10 min bei Maximum) wurde ein Aliquot von 400 µl des Überstandes entsprechend des Kit-Protokolls weiterbehandelt. Zur Kontrolle der Reinheit der Extraktion mittels nachfolgender Real-time PCR sind jeweils zwei Kontrollen ohne Probenmaterial angelegt worden (Extraktionskontrolle).

Die durchschnittliche DNA-Ausbeute wurde mit dem NanoDrop ermittelt. Proben mit DNA-Gehalten deutlich über 60 ng/µl wurden auf etwa diesen Gehalt verdünnt, um mögliche Inhibitoren während der PCR zu verhindern.

2.4 Untersuchung der gentechnischen Veränderung mittels Real-time Polymerasekettenreaktion (PCR)

Der Nachweis einer gentechnischen Veränderung erfolgte anhand eines Screenings nach dem 35S-Promotor (p35S-CaMV) und dem NOS-Terminator (T-nos) mittels Real-Time PCR im Duplexansatz (ASU L 00.00-122, 2008). Es gelangte der GoTaq[®]Probe qPCR Master Mix der Firma Promega zum Einsatz. Anhand dieses Screenings können außer LY038, DAS-40278-9 und VCO-01981-5 alle der gegenwärtig weltweit bekannten und methodisch analysierbaren

GVO-Maislinien erfasst werden. Für die eventspezifischen Nachweise von DAS-40278-9 (EURL, 2012), LY038 (EURL, 2008) und VCO-01981-5 (EURL, 2016) wurden die vom EURL veröffentlichten Methoden genutzt. Als negative Vergleichskontrolle diente nicht gentechnisch veränderter konventioneller Mais, als Positivkontrolle für das GVO-Screening NK603 0,1 % (ERM-BF415b) sowie für die eventspezifischen Nachweise die Referenzmaterialien DAS-40278 0,63 %, VCO-01981-5 0,1 % (ERM-BF438c) und ein Kontroll-Plasmid LY038 20 cp/µl (pENGL-00-01/06-01, EURL).

Die Kontrolle der Amplifizierbarkeit der extrahierten DNA erfolgte anhand der Vervielfältigung des *hmg*-Gens, wie es in der Methode zur Quantifizierung von MON810 beschrieben ist (EURL, 2006). Zum Ausschluss einer möglichen Kontamination während des PCR-Ansatzes existierte jeweils eine Wasserkontrolle. Alle Probenextrakte und Kontrollen unterlagen einer PCR-Doppelanalyse.

Der PCR-Lauf war auswertbar, wenn die Negativkontrollen (unbehandelter Mais, Extraktions- und Wasserkontrolle) kein Signal zeigten und die Positivkontrollen zu einem deutlichen Signal der erwarteten Größenordnung führten.

3 Ergebnisse

Um Doppeluntersuchungen in den Ländern zu vermeiden und bei positiver Testung unverzüglich benachrichtigen und handeln zu können, wurden die Ergebnisse aus den einzelnen Probeneingängen kontinuierlich an die Verantwortlichen der TLL, des TLVwA, des TMIL und des TMMJV mitgeteilt. Der Eintrag der Ergebnisse erfolgte in die Saatgut-Datenbank am Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) und ist für alle registrierten Nutzer einsehbar. Die Untersuchungen waren am 28. März 2018 beendet.

Tabelle: Ergebnisse der Maissaatgutuntersuchung für Thüringen 2018

Lfd Nr.	Probenehmer SVK-Nr.	Sorte	Anerkennungs-Nr.	Erzeugerland	GVO
1	TH7/39/17	AGROMETHA	F1551B600106	Frankreich	n.n.
2	TH7/40/17	DELITOP	H-17-099/1160	Ungarn	n.n.
3	TH7/41/17	LG 30224	F0964B033666 NZ	Frankreich	n.n.
4	TH7/42/17	LG 30223	F0964B033141 NZ	Frankreich	n.n.
5	TH7/43/17	Baxxos	F0111B905498	Frankreich	n.n.
6	TH7/44/17	SY TALISMAN	F0389B343726	Frankreich	n.n.
7	TH7/45/17	SY Unitop	F0424B4646955	Frankreich	n.n.
8	TH7/46/17	AGROMETHA	F1551B600107	Frankreich	n.n.
9	TH7/47/17	SY Talisman	F0389B368327	Frankreich	n.n.
10	TH7/48/17	Ambrosini	F0841B576665	Frankreich	n.n.
11	TH7/49/17	Babexx	F0111B905843	Frankreich	n.n.
12	TH7/50/17	SY Kardona	F0389B368419	Frankreich	n.n.
13	TH7/51/17	SY Werena	H-17-099/1065	Ungarn	n.n.
14	TH7/52/17	LG31276	F0964B034287NZ	Frankreich	n.n.

Lfd Nr.	Probenehmer SVK-Nr.	Sorte	Anerkennungs-Nr.	Erzeugerland	GVO
15	TH25/33/17	Amanova	F1551B600044	Frankreich	n.n.
16	TH25/34/17	Osterbi CS	F0252B6T1077	Frankreich	n.n.
17	TH25/35/17	Amagrano	F0298B135127	Frankreich	n.n.
18	TH25/36/17	SY Werena	F0253B248104	Frankreich	n.n.
19	TH25/37/17	Exxotica	F0111B906865	Frankreich	n.n.
20	TH11/34/17	Ricardinio	F1551B300022	Frankreich	n.n.
21	TH11/35/17	BENEDICTIO KWS	F0841B575920	Frankreich	n.n.
22	TH07/53/17	ZOEY	F0964B035504NZ	Frankreich	n.n.
23	TH07/54/17	Toninio	F0841B576869	Frankreich	n.n.
24	TH07/55/17	Laurinio	F0111B909341	Frankreich	n.n.
25	TH06/37/17	SY FEEDITOP	F0389B275279	Frankreich	n.n.
26	TH06/38/17	SUNSHINOS	F0964B021579SM	Frankreich	n.n.
27	TH26/28/17	P7515	F1554B300132	Frankreich	n.n.
28	TH26/29/17	P7524	F1554B339863	Frankreich	n.n.
29	TH25/39/17	Mixxture CS	F0111B909189	Frankreich	n.n.
30	TH25/40/17	Laurinio	F0111B906830	Frankreich	n.n.
31	TH25/41/17	AGRO FIDES	F0841B576959	Frankreich	n.n.
32	TH6/40/17	KWINNS hybrid	F00100063371	Slowakische Republik	n.n.
33	TH11/38/17	P8372	F1554B367949	Frankreich	n.n.
34	TH11/39/17	SY Amboss	H-18-099/0229	Frankreich	n.n.
35	TH07/63/17	RGT KARLAXX	F0111B907380	Frankreich	n.n.

n.n. - nicht nachweisbar

In keiner der untersuchten Teilproben konnte eine gentechnische Veränderung nachgewiesen werden.

4 Zusammenfassung

Im Rahmen der amtlichen Kontrolle wurden im 1. Quartal 2018 im Zeitraum vom 06.02.2018 (Beginn der Probenahme) bis 28.03.2018 (letzte Mitteilung der Untersuchungsergebnisse) in Verantwortung der Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft 35 Maissaatgutproben unterschiedlicher Sorten aus dem Saatguthandel auf GVO-Verunreinigungen untersucht. Die gendiagnostische Kontrolle des Saatguts basierte auf dem Handlungsleitfaden der Bund/Länderarbeitsgemeinschaft Gentechnik (LAG) zur „Harmonisierten experimentellen Saatgutüberwachung auf GVO-Anteile“ sowie auf dem Vorschlag der LAG für ein bundeseinheitliches Vorgehen. In keiner Probe konnte eine gentechnische Veränderung nachgewiesen werden.