



Abschlussbericht

Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung von Maissaatgut auf GVO-Verunreinigungen

(Frühjahr 2019)

Impressum

Herausgeber: Thüringer Landesamt für Landwirtschaft und Ländlichen Raum
Naumburger Str. 98, 07743 Jena
Tel.: 0361 574041-000, Fax: 0361 574041-390
Mail: postmaster@tllr.thueringen.de

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

Mai 2019

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	7

1 Aufgabenstellung

Auf Grundlage des gemeinsamen Erlasses des Thüringer Ministeriums für Soziales, Familie und Gesundheit (TMSFG) - jetzt *Thüringer Ministerium für Umwelt, Energie und Naturschutz (TMUEN)* - 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 Landesamtes für Umwelt, Bergbau und Naturschutz (TLUBN) 35 Maissaatgutproben mit ausländischem Erzeugerland vom Thüringer Landesamt für Landwirtschaft und Ländlichen Raum (TLLLR) gezogen und auf Verunreinigungen mit gentechnisch-veränderten Organismen (GVO) im I. Quartal 2019 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 des Referates 21 „Futtermittel- und Marktüberwachung, Düngung und Bodenschutz“ des TLLLR nach den dafür geltenden Vorschriften im Zeitraum vom 05.02. - 28.03.2019. Beprobte 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 23 „Phytopathologie und Saatgut“ hinterlegt ist.

Alle Proben gelangten trocken, amtlich verschlossen und gut beschriftet in das Gendiagnostiklabor des TLLLR.

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-Samenkorn 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 40 ng/µl wurden auf etwa diesen Gehalt verdünnt, um mögliche Inhibitionen 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 MON863 0,1 % (ERM-BF416b) 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 des TLLLR, des TLUBN, des TMIL und des TMUEN 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 4. April 2019 beendet.

Tabelle: Ergebnisse der Maissaatgutuntersuchung für Thüringen 2019

Lfd Nr.	Probenehmer SVK-Nr.	Sorte	Anerkennungs-Nr.	Erzeugerland	GVO
1	SVK168-0006/030	AMAVERDE	F0298C122111	Frankreich	n.n.
2	SVK168-0006/031	AGRO FIDES	F0298C125002	Frankreich	n.n.
3	SVK168-0007/039	LG30251	F0964C038982NZ	Frankreich	n.n.
4	SVK168-0007/040	LG30244	F0964C038457NZ	Frankreich	n.n.
5	SVK168-0007/041	Amaroc	F0298C121015	Frankreich	n.n.
6	SVK168-0007/042	AMAVERITAS	F0298C124007	Frankreich	n.n.
7	SVK168-0025/036	Delitop	H-18-099/0916	Ungarn	n.n.
8	SVK168-0025/037	Toninio	F0841C582054	Frankreich	n.n.
9	SVK168-0025/038	MAS 28.A	F0424C229641	Frankreich	n.n.
10	SVK168-0025/039	SY Werena	F0895C323407S	Frankreich	n.n.

Lfd Nr.	Probenehmer SVK-Nr.	Sorte	Anerkennungs-Nr.	Erzeugerland	GVO
11	SVK168-0025/040	SY Talismann	F0895C498435T	Frankreich	n.n.
12	SVK168-0011/037	SY Kardona	H-190099/0037	Ungarn	n.n.
13	SVK168-0011/038	LIKEIT	F0298C124148	Chile	n.n.
14	SVK168-0011/039	PONTIVI CS	F0252CD001988P	Frankreich	n.n.
15	SVK168-0011/040	P8201	A8P744919	Österreich	n.n.
16	SVK168-0007/043	LG30248	F0964C04481TNZ	Frankreich	n.n.
17	SVK168-0007/044	LG3216	F0964C04648TNZ	Frankreich	n.n.
18	SVK168-0007/046	Charleen	F0964C025209SM	Frankreich	n.n.
19	SVK168-0007/047	LG30306	F0964C024938SM	Frankreich	n.n.
20	SVK168-0025/044	RGT Karallax	F0111C908920	Frankreich	n.n.
21	SVK168-0007/049	Agrogant	146/RS0100/19	Serbien	n.n.
22	SVK168-0007/050	Amavit	F5552C010836	Frankreich	n.n.
23	SVK168-0007/051	Ambrosini	F0841C582923	Frankreich	n.n.
24	SVK168-0007/052	Agro Fides	F0841C583210	Frankreich	n.n.
25	SVK168-0011/045	SY Werena	H-19-099/0019	Ungarn	n.n.
26	SVK168-0011/046	SY Unitop	F0895C508255S	Ungarn	n.n.
27	SVK168-0011/047	ES Metronom	F0440C256173 CEX	Frankreich	n.n.
28	SVK168-0011/048	LG30248	F0964C02939TSM	Frankreich	n.n.
29	SVK168-0006/035	KODIAKS	F0298C128106	Frankreich	n.n.
30	SVK168-0026/040	Amagrano	F5552C010903	Frankreich	n.n.
31	SVK168-0006/037	SY Feeditop	H-18-099/0853	Ungarn	n.n.
32	SVK168-0006/038	AMAVIT	F1551C300107	Frankreich	n.n.
33	SVK168-0006/039	AMBROSINI HYB. 3 VOIES	F0841C582924	Frankreich	n.n.
34	SVK168-0006/040	KWINNS hybrid	8-0010-00630-21	Slowenien	n.n.
35	SVK168-0006/041	P8200	F1554C735365	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 2019 im Zeitraum vom 05.02.2019 (Beginn der Probenahme) bis 04.04.2019 (letzte Mitteilung der Untersuchungsergebnisse) in Verantwortung des Thüringer Landesamtes für Landwirtschaft und Ländlichen Raum, 35 Mais-saatgutproben 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.