

Abschlussbericht

# Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung von Maissaatgut auf GVO- Verunreinigungen

(Frühjahr 2017)

## **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

März 2017

### **Copyright:**

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

<b>1</b>	<b>Aufgabenstellung .....</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>Material und Methoden.....</b>	<b>4</b>
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
<b>3</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>5</b>
<b>4</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>6</b>

## 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 (TLVwA) 35 Maissaatgutproben mit ausländischem Erzeugerland von der Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft (TLL) gezogen und auf Verunreinigungen mit gentechnisch-veränderten Organismen (GVO) im I. Quartal 2017 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. - 23.03.2017. 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<sup>®</sup> 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 MON683 0,38 % sowie für die eventspezifischen Nachweise die Referenzmaterialien DAS-40278 10 % (ERM BF433d), 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 mittels konventioneller PCR und anschließender Gelelektrophorese basierte auf der Vervielfältigung einer konservierten Chloroplasten-Leu-tRNA-Sequenz (Methodensammlung der LAG). 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 o. g. Verantwortlichen 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 2017 beendet.

Tabelle: Ergebnisse der Maissaatgutuntersuchung für Thüringen 2017

Lfd Nr.	Probenehmer SVK-Nr.	Sorte	Anerkennungs-Nr.	Erzeugerland	GVO
1	TH11/24/16	DKC 3642	H-16-050/1041	Ungarn	n.n.
2	TH11/25/16	SY Werena	F0253X648216	Frankreich	n.n.
3	Th11/26/16	SY Unitop	F0253X593085	Frankreich	n.n.
4	TH 27/12/16	LG 30224	F0964X030235RI	Frankreich	n.n.
5	TH 27/13/16	SY Kardona	H-16-099/1044	Ungarn	n.n.
6	TH 27/14/16	LG 3216	F0964X03758TNZ	Frankreich	n.n.
7	TH 6/24/16	AMBROSINI hybride 3 voies	F0841X569393	Frankreich	n.n.
8	TH25/24/16	Agro Fides	F 0841X570101	Frankreich	n.n.
9	TH25/25/16	Claudio	F 1551X300018	Chile	n.n.
10	TH 25/26/16	SY Nordicstar	F0424X587927S	Frankreich	n.n.
11	TH 25/27/16	DKC 3333	F0076X3680 MEA	Frankreich	n.n.
12	TH 25/28/16	KWS Stabil	F0298X320084	Chile	n.n.
13	TH 25/29/16	Ambrosini	F0841X569091	Frankreich	n.n.
14	TH 11/27/16	P8200	F1761X953854	Frankreich	n.n.

Lfd Nr.	Probenehmer SVK-Nr.	Sorte	Anerkennungs-Nr.	Erzeugerland	GVO
15	TH 11/28/16	Eurostar	F0440X202881C	Frankreich	n.n.
16	TH27/16/16	DKC 3307	H-16-050/1082	Ungarn	n.n.
17	TH27/17/16	Messago	F0964X030730NZ	Frankreich	n.n.
19	TH6/26/16	SKOLLI CS	F0164X5N9479	Frankreich	n.n.
20	TH6/27/16	ZOEY	F0964X031408NZ	Frankreich	n.n.
21	TH6/28/16	MALLORY	F0964R0175OTSM	Frankreich	n.n.
22	TH11/30/16	LG30248	F0964X00582XNZ	Frankreich	n.n.
23	TH11/29/16	SY Talisman	F0389X648392	Frankreich	n.n.
24	TH07/74/16	DKC4590	H-16-050/1021	Ungarn	n.n.
25	TH07/75/16	SY Campona	H-17-099/0279	Ungarn	n.n.
26	TH25/30/16	Amagrano	F0298X550966	Frankreich	n.n.
27	TH25/31/16	Amaverde	F0298X220496	Frankreich	n.n.
28	TH25/32/16	KWINNS	F5552X005956	Frankreich	n.n.
29	TH07/76/16	LG30291	F0964X018598SM	Frankreich	n.n.
30	TH07/77/16	ZOEY	F0964X031410NZ	Frankreich	n.n.
31	TH07/78/16	P7923	A6P975385	Österreich	n.n.
33	TH06/31/16	P8200	F1761X953863	Frankreich	n.n.
34	TH06/32/16	SY FEEDITOP	F0389X698829	Frankreich	n.n.
35	TH11/31/16	Atletas	F0841X569287	Frankreich	n.n.
36	TH06/37/16	SY Respect	H-17-099/0094	Ungarn	n.n.
37*	TH06/38/16	ES AMAZING	F0440X209340	Frankreich	n.n.

n.n. - nicht nachgewiesen

\* Es wurden 37 Proben gezogen, weil Probe 18 und 32 Doppelbeprobungen waren.

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

#### 4 Zusammenfassung

Im Rahmen der amtlichen Kontrolle wurden im Frühjahr 2017 im Zeitraum vom 06.02.2017 (Beginn der Probenahme) bis 28.03.2017 (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.