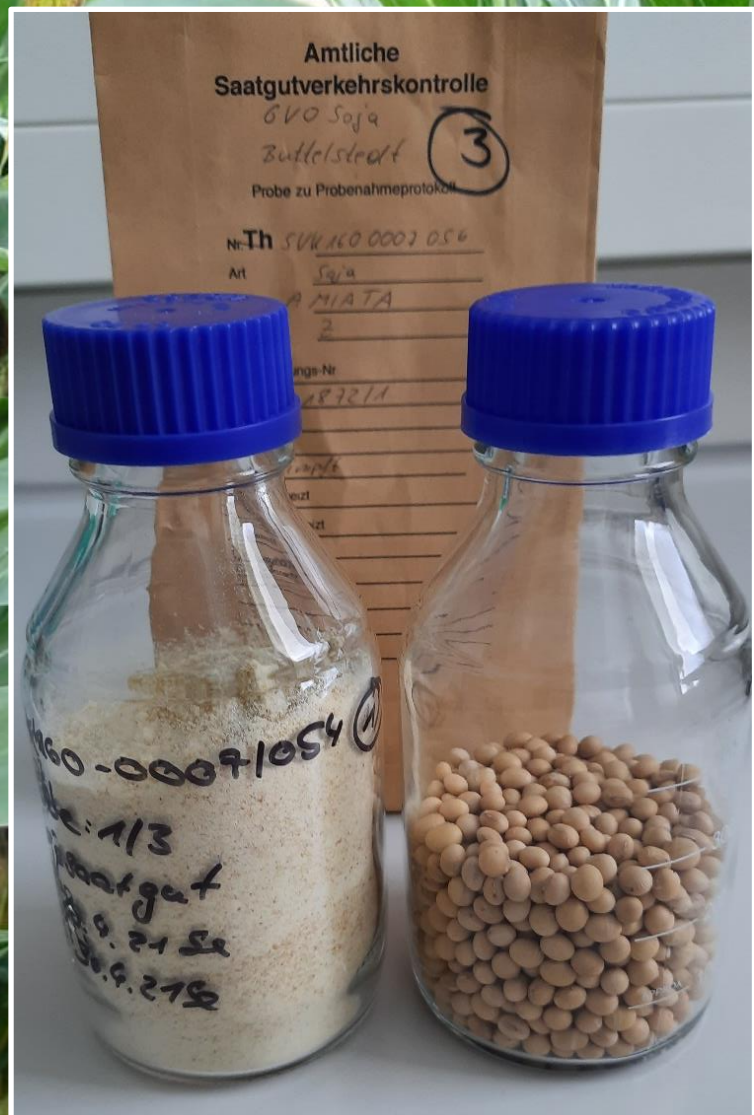


Ergebnisse der Untersuchungen von Mais- und Sojasaatgut auf GVO-Verunreinigungen 2021



Impressum

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

Bearbeiter: Dr. Sabine Domey und Maren Schmidt
Untersuchungswesen und Fachrechtskontrollen
Referat Pflanzenschutz und Saatgut
Tel.: 0361 574041-248
E-Mail: sabine.domey@tlllr.thueringen.de

Juni 2021

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

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.....	5
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 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 und 6 Sojaprobe mit ausländischem Erzeugerland vom Thüringer Landesamt für Landwirtschaft und Ländlichen Raum (TLLLR) gezogen und auf Verunreinigungen mit gentechnisch-veränderten Organismen (GVO) im I. Quartal 2021 untersucht werden. Im festgelegten Untersuchungszeitraum bis zur 15. KW lag noch kein Sojasaatgut in den Zentrallagern der Züchterhäuser bzw. den Logistikfirmen in Thüringen vor, sodass nur 2 Sojaprobe, die zur Anerkennung in Thüringen anstanden, auf GVO geprüft werden konnten.

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 25.01. - 24.03.2020. 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 Mais- und 2 Sojaprobe 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-Samenskorn vorhanden ist, mit 95 %iger Sicherheit zu widerlegen. Unter Berücksichtigung einer technisch realisierbaren Erfassungsgrenze von mindestens 0,1 % wurden die Proben in drei Teilproben von jeweils 1 000 Samen unterteilt (Subsampling).

2.2 Probenaufbereitung

Die Saatgutproben 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 Mehl jeder Teilprobe eingesetzt und mit 10 ml OPT-Lysepuffer aus dem innuPREP Plant DNA I Kit (Analytik Jena GmbH) versetzt. Nach 30-minütiger Inkubation bei 65 °C im Schüttelwasserbad und anschließender Zentrifugation (10 min bei 4000 rpm) wurden bei Mais 250 µl des Überstandes mit 250 µl OPT-Puffer verdünnt, bei Soja 50 µl Überstand mit 450 µl OPT-Puffer und nach Kit-Protokoll und unter Nutzung des innuPure C16 Automaten 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 PCR

Der Nachweis einer gentechnischen Veränderung bei Mais 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 (Promega GmbH) zum Einsatz. Anhand dieses Screenings können bei Mais 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 Mais-DNA erfolgte anhand der Vervielfältigung des *hmg*-Gens, wie es in der Methode zur Quantifizierung von MON810 beschrieben ist (EURL, 2006). Um mögliche Inhibitionen der DNA-Extrakte nachzuweisen, wurde der *hmg*-Nachweis vergleichend für zwei Verdünnungen (unverdünnt und 1:10 verdünnt) durchgeführt. 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.

Für den Nachweis von GV-Soja wurde ein breiteres Screening auf p35S, t-nos, das *pat*-Gen, *bar*-Gen, das CTP2-CP4-EPSPS-Gen-Konstrukt und auf sechs GV-Soja-Events mittels Multiplex-PCR (305423, MON87701, MON87769, MON87708, BPS-CV-127-9, DAS-68416-4) durchgeführt. Ergänzt wurde die Analytik um den eventspezifischen Nachweis von MON87751, der nicht durch das Screening erfasst werden kann. Als Positivkontrollen dienten zertifizierte europäische und amerikanische Referenzmaterialien (ERM und ASCO) des entsprechenden Events bzw. von Events mit entsprechendem Gen oder Genkonstrukt. Die Amplifikationskontrolle sowie die Inhibitionskontrolle erfolgten anhand des *Lectin*-Gennachweises.

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 TLLR, 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 30.03.2021 beendet.

Tabelle 1: Ergebnisse der Maissaatgutuntersuchung für Thüringen 2021

Lfd. Nr.	Anerkennungsnummer	Sorte	GVO
1	F0841A596722	AGRO MAX HYB. 3 VOIES	nicht nachgewiesen
2	DE030-0050497-01	Agro Fides	nicht nachgewiesen
3	F0964A030993SM	MATTHEW	nicht nachgewiesen
4	F0964A045373NZ	LG31238	nicht nachgewiesen
5	F0440A298447C	ES METRONOM	nicht nachgewiesen
6	F0440A298372C	ES METRONOM	nicht nachgewiesen
7	F440A298439C	ES METRONOM	nicht nachgewiesen

Lfd. Nr.	Anerkennungsnummer	Sorte	GVO
8	F5552A017685	AGROGANT	nicht nachgewiesen
9	F0841A598004	AMBROSINI HYB. 3 VOIES	nicht nachgewiesen
10	F1551A200093	AMAVIT	nicht nachgewiesen
11	F5552A017691	KARIBOUS	nicht nachgewiesen
12	F1551A600086	ILEO	nicht nachgewiesen
13	F0841A596730	AGRO MAX HYB. 3 VOIES	nicht nachgewiesen
14	F1551A300064	ESPIRITO	nicht nachgewiesen
15	F1551A300053	AMAROC	nicht nachgewiesen
16	F0964A031034SM	LG31279	nicht nachgewiesen
17	F0895A409156K	SY MILKYTOP	nicht nachgewiesen
18	F0841A597631	AGRO MANA HYB. 3 VOIES	nicht nachgewiesen
19	F0440A316855C	ES METRONOM	nicht nachgewiesen
20	F0964A030817SM	LG31272	nicht nachgewiesen
21	F1551A300095	AMAVIT	nicht nachgewiesen
22	F0895A332931S	SY Werena	nicht nachgewiesen
23	F0895A497109S	SY Unitop	nicht nachgewiesen
24	H-21-093/0077	LG30258	nicht nachgewiesen
25	H-20-097/1953	PR34B39	nicht nachgewiesen
26	F0895A421396S	SY Glorius	nicht nachgewiesen
27	F0252AD000269N	Coditime	nicht nachgewiesen
28	F0895A315676T	SY FEEDITOP	nicht nachgewiesen
29	F1554A756411	P8500	nicht nachgewiesen
30	F0964A046966NZ	LG31219	nicht nachgewiesen
31	F0424A265773	MAS20A	nicht nachgewiesen
32	F0895A315657T	SY FEEDITOP	nicht nachgewiesen
33	F0841A598660	COLISEE	nicht nachgewiesen
34	F0440A11678C	ES BOND	nicht nachgewiesen
35	F0440A310408	ES PILLAR	nicht nachgewiesen

Tabelle 2: Ergebnisse der Sojasaatgutuntersuchung für Thüringen 2021

Lfd. Nr.	Anerkennungsnummer	Sorte	GVO
1	DE160-130030	Simocine SZS	nicht nachgewiesen
2	DE160-630043	Cantate PZO	nicht nachgewiesen

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

4 Zusammenfassung

Im Rahmen der amtlichen Kontrolle wurden im 1. Quartal 2021 im Zeitraum vom 25.01.2021 (Beginn der Probenahme) bis 30.03.2021 (letzte Mitteilung der Untersuchungsergebnisse) in Verantwortung des Thüringer Landesamtes für Landwirtschaft und Ländlichen Raum, 35 Mais-saatgutproben unterschiedlicher Sorten aus dem Saatguthandel sowie zwei im Rahmen der amtlichen Saatgutenerkennung eingereichte Sojasaatgutproben 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“ (2015) sowie auf dem Vorschlag der LAG für ein bundeseinheitliches Vorgehen. In keiner Probe konnte eine gentechnische Veränderung nachgewiesen werden.