



# Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung von Mais-saatgut auf GVO-Verunreinigungen (Frühjahr 2014)

**Impressum**

Herausgeber: Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft  
Naumburger Str. 98, 07743 Jena  
Tel.: 03641 683-0, Fax: 03641 683-390  
Mail: [pressestelle@tll.thueringen.de](mailto:pressestelle@tll.thueringen.de)  
Abteilung Pflanzenproduktion  
Tel.: 0361 55068-117, Fax: 0361 55068-140

**Autor:** Dr. Sabine Domey  
Dr. Sandra Döpping (Thüringer Landesamt für Verbraucherschutz, Bad Langensalza)

April 2014

**Copyright:**

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

	<b>Seite</b>
<b>1 Aufgabenstellung .....</b>	<b>4</b>
<b>2 Material und Methoden.....</b>	<b>4</b>
2.1 Anzahl und Menge der Proben .....	4
2.2 Probenaufbereitung .....	6
2.3 DNA-Extraktion .....	6
2.4 Untersuchung der gentechnischen Veränderung mittels Echtzeit- Polymerasekettenreaktion (real-time PCR) .....	6
<b>3 Ergebnisse .....</b>	<b>7</b>
<b>4 Zusammenfassung .....</b>	<b>7</b>

# 1 Aufgabenstellung

Auf Grundlage des gemeinsamen Erlasses des Thüringer Ministeriums für Soziales, Familie und Gesundheit (TMSFG) und des Thüringer Ministeriums für Landwirtschaft, Forsten, Umwelt und Naturschutz (TMLFUN) vom 28. Januar 2003, zuletzt geändert am 20.12.2011, sollten im Auftrag des Thüringer Landesverwaltungsamtes (TLVwA) etwa 35 Proben Importmaissaatgut vor der Aussaat vom gendiagnostischen Untersuchungslabor der Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft (TLL) auf Verunreinigungen mit gentechnisch-veränderten Organismen (GVO) untersucht werden, darunter bei Bedarf Proben in Amtshilfe durch das Dezernat tierische Lebensmittel des Thüringer Landesamtes für Verbraucherschutz (TLV) in Bad Langensalza (laut Schreiben des TLVwA vom 17. Februar 2014: „Vollzug des Gentechnikgesetzes; Amtshilfeersuchen zur Molekularbiologischen Untersuchung von Saatgut in Bezug auf gentechnisch veränderte Organismen (GVO) im Jahre 2014“).

## 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 24.01.-27.02.2014. Beprobt 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, darunter fünf Proben der lfd. Nr. 20-25 im Amtshilfeersuchen vom TLV, Dezernat 4, Lebensmittel tierischer Herkunft in Verantwortung von Frau Dr. Döpping. Für jede Probe existiert eine amtlich verschlossene Rückstellprobe, die im Referat Saatgut hinterlegt ist. Detaillierte Angaben zu: Probennummer, Sorte, Anerkennungsnummer und Erzeugerland sind in der Tabelle zusammengestellt.

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-Samenkorn vorhanden ist, mit 95 %iger Sicherheit zu widerlegen. Das entspricht bei Mais unter Zugrundelegung des durchschnittlichen Tausendkorngewichtes ca. 1 bis 1,5 kg. Unter Berücksichtigung einer technisch realisierbaren Erfassungsgrenze von 0,1 % wurden die Proben in drei Teilproben von jeweils 1 000 Samen unterteilt (Subsampling).

Die Proben der lfd. Nr. 21-25 wurden nach dem Subsampling in das TLV zur weiteren Untersuchung gegeben.

**Tabelle:** Maissaatgutproben zur Untersuchung auf GVO-Verunreinigungen

Lfd Nr.	SVK-Nr.	Sorte	Anerkennungsnummer	Erzeugerland	Beprobte Einrichtung
1	Th26/34/13	<i>Podium</i>	3-0010-00636-74	Slowakische Republik	Agrargenossenschaft Fambach e.G.
2	Th26/35/13	<i>Ambrosini</i>	F0298T320239	Chile	Agrargenossenschaft Fambach e.G.
3	Th14/19/13	<i>SY Unitop</i>	F0253T415469 //EX	Frankreich	Raiffeisen Waren-Zentrale Rhein-Main e.G. Neustadt/Orla
4	Th14/20/13	<i>NK Falkone</i>	H-3-099/1085	Ungarn	Raiffeisen Waren-Zentrale Rhein-Main e.G. Neustadt/Orla
5	Th14/21/13	<i>Kalvin</i>	F0389T421453	Frankreich	Raiffeisen Waren-Zentrale Rhein-Main e.G. Neustadt/Orla

Lfd	SVK-Nr.	Sorte	Anerkennungs-	Erzeuger-	Beprobte
6	Th07/26/13	SY Unitop	H-3-099/0804	Frankreich	Raiffeisen Waren-Zentrale Weimar
7	Th07/27/13	Colisee	F0841T544358 S	Frankreich	Raiffeisen Waren-Zentrale Weimar
8	Th26/36/13	Colisee	F0841T544357 S	Frankreich	AGH Agrargesellschaft Herpf mb Rippershausen
9*	Th4/34/13	DKC 3507	F0076T9176MEA	Rumänien	Beiselen GmbH Vertriebsstandort Erfurt
10	Th4/35/13	Asteri CS	F0252T3P0137	Frankreich	BayWa AG Bad Tennstedt
11	Th6/32/13	Lorado	F0964T018138NZ	Frankreich	BayWa AG Agrar Römhild
12	Th6/33/13	Nitro	F0964T011160SM	Frankreich	BayWa AG Agrar Römhild
13	Th6/34/13	SY Comandor	F0389T438237	Frankreich	BayWa AG Agrar Römhild
14	Th25/40/13	Borelli	F0252T3P0216	Frankreich	LHG Landhandelsgesellschaft e.G. Schmölln
15	Th25/41/13	Amagrano hybride simple	F0841T544268 S	Frankreich	LHG Landhandelsgesellschaft e.G. Schmölln
16	Th4/36/13	NK Perform	H-3-099-1351	Ungarn	Beiselen GmbH Vertriebsstandort Erfurt
17	Th4/37/13	ES Regain	F0440T139203	Frankreich	Beiselen GmbH Vertriebsstandort Erfurt
18	Th27/04/13	Ricardinio	F0491T234031	Frankreich	Agrarunternehmen „Wöllmisse“ Schlöben e.G. Stadt- roda
19	Th27/05/13	Ricardinio	F0491T235032	Frankreich	Agrargenossenschaft Schöps e.G. Schöps
20	Th07/29/13	Ambrosini	F0298T340237	Chile	Raiffeisen Waren-Zentrale Rhein- Main e.G. Walschleben
21	Th11/18/13	NK Perform	H-3-099/0884	Ungarn	Agrargesellschaft bürgerlichen Rechts Groß- wechungen
22	Th11/19/13	Aagenda	F0964T018695NZ	Frankreich	Raiffeisen Warenzentrale Birkun- gen
23	Th11/20/13	SY Unitop	H-3-099/0803	Frankreich	Raiffeisen Warenzentrale Birkun- gen
24	Th27/06/13	Ambrosini Hyb. 3 Voies	F0841T544962S	Frankreich	AHG Erfurt
25	Th4/38/13	MAS 18T.	AC ES 02500225/T 145204	Frankreich	BayWa AG Agrar Bad Tennstedt
26	Th4/39/13	Alduna	F0964T011007SM	Frankreich	BayWa AG Agrar Bad Tennstedt
27**	Th4/40/13	Delitop	F0389T359839	Ungarn	BayWa AG Agrar Bad Tennstedt
28** *	Th26/38/13	Ambrosini Hyb. 3 Voies	F0841T544962S	Frankreich	Agrargenossenschaft Moorgrund e.G. Moorgrund/Witzelroda
29	Th26/37/13	Laurinio	F0111T303238	Frankreich	Agrargenossenschaft Werratal e.G. Barchfeld Bad Salzungen
30	Th11/21/13	SY Comandor	F0424T454045S	Frankreich	Agrarproduktion Urbach GmbH
31	Th11/22/13	NK Perform	H-3-099/1361	Ungarn	Agrar GmbH Greußen
32	Th11/23/13	DKC3507	F0076T9175NEZ	Frankreich	Agrar GmbH Greußen
33	Th27/07/13	Amanatidis	F0298T220399	Frankreich	Agrargenossenschaft e.G. Otten- dorf
34	Th27/08/13	Ambition	F0964T010840SM	Frankreich	Abtei Bäuerliche AG Rauschwitz
35	Th26/40/13	Suleyka	F0964T018137NZ	Frankreich	Agrargesellschaft Schmalkalden-Schwallungen e.G.
36	Th26/39/13	Suleyka	F0964T019197NZ	Frankreich	Agrargesellschaft Schmalkalden-Schwallungen e.G.
37	Th27/09/13	LG32.20	F0964T02076TNZ	Frankreich	Agrarproduktion Frauneprießnitz GmbH & Co.KG
38	Th11/24/13	LG30.222	F0964T019127NZ	Frankreich	Agrar-GmbH "Am Dün" Deuna

\* Probe ist bereits in Brandenburg untersucht (negativer Befund)

\*\* Probe wird bereits in Baden-Württemberg untersucht (negativer Befund)

\*\*\* Doppelbeprobung in Thüringen

## 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 NucleoSpin® Plant-Kit von 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. Im TLV wurden 5 g/2x 200 mg zur DNA-Extraktion eingesetzt und entsprechend der DIN EN ISO 21571:2005 Anhang A.3 verfahren. Zur Kontrolle der Reinheit der Extraktion mittels nachfolgender real-time PCR sind jeweils zwei Kontrollen ohne Probenmaterial angelegt worden.

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 (3'-nos) mittels Real-Time PCR im Duplexansatz (ASU L 00.00-122, 2008). Es gelangte der GoTaq®Probe qPCR Master Mix der Firma Promega (TLL) bzw. der Quantitect Multiplex PCR NoRox Master Mix (TLV) zum Einsatz. Anhand dieses Screenings können außer LY038 und DAS-40278-9 alle der gegenwärtig weltweit bekannten GVO-Mais-Linien erfasst werden. Im TLV wurde entsprechend der Amtlichen Methoden außerdem der bar- (ASU L 00.00-124, 2008), pat - (ASU G 30.40.1, 2012), pFMV- (Ringversuchsvorschrift § 64 LFGB), CTP2-CP4-EPSPS (ASU L00.00-125, 2008) und LY038-Nachweis (EURL, 2008) durchgeführt, in der TLL der eventspezifische Nachweis für DAS-40278-9 (EURL, 2012). Als negative Vergleichskontrolle diente nicht gentechnisch veränderter konventioneller Mais, als Positivkontrollen für das GVO-Screening NK603 5 % (ERM BF415f und MON863 1 % (ERM BF416c), verschiedene Serien des IRMM, z.B. ERM-BF413 für MON810, GVO-Screening Kontroll-Plasmid 2 (impectus bioscience, Bremerhaven), für den Nachweis des entsprechenden GVO-Events DAS-40278-9 10 % (ERM BF433d) und pENGL-00-01/06-01 für LY038 (EURL).

Die Kontrolle der Amplifizierbarkeit der extrahierten DNA basierte auf der Vervielfältigung des maisspezifischen *hmg*-Gens (EURL, 2008) in der TLL bzw. des *adh*-Gens (EURL, 2005) im TLV. 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 unverzüglich an die Verantwortlichen mitgeteilt. Der Eintrag der Ergebnisse erfolgte in eine bundeseinheitliche Tabelle des Bundesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) und ist für alle registrierten Nutzer einsehbar. Die Untersuchungen waren am 11. März 2014 beendet.

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

## **4 Zusammenfassung**

Im Rahmen der amtlichen Kontrolle wurden im Frühjahr 2014 im Zeitraum vom 24.01.2014 (Beginn der Probenahme) bis 11.03.2014 (letztes Untersuchungsergebnis) 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.