



**Ergebnisse  
der molekularbiologischen  
Untersuchung von Maissaatgut  
auf GVO-Verunreinigungen  
(Frühjahr 2011)**

- Abschlussbericht -

Besuchen Sie uns auch im Internet:  
[www.tll.de/ainfo](http://www.tll.de/ainfo)

## **Impressum**

Herausgeber: Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft  
Naumburger Str. 98, 07743 Jena  
Tel.: (03641) 683-0, Fax: (03641) 683 390  
e-Mail: [pressestelle@jena.tll.de](mailto:pressestelle@jena.tll.de)

Autor: Abteilung Untersuchungswesen  
**Dr. Sabine Domey,**  
**Dipl.-Ing. Rüdiger Mehnert**

Mai 2011

- Nachdruck - auch auszugsweise - nur mit Quellenangabe gestattet. -

# Inhaltsverzeichnis

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

## 1 Aufgabenstellung

Auf Grundlage eines gemeinsamen Erlasses des Thüringer Ministeriums für Soziales, Familie und Gesundheit (TMSFG) und des Thüringer Ministeriums für Landwirtschaft, Forsten, Umwelt und Naturschutz (TMLFUN) sollten im Auftrag des Thüringer Landesverwaltungsamtes 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.

## 2 Material und Methoden

Die molekularbiologische Diagnostik basierte auf dem „Konzept des Unterausschusses Methodenentwicklung der Bund/Länderarbeitsgemeinschaft Gentechnik (LAG) zur Untersuchung von Saatgut auf Anteile gentechnisch veränderter Pflanzen“ in seiner aktuellen Version vom März 2006.

### 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. Beprobte wurden Saatguthändler laut Empfehlung der LAG unter besonderer Berücksichtigung von zertifiziertem Importsaatgut (Drittstaaten und EU-Mitgliedstaaten). Es wurden insgesamt 35 Proben geprüft, darunter die Sorte LG 30.218 (Ifd. Nr. 31), die parallel in einem anderen Bundesland untersucht wurde. Für jede Probe existiert eine amtlich verschlossene Rückstellprobe, die im Referat Saatgut hinterlegt ist. Detaillierte Angaben u. a. zu: Probennummer, Zeitpunkt der Probenahme, Sorte, Anerkennungsnummer, Erzeugerland sind in der Tabelle zusammengestellt.

Alle Proben gelangten trocken 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 1,5 kg. Unter Berücksichtigung einer technisch realisierbaren Erfassungsgrenze von 0,1 % wurden die Proben in drei Teilproben von jeweils 1 000 Samen unterteilt (Subsampling).

**Tabelle:** Probenahme von Maissaatgut zur Untersuchung auf GVO-Verunreinigungen (Mitteilung MEHNERT, 2011)

Lfd.-Nr.	Proben-Nr. SVK DTH	Daten zur Beprobung			Sorte	Anerkennungsnummer	Erz.-Land	Beprobte Einrichtung
		Probenahme	Eingang	Ausgang				
1	06/34/10	02.02.11	04.02.11	04.02.11	Nescio	F 0964W004857N2	F	BayWa Römhild
2	06/35/10	02.02.11	04.02.11	04.02.11	Aapospito	F 0964W004492NZ	F	BayWa Römhild
3	06/36/10	02.02.11	04.02.11	04.02.11	Klosi CS	F 0252WON0016	F	BayWa Römhild
4	06/37/10	02.02.11	04.02.11	04.02.11	DKC 2949	F 0076W8138MEA	F	BayWa Römhild
5	06/38/10	02.02.11	04.02.11	04.02.11	Monumental hybrid	O BR4291-OB004	Ro	BayWa Römhild
6	25/38/10	07.02.11	08.02.11	09.02.11	Amanatidis	F 0298W522686	F	RWZ Gera
7	25/39/10	07.02.11	08.02.11	09.02.11	Cristiano	F 0298W222280	F	RWZ Gera
8	25/40/10	07.02.11	08.02.11	09.02.11	LG 32.20	F 0964W003896 NZ	F	RWZ Gera
9	25/41/10	07.02.11	08.02.11	09.02.11	Baxxos	F 0111WA9525 B	F	RWZ Gera
10	25/42/10	07.02.11	08.02.11	09.02.11	Beethoven	F0964W005077 NZ	F	RWZ Gera
11	15/135/10	08.02.11	09.02.11	09.02.11	DKC 2871	F 0076G4798 MED	F	Raiffeisen Straußfurt

12	15/136/10	08.02.11	09.02.11	09.02.11	DKC 3398	F 0076W8230 MEY	F	Raiffeisen Straußfurt
13	05/29/10	14.02.11	16.02.11	16.02.11	Prollix	F 0111W951439	F	BayWa Bad Tennstedt
14	05/30/10	14.02.11	16.02.11	16.02.11	Friedrixx Duo	F 0111W951926	F	BayWa Bad Tennstedt
15	05/31/10	14.02.11	16.02.11	16.02.11	Sileno	F 0298W522767	F	BayWa Bad Tennstedt
16	05/32/10	14.02.11	16.02.11	16.02.11	Oldham	F 0164W163199	F	BayWa Bad Tennstedt
17	05/33/10	14.02.11	16.02.11	16.02.11	Kalvin	F 0389W162203	F	BayWa Bad Tennstedt
18	15/160/10	22.02.11	22.02.11	22.02.11	LG 30.222	F 0964W004893NZ	F	Raiffeisen Walschle- ben
19	04/36/10	22.02.11	23.02.11	23.02.11	DKC 3094	F0076W8180RMA	H	Beiselen Erfurt
20	04/37/10*	22.02.11	23.02.11	23.02.11	Ronaldinio	OCL 6371- oBR09	Ro	Beiselen Erfurt
21	07/43/10	24.02.11	25.02.11	25.02.11	PR38Y34	AOP293068	A	Raiffeisen Weimar
22	07/44/10	24.02.11	25.02.11	25.02.11	PR 39F58	H-0-097/0154	H	Raiffeisen Weimar
23	07/45/10	24.02.11	25.02.11	25.02.11	Ajaxx	F0111W955867	F	Raiffeisen Weimar
24	07/46/10	24.02.11	25.02.11	25.02.11	Aphrodite Hyb. 3 voies	F0841W504733 S	F	Raiffeisen Weimar
25	07/47/10	24.02.11	25.02.11	25.02.11	Friedrixx	AOR3277	A	Raiffeisen Weimar
26	15/162/10	01.03.11	01.03.11	02.03.11	Fernandez	OBR4261- OBR 14	Ro	Raiffeisen Walschle- ben
27	15/164/10	01.03.11	01.03.11	02.03.11	Padrino Hy3 voies	F0841W515226	F	Raiffeisen Walschle- ben
28	06/39/10	28.02.11	02.03.11	02.03.11	Bejm Hybr.	O-2453-01237-01	Slo	BayWa Römhild
29	06/40/10	28.02.11	02.03.11	02.03.11	NK Falkone	F2291W156630 S	Chile	BayWa Römhild
30	06/41/10	28.02.11	02.03.11	02.03.11	DKC 3301	F0076W8186 RGA	F	BayWa Römhild
31*	26/45/10	02.03.11	04.03.11	04.03.11	LG 30.218	F0964W004017 SM	F, Chili	<i>Roth Agrar- handel Leimbach</i>
32	25/43/10	07.03.11	08.03.11	08.03.11	Magixx Duo	F0111W951783	F	RWZ Gera
33	25/44/10	07.03.11	08.03.11	08.03.11	Susann Sam 1487	F0164W000204 MR1	F	RWZ Gera
34	04/46/10	07.03.11	08.03.11	08.03.11	Sphinx Duo	F0111W956435	F	Beiselen Erfurt
35	04/47/10	07.03.11	09.03.11	09.03.11	ES Regain M1 Std.	F 0440W102417 D	F	Beiselen Erfurt

\* wurde zeitgleich in Bayern untersucht

## 2.2 Probenaufbereitung

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

Zum Mahlen der Samen diente die Küchenmaschine TM 21 der Firma Vorwerk. Die Vermahlung erfolgte so, dass der Hauptanteil der Korngrößen zwischen 0,2 mm bis 0,6 mm ca. 65 % ± 1 % betrug und der Anteil größerer Teilchen zwischen 0,6 mm und 2 mm nicht größer als 11 % war.

### **2.3 DNA-Extraktion**

Zur DNA-Extraktion wurden jeweils 3 g Maismehl jeder Teilprobe eingesetzt und mit 10 ml C1-Lysepuffer aus dem NucleoSpin® Plant-Kit von Macherey/Nagel versetzt. Nach 30 minütiger Inkubation bei 60 °C im Schüttelwasserbad und anschließender Zentrifugation (10 min bei Maximum) wurde ein Aliquot von 400 µl des Überstandes entsprechend des Kit-Protokolls weiterbehandelt. Als negative Vergleichskontrollen dienten konventioneller Mais, als Positivkontrollen MON810, MIR604 und NK603 in Konzentrationen zwischen 0,5 und 1 %. Zur Kontrolle der Reinheit der Extraktion 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 entsprechend 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 (amtliche Methode nach § 64 LFGB, 2008). Es gelangte der TaqMan Universal Mastermix der Firma Applied Biosystems zum Einsatz. Anhand dieses Screenings können außer Lyo38 alle der gegenwärtig weltweit bekannten GVO-Mais-Linien erfasst werden.

Die Kontrolle der Amplifizierbarkeit der extrahierten DNA basierte auf der Vervielfältigung einer konservierten Chloroplasten-Leu-tRNA-Sequenz mittels konventioneller PCR und anschließender gelelektrophoretischer Auftrennung des replizierten DNA-Amplifikats. Zur Abschätzung der Größe der durch die PCR gebildeten DNA-Fragmente lief ein DNA-Standard mit Bruchstücken definierter Basenzahl mit (100 bp DNA-Leiter bzw. pUC 19).

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) keine Bande/Signal zeigten und die Positivkontrollen zu einem deutlichen Signal/Bande 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 den Auftraggeber und die verantwortlichen Ministerien mitgeteilt. Der Eintrag der Ergebnisse erfolgte in eine bundeseinheitliche Tabelle des Bundesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) und ist für alle eingetragenen Nutzer einsehbar.

In allen 35 untersuchten Proben konnte keine gentechnische Veränderung nachgewiesen werden. (Die Probe 31 wurde parallel in Bayern untersucht und deshalb nicht in der offiziellen Tabelle des BVL unter Thüringen aufgeführt.)

## **4 Zusammenfassung**

Im Rahmen der amtlichen Kontrolle wurden im Frühjahr 2011 in der Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft 35 Maissaatgutproben unterschiedlicher Sorten von Saatguthändlern auf GVO-Verunreinigungen untersucht. Die gendiagnostische Überwachung 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 der Proben konnte eine gentechnische Veränderung nachgewiesen werden.