

Zuwendungsempfänger:

Landwirtschaftliches Technologiezentrum (LTZ) Augustenberg,
Neßlerstr 23-31,
76227 Karlsruhe

Projektleitung: Dr. Andrea Jonitz, Referatsleitung Saatgutuntersuchung

Förderkennzeichen 2810HS011

Internationale Ringversuche zur Vereinheitlichung und
Verbesserung der Qualität und Effizienz der Nachweismethodik gentechnisch veränderter
Organismen (GVO/engl. GMO) im Saatgut

Abschlussbericht**Anlagen:**

- Proficiency Test Results and Rating, PT 16
- Proficiency Test Results and Rating, PT 17
- Seed Testing International No 128, October 2004; S. 8 -10
- Seed Testing International No 130, October 2005; S. 11-14
- 1301 - Mittelanforderung 1 2013
- 1302 - Mittelanforderung 2 2013
- 13 - Zwischennachweis 2013
- 14 - Mittelanforderung Jan.-Apr. 2014
- Verwendungsnachweis

Laufzeit: 17.06.2010 bis 30.04.2014 (46 ½ Monate)

Berichtsdatum: 27.08 2014

In Zusammenarbeit mit:

Internationale Vereinigung für Saatgutprüfung (ISTA), P.O. Box, CH 8308 Bassersdorf

Inhalt

1. Einführung	3
2. Arbeitsschritte während des Berichtszeitraumes	3
• Vollständig abgeschlossene und dargestellte Ringversuche (PT 14, PT 15, PT 16):	7
• Nicht vollständig abgeschlossene und dargestellte Ringversuche (PT 17, PT 18, PT 19):....	7
Sechster Ringversuch: PT 19, Soja	8
3. Vergleich des Vorhabenstandes mit Arbeitsbeginn und Zeitplan	11
4. Vergleich der verwendeten Mittel mit dem Finanzierungsplan	12
5. Ergebnisse aus dem letzten Berichtszeitraum	13
a. Ergebnisübersicht über die qualitative Untersuchung	14
b. Ergebnisübersicht über die quantitative Untersuchung	14
6. Gesamtbetrachtung aller Testrunden in der Projektlaufzeit	16
a. Wichtigste Ergebnisse	17
b. Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse	17
7. Zusammenfassung	18

1. Einführung

In dem Projekt, das über 3 Jahre und knapp 11 Monate lief, wurden insgesamt sechs Ringversuche bearbeitet. In Zusammenarbeit mit der Internationalen Vereinigung für Saatgutprüfung (ISTA) sollte durch das Vorhaben die Datenbasis der ISTA zur Beurteilung von Methoden zur Untersuchung von GVO-Saatgut erweitert werden, indem weltweit Laboren ermöglicht wurde, an Vergleichsuntersuchungen zur GVO-Untersuchung an der Matrix Saatgut teilzunehmen. Dabei kamen in Abhängigkeit von der Kulturart und den GVO-Events unterschiedliche Methoden wie PCR oder ELISA-Tests zum Einsatz. Die Kulturarten waren jeweils vom GMO-Committee der ISTA vorgegeben, um eine ausreichende statistische Basis für die Beurteilung der unterschiedlichen Methoden zu erhalten. Im Rahmen des Vorhabens waren ursprünglich die Kulturarten *Glycine max* (Soja) und *Linum usitatissimum* (Lein) sowie Mais (*Zea mays*) vorgesehen, danach sollten Soja, Luzerne und nochmals Mais folgen. An die bisher bereits von der ISTA und dem LTZ gemeinsam veranstalteten ISTA-Proficiency-Tests (ISTA PT`s) anknüpfend wurden in der Projektlaufzeit vier Ringversuche vollständig durchgeführt und ausgewertet. Dies waren Soja 2010, Lein 2011, Mais 2011/12 und Soja 2012. Der fünfte und sechste Ringversuch PT 18 (Mais) sowie PT 19 (Soja) ist jeweils, was die Arbeiten des LTZ anbelangt, abgeschlossen, die Ergebnisberichte von der ISTA hierzu stehen derzeit noch aus.

2. Arbeitsschritte während des Berichtszeitraumes

a) Auswahl der Kulturart und Events sowie Beschaffung des Untersuchungsmaterials

In enger Zusammenarbeit mit dem ISTA-GMO-Committee und dem ISTA-Sekretariat erfolgte die jeweilige konzeptionelle Planung der Ringversuche. Der Bezug von GVO-freiem Material war dabei jedoch oftmals mit Schwierigkeiten verbunden, dies wurde in den Zwischenberichten detailliert dargestellt.

Sofern das Ausgangsmaterial aus Ländern, in denen ein GVO-Verbot besteht oder der GVO-Anbau nur von geringer Bedeutung ist, bezogen werden konnte, war dies vorteilhaft. So war bei Mais der Zugriff auf südbadische, GVO-freie Produktionen möglich. Bei Kulturen, bei denen der GVO-Anbau sehr weit verbreitet ist, wie z. B. Soja, war es deutlich schwieriger, GVO-freies Ausgangsmaterial zu beschaffen. Komplexe Voruntersuchungen und statistische Auswertungen der Ergebnisse wären erforderlich gewesen, sobald auch nur Spuren von GVO bei den Voruntersuchungen gefunden worden wären. Die Beschaffung der zu verwendenden Events wurde von den Kollegen bei der ISTA

vorgenommen. Auch dieses hat sich oftmals schwierig und zeitaufwendig gestaltet. Darüber hinaus war für jegliches GVO-Material dessen ausschließliche Verwendung zum Zwecke der Durchführung der Ringversuche sowie die vollständige Vernichtung von Restmaterial von allen Ringversuchsteilnehmern in einem sogenannten Material Transfer Agreement (MTA) schriftlich zu bestätigen, was einen entsprechenden organisatorischen und zeitlichen Aufwand mit sich brachte.

b) Probenahme und Materialvorprüfung

Die Probenahme des Nullmaterials wurde jeweils nach den ISTA-Probenahmeplänen vorgenommen. Bei den großkörnigen Arten waren so beispielsweise zwölf Proben zu ziehen, um mindestens 30.000 Korn für eine Untersuchung zu erhalten. Die Voruntersuchung des Versuchsmaterials umfasste im Falle des Nullmaterials die Feststellung der Freiheit von GVO, im Falle der GVO-Events die Feststellung der GVO-Qualität. Dabei war es möglich, neu verfügbare Testkits und Analysenmethoden auf ihre Eignung zum Nachweis der speziellen Events hin zu überprüfen und einzusetzen.

Mit Hilfe eines oder mehrerer PCR-Screeningverfahren wurde das Nullmaterial zunächst auf die gängigen GVO-Events und auf die im Test zu untersuchenden Events spezifisch getestet. Bei Events, deren Nachweismethoden in den Laboren noch nicht etabliert sind, ist die Bescheinigung der GVO-Freiheit einer Partie naturgemäß erschwert.

Je nach Verfügbarkeit von Methoden und Testkits erfolgte die Untersuchung des Eventmaterials mit Hilfe der PCR oder des ELISA-Testverfahrens. Diese Untersuchung diente der Feststellung des eventuell vorhandenen Nicht-GVO-Anteils an mindestens 200 Einzelkörnern je GVO-Event. Bei ungenügender GVO-Qualität, d.h. nachweisbaren Nicht-GVO-Anteilen, wäre die statistische Basis für einen Ringversuch nicht ausreichend gesichert und das Material nicht verwendbar gewesen.

Darüber hinaus wurden an je 400 Samen des Nullmaterials Keimprüfungen durchgeführt.

Die ISTA erstellte die Testpläne jeweils basierend auf den Ergebnissen der Materialprüfung. Sofern verfügbar, sollten jeweils zwei bis drei Events verwendet und diese in unterschiedlichen Anteilen, einzeln und/oder kombiniert in die Untersuchungsproben eingemischt werden, um so verschiedene GVO-Gehalte und -Mischungen zu erhalten. Mangels verfügbaren Eventmaterial war dies jedoch nicht bei allen Versuchen möglich. Mit den unterschiedlichen GVO-Gehalten sollte die Leistungsfähigkeit der unterschiedlichen

Methoden und Labore vor allem in dem kritischen GVO-Spuren-Bereich nahe der Bestimmungsgrenze sowie im Bereich der diskutierten Schwellenwerte abgeprüft werden. Zusätzlich wurden Proben jedoch auch mit deutlichen GVO-Anteilen bestückt, um alle in der Praxis denkbaren Konstellationen abzubilden. Außerdem wurden bei jeder Testrunde Nullproben als Standard mitgeführt.

c) Erstellung des Testdesigns

Nach der Materialvorprüfung wurden die Qualitätsergebnisse des Nullmaterials und der GVO-Events zur Berechnung des Testdesigns an die ISTA übermittelt. Der Testplan und die genaue Zusammensetzung der Proben wurde gemeinsam mit der ISTA erstellt und abgestimmt. In Fällen, in denen nur künstlich abgetötete GVO-Samen zur Verfügung standen, war die Anwendung von Anzucht-Methoden zum GVO-Nachweis nicht möglich. Hier musste zusätzlich vor der Erstellung des Testdesigns sichergestellt sein, dass die biochemischen Methoden auf jeden Fall einen sicheren GVO-Nachweis liefern können, was zusätzliche Untersuchungen erforderlich machte.

d) Ausschreibung und Rückmeldung der Teilnehmer an die ISTA

Parallel zu den Laborvoruntersuchungen wurde jeweils von der ISTA-GMO-Arbeitsgruppe der Ausschreibungstext verfasst und der Ringversuch in den entsprechenden Medien angekündigt. Nach Rückmeldung der Interessenten sowie der zur Teilnahme verpflichteten ISTA-akkreditierten Labore unterzeichneten diese ein MTA, in dem sie zusicherten, dass das erhaltene Material ausschließlich im Rahmen des Ringversuches verwendet wird und keine Samen freigesetzt werden. Die ISTA führte Buch über die vorliegenden MTA's und erteilte dem LTZ Augustenberg erst nach Vorlage der MTA's die Freigabe für den Probenversand an die Labore. Auf diese Weise war sichergestellt, dass dieses Material nicht zur Anzucht von Pflanzen oder sonstigen Forschungszwecken verwendet wird, da das Eventmaterial von den Saatgutfirmen explizit nur für die Ringtests zur Verfügung gestellt wurde.

e) Durchführung der Probenvorbereitung nach Testplan

Die Herstellung der Ringversuchsproben erfolgte, sobald die Probenbestückung festgelegt war. Für jede Probe musste das Nullmaterial exakt ausgewogen und mit einem definierten prozentualen Anteil an GVO-Samen bestückt werden. Dies waren im Falle von Mais pro Teilnehmer bis zu zwölf Proben à 1 kg; bei ca. 60 teilnehmenden Laboren also

ca. 720 Einzelproben. Die randomisierte Zuordnung von Proben, GVO-Gehalten und Laboren verlangt ein ausgefeiltes EDV-System. Mithilfe dessen konnte eine exakte, für die Teilnehmer jedoch nicht erkennbare Nachvollziehbarkeit jeder Einzelprobe während der Vorbereitung, Verpackung, beim Versand und später bei der Auswertung der Untersuchungsergebnisse gewährleistet werden.

Den Laboren war es möglich, verschiedene Untersuchungsmethoden und sowie Methoden zur Berichterstattung anzuwenden. Deshalb war es bei einem Teil der Proben, nämlich denjenigen für Labore die Subsampling durchführen, zusätzlich erforderlich, die genaue Anzahl der Samen zu bestimmen. Die Daten über die tatsächliche Probenbestückung wurden hier auf das Korn genau erfasst. Diese probenspezifische Information wurden an die ISTA weitergegeben, phytosanitäre Zeugnisse beim Regierungspräsidium beantragt und die Ausfertigung der erforderlichen Begleitdokumente für den Probenversand in die Datenbank eingegeben.

Die ISTA händigte die für den Probenversand erforderliche Informationen wie Teilnehmeradressdaten und Art der Laboruntersuchungsmethode erst an das LTZ aus, nachdem dort alle unterzeichneten MTA`s vorlagen. Die Pakete wurden sodann mit den randomisiert hergestellten, verschlüsselt codierten Proben bestückt und den Begleitdokumenten für einen möglichst reibungslosen Paketversand versehen. Um jegliche Verwechslung auszuschließen war bei allen Arbeitsschritten besondere Sorgfalt gefordert, weshalb immer zwei Personen gemeinsam eingesetzt wurden. Bei jedem Probenversand einer Testrunde war ein Mitarbeiter des ISTA-Sekretariats am LTZ-Augustenberg zugegen. Die Pakete wurden als verfolgbare Sendungen aufgegeben, um eine fristgerechte Zustellung sicherzustellen. In einigen Ländern gab es jedoch immer wieder Zustellungsprobleme oder Probleme bei der Zollabfertigung, sodass einige Pakete mehrfach an die Labore geschickt werden mussten, bis sie tatsächlich dort ankamen. Einzelne Labore konnten aufgrund dieser Umstände an bestimmten Testrunden nicht teilnehmen. All diese Arbeiten wurden ausschließlich von einem Personenkreis durchgeführt, der sich zur Wahrung von Vertraulichkeit jeglicher Information verpflichtet hatte.

f) Bearbeitung der Proben durch die teilnehmenden Labore

Die teilnehmenden Labore nahmen entweder eine qualitative oder eine quantitative oder beide Bestimmungen der GVO-Gehalte der Proben vor. Die Auswertung der qualitativen und quantitativen Bestimmungen erfolgte unabhängig voneinander, sodass die Einbezie-

hung möglichst vieler Methoden und Ergebnisse in die Auswertung möglich wurde. Bei der quantitativen Bestimmung konnte entweder nach dem sogenannten "sub-sampling", einem semiquantitativen Verfahren, bei dem über die Anzahl der Teilproben und deren Größe das Ergebnis mit bestimmt wird, oder mittels einer direkten quantitativen Methode wie PCR, vorgegangen werden. Auf der Homepage der ISTA steht den Teilnehmern das ISTA-Kalkulationsprogramm „seedcalc“ zur Ergebnisberechnung zur Verfügung. Die Ergebnisse mussten jeweils sechs Wochen nach Versand beim ISTA-Sekretariat vorliegen.

g) Auswertung durch das ISTA-Statistik-Komitee sowie Bekanntgabe der Ergebnisse und Beurteilung

Die Ergebnisse und die Information über die angewandte Methode wurden vom Sekretariat in der ISTA-Datenbank erfasst und an das ISTA-Statistik-Komitee weitergereicht, welches die Auswertung der Ergebnisse vornahm.

• Vollständig abgeschlossene und dargestellte Ringversuche (PT 14, PT 15, PT 16):

PT 14 wurde im ersten Zwischenbericht vom 05.05.2011 dargestellt. Im zweiten Zwischenbericht vom 24.04.2012 wurde PT 15 vollständig, von PT 16 lediglich alle Arbeitsschritte bis zum Probenversand beschrieben.

• Nicht vollständig abgeschlossene und dargestellte Ringversuche (PT 17, PT 18, PT 19):

Von PT 17 und PT 18 wurden alle Arbeitsschritte bis zur Rücksendung der Ergebnisse durch die Labore im dritten Zwischenbericht vom 07.05.2013 beschrieben. Die Ergebnisse von PT 17 werden im Kapitel 5 b) dieses Berichtes dargestellt. Die Ergebnisse von PT 18 und PT 19 liegen derzeit noch nicht vor.

Die Vorbereitungen von PT 19 bis zum Probenversand werden im folgenden Abschnitt detailliert beschrieben.

Sechster Ringversuch: PT 19, Soja

a) Auswahl der Kulturart und Events sowie Beschaffung des Untersuchungsmaterials

Aktuell gemeldete Anzahl teilnehmender Labore: 51

davon

- Deutschland: 8
- EU: 18
- Übrige Welt: 27

Anzahl Proben je Labor: 8

b) Probenahme und Materialvorprüfung

1. Aus der als Sackware vorliegenden Saatgutpartie für das Nullmaterial wurden 10 Erstproben gezogen, zur Mischprobe vereint und diese als Laborprobe registriert. Zur Untersuchung des Nullmaterials auf Freiheit von GVO wurden die Proben zunächst gewaschen, sorgfältig rückgetrocknet und anschließend zu feinem Gries vermahlen. Aus einer repräsentativen Untersuchungsprobe von 0,2 g erfolgte die DNA-Extraktion nach Standardarbeitsanweisung des Labors. Die DNA-Extrakte wurden danach mittels PCR-Analytik spezifisch auf die Events (GTS40 und MON8978) und das PAT-Konstrukt untersucht. Die Überprüfung ergab ein negatives Ergebnis, d.h. das Nullmaterial war für den Ringversuch geeignet.

2. Ebenso muss für die statistische Auswertung der Ringversuchsergebnisse der exakte GVO-Gehalt der Events bekannt sein. Das Event-Material wurde daraufhin untersucht, ob es das entsprechende GVO-Konstrukt tatsächlich zu 100 % trägt. Dabei wurden je Event 200 einzelne Samen zu Gries zerkleinert und 200 isolierte DNA-Extraktionen durchgeführt. Der eigentliche GVO-Nachweis erfolgte im Falle von Soja mit Hilfe eines eventspezifischen Nachweises, wofür käufliche Testkits verwendet wurden. Bei PT 19 wurden beide Events untersucht, mit dem Ergebnis, dass diese tatsächlich in 100 % der untersuchten Körner nachweisbar waren.

c) Erstellung des Testdesigns

Auf der Basis der Untersuchungsergebnisse des Ausgangsmaterials wurde von der ISTA das Testdesign, d.h. die Festlegung, wie viele Proben pro Teilnehmer mit welchem GVO-Event und GVO-Gehalt bestückt werden, entwickelt.

Testdesign:

8 x 1800 Samen

2 GVO Events: GT 40-3-2, MON 89788

4 Spiking levels: 0%; 0,11%; 0,555%; 1,44 %

Bei PT 19, Soja, wurden 8 Einzelproben je Labor vorbereitet. Es kamen erneut die Events GTS 40 und MON89788 in vier verschiedenen Spiking-Levels zum Einsatz.

d) Ausschreibung und Rückmeldung der Teilnehmer an die ISTA

Auf der Homepage der ISTA sowie über den Emailverteiler erfolgte die Ankündigung des ISTA-GMO-PT 19 mit folgenden Terminen:

Registrierung der Teilnehmer:	16. September 2013
Verbindliche Teilnahmebescheinigung durch Rücksendung des MTA an das Sekretariat:	20. September 2013
Probenversand:	21. Oktober 2013
Ergebnisberichte an das Sekretariat:	10. Dezember 2013
Vorläufige Auswertung an die Teilnehmer:	19. Januar 2014

e) Durchführung der Probenvorbereitung nach Testplan

Die Vorgehensweise bei der Probenvorbereitung von PT 19 umfasste grundsätzlich dieselben Schritte wie bei PT 18 und den anderen bisherigen PT's.

Um jegliche Kontamination mit GVO während der Probenvorbereitung sicher auszuschließen wurde die Probenvorbereitung mit dem Nullmaterial begonnen. Die Proben selbst wurden durch Absieben fremder Bestandteile vorgereinigt und anschließend die einzelnen Proben exakt abgewogen sowie das exakte Gewicht jeder Einzelprobe erfasst, um später den korrekten GVO-Anteil nach Testdesign beifügen zu können. Die exakte Anzahl der Samen je Einzelprobe für die Subsampling Methode wurde mit Hilfe eines Zählgeräts bestimmt.

Die GVO-Samen wurden erst nachdem alle Nullmaterialproben vorbereitet waren zugegeben und die Proben unmittelbar danach in beschriftete Tüten gefüllt und versiegelt, um jegliche Verwechslung und Vertauschung zu vermeiden. Der genaue Inhalt jeder einzelnen Probe ist durch die elektronische Erfassung der Wäge- und Zählraten exakt bekannt. Die Datenlisten wurden in elektronischer Form an die ISTA überstellt.

Im Vorfeld galt es die Versandbedingungen der einzelnen Teilnehmerländer zu eruieren, entsprechende Erklärungen für den Zoll sowie die erforderlichen Einfuhrdokumente zu beschaffen und vorzubereiten. Das Regierungspräsidium Karlsruhe stellte die jeweils erforderlichen phytosanitären Zeugnisse kostenfrei in Amtshilfe zur Verfügung.

f) Probenversand

Nachdem alle Proben verschlossen, beschriftet und erfasst waren kam der Koordinator der Ringversuche des ISTA-Sekretariats nach Augustenberg, um das zufallsgemäße Zuordnen von Proben zu Teilnehmern, das Packen und den Versand der Proben zu begleiten. In dieser Phase war sehr konzentriertes und exaktes Arbeiten erforderlich, damit fehlerhafte Zuordnungen von Proben vermieden wurden.

Die Zuordnung der Teilnehmernummern und Probennummern erfolgte grundsätzlich nach Zufallsprinzip. Die Pakete wurden sofort verschlossen, die Versanddokumente beigefügt und zum nächstmöglichen Termin versendet. Jedes Paket musste auf seinem Versandweg verfolgbar sein und fristgerecht zugestellt werden. Das LTZ überstellte anschließend alle Daten über die Probenzusammenstellung und den Probenversand an die ISTA.

g) Bearbeitung der Proben durch die teilnehmenden Labore

Die Teilnehmerlabore schickten nach der Bearbeitung der Proben ihre Ergebnisse bis zum 10. Dezember 2013 an das ISTA-Sekretariat. Dort wurden die Daten gesammelt, elektronisch in der Datenbank erfasst und zur Auswertung an das Statistik-Komitee weitergegeben, wo derzeit die Auswertung der Ergebnisse von PT 18 und PT 19 stattfindet.

h) Auswertung durch das ISTA-Statistik-Komitee sowie Bekanntgabe der Ergebnisse und Beurteilung

Die Teilnahme an qualitativen und an quantitativen Untersuchungen wird stets separat ausgewertet. Für ISTA-akkreditierte Labore wird zusätzlich eine Beurteilung des Teilnahmeerfolges vorgenommen, was akkreditierungsrelevant ist. Kann ein Labor in mehre-

ren Testrunden nicht die erforderliche Ergebnisgenauigkeit erreichen, so verliert es seine Akkreditierung für diesen Untersuchungsbereich. Die Auswertung des ISTA-GMO-PT 19 erfolgt derzeit. Die endgültigen Ergebnisberichte sollten den Laboren planmäßig bis Ende Januar 2014 zugestellt werden. Dies ist bislang noch nicht erfolgt, da das Bewertungssystem für die GVO-Ringversuche derzeit bei der ISTA überarbeitet wird.

3. Vergleich des Vorhabenstandes mit Arbeitsbeginn und Zeitplan

Im Rahmen des Projektes wurden die Tätigkeiten fristgerecht aufgenommen und die praktische Arbeit der ersten Ringversuchsrunde in 2010 konnte wie geplant durchgeführt werden. Die Ergebnisse wurden termingerecht berichtet und lagen zur Auswertung vor. Wie im Zwischenbericht vom 05.05.2011 beschrieben, verzögerte sich jedoch die Auswertung der Testrunde PT 14. Die zweite Versuchsrunde PT 15 wurde plangemäß mit Lein durchgeführt. Zu weiteren Zeitverzögerungen kam es bei der dritten Versuchsrunde PT 16 mit Mais, weil das Nullmaterial nicht zum Eventmaterial passte und daher zeitaufwändig neues Nullmaterial beschafft werden musste. Deshalb konnte PT 16 nicht mehr wie geplant in 2011 durchgeführt werden. Die Proben wurden erst im April 2012 an die Teilnehmer verschickt und bis Mitte Juli 2012 ausgewertet werden. Dieser zeitliche Versatz konnte in der noch verbleibenden Projektlaufzeit nicht wieder vollständig aufgeholt werden. Aus diesem Grund wurde die Verlängerung der Projektdauer bis zum 30.04.14 beantragt. Diese wurde vom Projektträger gewährt.

Aktuell liegen der ISTA die Ergebnisse der Teilnehmer aus PT 18 und PT 19 vor. Die Auswertung der Daten durch die ISTA wird bis zum Berichtstermin für den Abschlussbericht nicht fertiggestellt sein. Der Grund hierfür liegt – wie schon erwähnt - in einer Aktualisierung des Bewertungssystems für die GVO-Ringversuche seitens Spezialisten des GVO-Komitees und des Statistik-Komitees der ISTA. Ziel ist ein besser an die Untersuchungsqualität der Labore angepasstes Bewertungssystem.

4. Vergleich der verwendeten Mittel mit dem Finanzierungsplan

In verschiedenen Versuchsrunden konnten aus den im Folgenden aufgeführten Gründen die zur Verfügung gestellten Mittel nicht voll umfänglich abgerufen werden.

Die erste Versuchsrunde musste noch vor der Projektbewilligung mit der Arbeit beginnen, um möglichst im Rhythmus der Angebote von Ringversuchen für die ISTA zu bleiben. Daher war es nur zu einem geringen Umfang möglich Mittel für Personal und Sachmittelaufwendungen für PT 14 geltend zu machen.

In der zweiten Versuchsrunde PT 15 (Lein) hatte das ISTA-akkreditierte Labor in Kanada die Materialbeschaffung und Voruntersuchung von Nullmaterial und Events kostenfrei übernommen, sodass für diese Laborarbeiten keine Kosten am LTZ angefallen sind und lediglich die Kosten für die Probenvorbereitung und den Probenversand abgerechnet wurden. Bei PT 16 (Mais) wurde das Nullmaterial von Südgetreide, Weisweil, und Bayer CropScience kostenfrei zur Verfügung gestellt; es mussten lediglich die Speditionskosten getragen werden. Von P 17 (Soja) war noch eine ausreichende Menge Nullmaterial übrig, die für PT 19 verwendet werden konnte. So entfielen sowohl die Materialbeschaffung, wie auch die personal- und materialaufwändige Voruntersuchung des Nullmaterials. Auch das Eventmaterial von PT 17 konnte zusätzlich für PT 19 genutzt werden. Ebenso konnte das Eventmaterial von PT 16 auch in PT 18 genutzt werden, sodass hier nur die Voruntersuchung des zweiten Events notwendig war. Damit waren insbesondere die Testrunden PT 17, PT 18 und PT 19 deutlich weniger aufwendig was den analytischen und personellen Einsatz anbelangt.

Insgesamt wurden seit Projektbeginn 26.941,30 Euro zur Erstattung beantragt. Die Personalkosten beliefen sich dabei auf 7.433,96 Euro, Die Kosten für Verbrauchsmaterialien auf 19.507,34 Euro. Der vorgesehene finanzielle Rahmen des Projektes von insgesamt 60.262,00 Euro wurde demnach nicht ausgeschöpft. Im Detail wurden im Rahmen des Projektes geltend gemacht bzw. bewilligt (siehe auch Anlage):

	Finanzdaten am	Position	Summe (Euro)
ZAZA	18.11.2010	0817	2.031,55
ZAZA	18.11.2010	0843	771,35
ZAZA	10.01.2011	0817	703,03
ZAZA	10.01.2011	0843	4.645,43
ZAZA	09.01.2012	0817	613,65
ZAZA	09.01.2012	0843	7.150,45
ZAZA	25.07.2013	0817	4.788,76
ZAZA	25.07.2013	0843	6.878,30
ZAZA	20.01.2014	0843	61,81
ZNZA	10.01.2011	0817	1.940,68
ZNZA	10.01.2011	0843	972,48
ZNZA	09.01.2012	0817	1.521,46
ZNZA	09.01.2012	0843	4.645,43
ZNZA	11.01.2013	0817	613,65
ZNZA	11.01.2013	0843	9.608,85
ZNZA	20.01.2014	0817	4.792,40
ZNZA	20.01.2014	0843	8.393,39

5. Ergebnisse aus dem letzten Berichtszeitraum

Die Ergebnisse aus der Testrunde ISTA-GMO-PT 14 (*Glycine max*) und ISTA-GMO-PT 15 (*Linum usitatissimum*) wurden im ersten bzw. zweiten Zwischenbericht bereits ausführlich dargestellt, die Ergebnisse aus der Testrunde ISTA-GMO-PT 16 (*Zea mays*) so- dann im dritten Zwischenbericht. Zu diesem Zeitpunkt wurde eine Projektverlängerung beantragt und vom Projektträger eine Projektdauer bis 30.4.2014 gewährt.

PT 17

Die Ergebnisse der Testrunde PT 17 (Soja) wurden den Teilnehmern im September 2013 zugeschickt.

Bei PT 17 kamen 8 Einzelproben (je ca. 2.000 Samen) in vier verschiedenen Spiking-Levels mit den beiden Events GTS 40-3-2 und MON 89788 zur Untersuchung.

Die genetische Reinheit des Nullmaterials wurde jeweils an insgesamt 30.000 Samen voruntersucht, während die Überprüfung der GVO-Qualität beim Event-Material jeweils 200 Einzelsamen umfasste.

Von den 46 teilnehmenden Laboren sendeten 44 ihre Untersuchungsergebnisse fristgerecht an die ISTA. Fünf Labore untersuchten die Proben nur qualitativ, während 39 Teilnehmer sowohl Ergebnisse von qualitativen als auch von quantitativen Bestimmungen des GVO-Gehaltes der Proben berichteten.

a. Ergebnisübersicht über die qualitative Untersuchung

Die Ergebnisdarstellung erfolgt in „Prozent falsch beurteilte Proben“ von insgesamt 8 untersuchten Proben. Hierbei ist unwesentlich, ob es sich um ein „falsch positives“ oder um ein „falsch negatives“ Ergebnis handelt. Fehlende Ergebnisse wurden als falsche Ergebnisse bewertet.

Beurteilung	Falsch beurteilte Proben [%]	Falsch beurteilte Proben [Anzahl Labore]	Gesamtzahl Labore
A	0 - 5	0	35
B	> 5 bis 10	-	-
C	>10 bis 20	1	7
BMP*	>20	je Labor 2	2

*BMP = Below Minimum Performance, d.h. nicht ausreichende Ergebnisgenauigkeit

b. Ergebnisübersicht über die quantitative Untersuchung

Die Ergebnisse für die quantitative Bestimmung wurden auf Grundlage der 6 mit GVO bestückten Proben kalkuliert. Die Nullproben wurden nicht in die Berechnung einbezogen. Die Ergebnisse wurden entweder als Anzahl GVO-Samen in %, als Masse der

GVO-Samen in % oder als Median der von den Teilnehmern berichteten „Prozent DNA-Kopien“ der beiden Wiederholproben eines Spiking-Levels berichtet.

Die Angabe der Ergebnisse in Massenprozent war auch bei diesem PT die von den Teilnehmern deutlich bevorzugte. Die Anzahl der Labore und die verwendete Berichtseinheit ist in folgender Tabelle aufgelistet.

Einheit	Anzahl Labore
Zahlenprozent	12
Massenprozent	21
% DNA-Kopien	6

In der nachfolgenden Tabelle ist die Beurteilung der teilnehmenden Labore dargestellt. Dabei bedeutet die Beurteilung A „fehlerfreie Untersuchungsergebnisse“, Beurteilung B „geringfügige Abweichungen“, Beurteilung C „deutliche Abweichungen“ und bei Beurteilung BMP waren die Untersuchungsergebnisse nicht von genügender Genauigkeit.

Beurteilung	Anzahl Labore
A	11
B	4
C	20
BMP	4

Beim Ringversuch „PT 17, Soja“ zeigt sich, dass die qualitative Bestimmung von den meisten Laboren sehr erfolgreich durchgeführt wurde. 35 Labore von insgesamt 44 erhielten hierbei die Bewertung „A“. Während bei der quantitativen Bestimmung nur 15 von 39 Laboren ein „A“- oder „B“-Rating erhielt und der größte Anteil der Teilnehmer (20 von 39) ein „C“-Rating erhalten hat. Ein ähnliches Ergebnis war bereits bei PT 16 aufgetreten. Die Ursachenforschung durch die ISTA zeigte, dass das Bewertungssystem aufgrund der mittlerweile sehr guten und zunehmend besser übereinstimmenden Ergebnisse der Ringversuchsteilnehmer eine zu scharfe Abgrenzung der Bewertungsstufen A, B, C und BMP bewirkt. So kommt es zu einer Verschiebung der Darstellung der Qualität der Arbeit der Labore.

In den Anlagen finden sich die detaillierte Darlegung der verschiedenen Bewertungssysteme. Diese unterschiedlichen Systeme wurden für die Ergebnisse von PT 16 und PT 17

exemplarisch angewendet und den Teilnehmern im Ergebnisbericht mitgeteilt. Derzeit erarbeiten das ISTA-Statistik Komitee und GVO-Komitee ein besser an die Leistungsfähigkeit der Labore angepasstes Bewertungssystem.

PT 18 und PT 19

a) Bearbeitung der Proben durch die teilnehmenden Labore

Die Teilnehmer untersuchten die Proben von PT 18 und PT 19 auf deren GVO-Gehalt und haben ihre Ergebnisse bis 02. Juni 2013, bzw. 10. Dezember 2013 an das ISTA-Sekretariat zurückgemeldet, wo die Daten gesammelt, elektronisch in der Datenbank erfasst und zur Auswertung an das Statistik-Komitee weitergegeben wurden.

b) Auswertung durch das ISTA-Statistik-Komitee sowie Bekanntgabe der Ergebnisse und Beurteilung

Die Auswertung des ISTA-GMO-PT 18 und des ISTA-GMO-PT 19 ist erfolgt. Die Ergebnisse wurden den Teilnehmern aus den in der Ergebnisbeschreibung zu PT 17 in Kapitel 5 b) beschriebenen Gründen bislang noch nicht zugesendet.

6. Gesamtbetrachtung aller Testrunden in der Projektlaufzeit

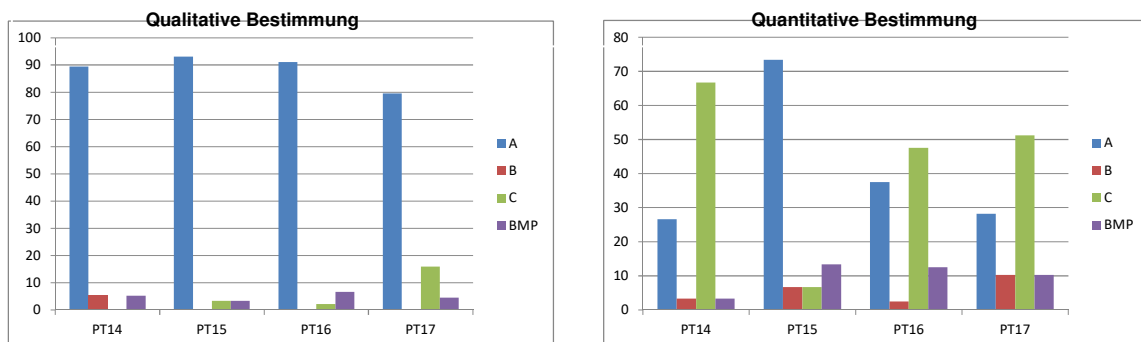


Abb. 1: Prozentualer Anteil der Ergebnisse und Bewertung von PT 14 bis PT 17 (A= „fehlerfreie Untersuchungsergebnisse“, B= „geringfügige Abweichungen“, C= „deutliche Abweichungen“, BMP= „ungenügend“)

Die vollständig ausgewerteten Ergebnisse von PT 14 bis PT 17 sind in Abb. 1 dargestellt. In der linken Grafik zeigt sich bei der qualitativen Analyse eine sehr hohe Übereinstimmung der Ergebnisse, da mehr als 80 % der Labore mit „A“ bewertet wurden. Der Anteil von Laboren mit „B“ und „BMP“ lag stets unter 10 %. Die Note „C“ wurde im PT 17 an etwa 15% der Labore vergeben, ansonsten war dies bei weniger als 5 % der Labore der Fall.

Auch bei der quantitativen Bestimmung der GVO-Gehalte sind die Ergebnisse als sehr gut zu bewerten. Hier wurde der überwiegende Teil der Labore ebenfalls mit „A“ beurteilt, was eine gute Übereinstimmung der Ergebnisse zwischen den Laboren belegt. Die Note „B“ war deutlich seltener. „C“ wurde als zweithäufigste Bewertung vergeben und ein geringer Anteil der Labore hat die Ergebnisse nur mit ungenügender Genauigkeit berichtet.

In Abb. 1 zeigt sich bei der qualitativen Bestimmung über vier PT`s eine tendenzielle Abnahme des Anteils mit der Note „A“. Auch bei der quantitativen Bestimmung zeigt sich ab PT 15 eine Abnahme des Anteils der Labore mit der Benotung „A“ von über 70 % bis unter 30 %, während „C“ von etwa 5 % in PT 15 auf über 50 % in PT 17 anstieg.

Diese vermeintliche Verschlechterung der Leistung der Labore ist darauf zurück zu führen, dass die Ergebnisse zunehmend enger beieinander lagen, was einer Verbesserung der Laborleistung im Rahmen des gesamten Ringversuchs-Programm der ISTA entspricht. Da das Bewertungssystem noch auf größere Unterschiede zwischen den Laboren ausgelegt ist, ergibt die Auswertung fälschlicherweise eine abnehmende Untersuchungsqualität. Aus diesem Grund muss das Bewertungssystem nun den besseren Leistungen angepasst werden, um kein Labor in der Bewertung zu benachteiligen. Bei den Ergebnisberichten von PT 16 und PT 17 wurden bereits verschiedene Modelle zur Bewertung der Ergebnisse angesetzt und vergleichend dargestellt. Die Ergebnisse aller abgeschlossenen Testrunden sind auf der ISTA Homepage unter:

<http://seedtest.org/en/completed-test-rounds-content--1--1269.html> abrufbar.

a. Wichtigste Ergebnisse

Die Ergebnisse der Ringversuche bescheinigen den teilnehmenden Laboren sowohl bei der qualitativen, als auch bei einer quantitativen Bestimmung grundsätzlich eine hohe Leistungsfähigkeit. Die Befunde stimmten zwischen den Laboren mittlerweile so gut überein, dass eine Anpassung des Bewertungssystems erforderlich wurde, an der die ISTA derzeit arbeitet. Sobald ein besser geeignetes System verfügbar ist, werden PT 18 und PT 19 nach diesem ausgewertet, den Teilnehmern die Ergebnisse mitgeteilt und diese auf der Homepage veröffentlicht.

b. Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Durch das Projekt konnte eine kontinuierliche Überwachung der Qualität der ISTA-akkreditierten Labore gesichert werden. Es bot zahlreichen Laboren die Möglichkeit ihre Kompetenz zur Bestimmung von GVO einzuschätzen. Dies ist für eine zunehmende Standardisierung dieser Tests im weltweiten Vergleich bedeutend. Die Verlässlichkeit der Saatgutanalytik zum Nachweis von GVO ist im Hinblick auf den weltweiten Handel und den Verbraucherschutz von besonderer Wichtigkeit. Mit dem Projekt konnten die diesbezüglichen Qualitätsstandards weiter verbessert

werden. Die Ergebnisse können neben der ISTA-Methodenentwicklung in die deutschen Verhandlungen auf nationaler und europäischer Ebene sowie in der OECD einfließen.

7. Zusammenfassung

Die Projektarbeiten wurden erfolgreich gestartet und konnten, wenn auch mit einigen Verzögerungen, kontinuierlich fortgeführt werden. Insgesamt liegen die Ergebnisse von vier abgeschlossenen Ringversuchen vor.

Die erste Testrunde PT 14 (Soja) verlief planmäßig und wurde im ersten Zwischenbericht in 2011 detailliert beschrieben. Die zweite Testrunde PT 15 (Lein) war etwas zeitverzögert gestartet. Aufgrund technischer und personeller Umstellungen bei der ISTA waren zusätzliche Verzögerungen aufgetreten.

Auch bei PT 16 (Mais) kam es nochmals zu erheblichen Zeitverzögerungen, aufgrund von Schwierigkeiten bei der Beschaffung von Untersuchungsmaterial. Wegen der neu bei der ISTA etablierten Ringversuchsdatenbank waren wiederholt Datenabgleiche durchzuführen und die Probenvorbereitung selbst konnte nur verzögert anlaufen. Auch kam es erneut zu personellem Wechsel der Zuständigkeit im ISTA-Sekretariat, woraus zusätzliche Zeitverluste durch die erforderliche Einarbeitung resultierten. Aus diesen Gründen hat sich der Probenversand von PT 16 (Mais) von Ende Oktober 2011 auf Mitte April 2012 verschoben. Immerhin konnte im Jahr 2012 noch ein zweiter Ringversuch mit der Kulturart Soja durchgeführt werden, dessen Ergebnisauswertung im Februar 2013 erfolgte. Erfreulicherweise war es möglich, entsprechend der ursprünglichen Projektplanung im Frühjahr 2013 einen weiteren Ringversuch mit Mais (PT 18) zeitgerecht zu versenden. Dieser Ringversuch sollte bis Mitte September 2013 abgeschlossen sein. Letztendlich konnte PT 19 (Soja) noch im Rahmen des Projektes in der zweiten Jahreshälfte 2013 am LTZ Augustenberg vollständig bearbeitet werden, da der Projektträger einer Projektverlängerung bis Ende April 2014 zugestimmt hatte.

Die endgültige Auswertung der Ergebnisse von PT 18 und PT 19 wird aktuell von der ISTA vorgenommen. Die Ergebnisse des Ringversuchsprogramms zeigen insgesamt eine gute Qualität, in einzelnen Fällen belegen sie jedoch auch die Notwendigkeit einer vergleichenden Betrachtung der unterschiedlichen weltweit im Einsatz befindlichen Methoden zur GVO-Untersuchung. Dies ist, insbesondere bei Methoden zur Quantifizierung von Arten, mit denen wenige Labore Erfahrung haben oder für die kein Referenzmaterial

öffentlich zugänglich ist, der Fall. Die entsprechenden ISTA-Gremien nahmen regelmäßige Auswertungen vor und zogen die entsprechenden Schlussfolgerungen aus den Daten. Diese Information floss stets in die folgenden Testrunden ein. So konnte verfolgt werden, ob bei wiederholter Behandlung einer Art, wie zum Beispiel Mais oder Soja, ggf. bereits eine bessere Standardisierung der Methodik und damit zunehmend höhere Übereinstimmung der erzielten Ergebnisse erreicht werden konnte. Dies war offensichtlich der Fall und macht eine Überarbeitung des Bewertungssystems durch die ISTA erforderlich, die noch nicht abgeschlossen ist.

Alle Zuwendungen des Projektträgers wurden ausschließlich für die Materialien und Tätigkeiten im Rahmen des Projektes verwendet. Details über die Verwendungen sind im Anhang dargestellt.

Ein zügiges Vorankommen der Arbeiten war grundsätzlich durch einen intensiven und offenen Informationsaustausch zwischen allen teilnehmenden und unterstützenden Partnern gegeben. Die Zusammenarbeit zwischen dem ISTA-Sekretariat, dem ISTA-Statistik-Komitee, dem ISTA-GVO-Komitee und den Beteiligten am LTZ verlief stets sehr harmonisch. Wegen der zeitlichen Verzögerungen musste jedoch der Arbeitsplan mehrfach angepasst werden, aber dank der gewährten Projektlaufzeitverlängerung konnten trotzdem sechs Ringversuche im Rahmen des Projektes durchgeführt werden.

Die Ergebnisse aus den einzelnen Ringversuchsrunden sollen zum Projektabschluss vergleichend betrachtet und mit den ISTA-Komitees, den ISTA-Mitgliedern sowie dem Projektträger diskutiert werden. Die ursprünglich geplante Vorstellung und Diskussion des PT-Projektes beim ISTA-Kongress im Juni 2013 wurde bis zum endgültigen Projektabschluss vertagt und wurde zur ISTA Jahrestagung im Juni 2014 angestrebt.

Eine abschließende Besprechung könnte, sofern auch die Ergebnisse aus PT 18 und PT 19 vorliegen, in Abstimmung mit der BLE im Juni 2014 bei der Jahrestagung der ISTA erfolgen. Als Ergebnis aus dem Projekt kann nun eine Strategie für künftig weltweit bestmöglich standardisierte GVO-Untersuchungen von Saatgut abgeleitet werden.

Karlsruhe, 27.08.2014

Dr. Andrea Jonitz