

VEREIN
DEUTSCHER
INGENIEURE

Monitoring der Wirkungen gentechnisch
veränderter Organismen (GVO)
Leitfaden zur Entnahme und Aufarbeitung von
Pflanzenproben für die molekularbiologische Analytik

Monitoring the effects of genetically modified
organisms (GMOs)
Guidelines for the collection and preparation of plant
samples for molecular biological analysis

VDI 4330
Blatt 5 / Part 5

Ausg. deutsch/englisch
Issue German/English

Die deutsche Version dieser Richtlinie ist verbindlich.

The German version of this standard shall be taken as authoritative. No guarantee can be given with respect to the English translation.

Inhalt	Seite	Contents	Page
Vorbemerkung	2	Preliminary note	2
Einleitung	2	Introduction	2
1 Anwendungsbereich	2	1 Scope	2
2 Begriffe	3	2 Terms and definitions	3
3 Sicherheit	4	3 Safety	4
4 Materialliste für die Probenahme	5	4 List of materials required for sampling	5
5 Durchführung der Probenahme von Pflanzenmaterial	5	5 Procedure for sampling of plant material	5
5.1 Entnahme von Pflanzenmaterial	5	5.1 Collecting the plant material	5
5.2 Probenkennzeichnung	7	5.2 Sample labelling	7
5.3 Probenahmeprotokoll	7	5.3 Sampling record	7
5.4 Transport und Versand der Proben	8	5.4 Transportation and shipment of the samples	8
5.5 Lagerung der Proben	9	5.5 Sample storage	9
6 Durchführung der Nukleinsäureextraktion	9	6 Performing the nucleic acid extraction	9
6.1 Allgemeine Hinweise zur Durchführung ...	9	6.1 General procedural guidelines	9
6.2 DNA-Extraktion aus pflanzlichem Material mittels CTAB	10	6.2 DNA extraction from plant material using CTAB	10
6.3 DNA-Extraktion aus pflanzlichem Material mittels Siliziumdioxid	10	6.3 DNA extraction from plant material using silicium dioxide	10
Anhang Probenahmeprotokoll für Pflanzen	11	Annex Plant sampling record	13
Schrifttum	15	Bibliography	15

VDI-Gesellschaft Technologies of Life Sciences (TLS)

Fachbereich Biodiversität, GVO-Monitoring und Risikomanagement

VDI-Handbuch GVO-Monitoring
VDI-Handbuch Biotechnologie

Vorbemerkung

Der Inhalt dieser Richtlinie ist entstanden unter Beachtung der Vorgaben und Empfehlungen der Richtlinie VDI 1000.

Alle Rechte, insbesondere die des Nachdrucks, der Fotokopie, der elektronischen Verwendung und der Übersetzung, jeweils auszugsweise oder vollständig, sind vorbehalten.

Die Nutzung dieser Richtlinie ist unter Wahrung des Urheberrechts und unter Beachtung der Lizenzbedingungen (www.vdi.de/richtlinien), die in den VDI-Merkblättern geregelt sind, möglich.

Allen, die ehrenamtlich an der Erarbeitung dieser Richtlinie mitgewirkt haben, sei gedankt.

Eine Liste der aktuell verfügbaren Blätter dieser Richtlinienreihe ist im Internet abrufbar unter www.vdi.de/4330.

Einleitung

Diese Richtlinie ist durch den Richtlinienausschuss „GVP-Monitoring – Molekularbiologie“ erarbeitet worden.

Die EU-Richtlinie 2001/18/EG regelt, dass in Verkehr gebrachte gentechnisch veränderte Organismen (GVO) nach Maßgabe des in der Genehmigung festgelegten Monitoringplans zu beobachten sind, um mögliche schädliche Auswirkungen auf die zugrunde gelegten Rechtsgüter zu ermitteln. Für die Durchführung der Beobachtungen kann es erforderlich sein, GVO mit molekularbiologischen Verfahren nachzuweisen. Eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse kann jedoch nur dann gewährleistet werden, wenn hierbei erprobte und standardisierte Nachweisverfahren eingesetzt werden. Im Rahmen der Richtlinienreihe VDI 4330 werden unter anderem methodenspezifische Richtlinienblätter für den nukleinsäurebasierten Nachweis von gentechnischen Veränderungen veröffentlicht.

Die Richtlinie VDI 4330 Blatt 5 beschreibt die Anforderungen an die Probenahme und die Aufarbeitung von Pflanzenmaterial für den molekularbiologischen Nachweis gentechnisch veränderter Nukleinsäuren. Es handelt sich hierbei um eine Weiterentwicklung der durch den Unterausschuss „Methodenentwicklung“ der Bund-Länder-Arbeitsgemeinschaft Gentechnik entwickelten Vorschrift für die Probenahme von Pflanzenmaterial [1].

1 Anwendungsbereich

Diese Richtlinie beschreibt die Entnahme, den Transport und die Lagerung von Pflanzenmaterial sowie die Nukleinsäureextraktion im Rahmen eines Monitorings in Verkehr gebrachter gentechnisch

Preliminary note

The content of this standard has been developed in strict accordance with the requirements and recommendations of the standard VDI 1000.

All rights are reserved, including those of reprinting, reproduction (photocopying, micro copying), storage in data processing systems and translation, either of the full text or of extracts.

The use of this standard without infringement of copyright is permitted subject to the licensing conditions (www.vdi.de/richtlinien) specified in the VDI Notices.

We wish to express our gratitude to all honorary contributors to this standard.

A catalogue of all available parts of this series of standards can be accessed on the Internet at www.vdi.de/4330.

Introduction

This standard was created by the “GMP-Monitoring – Molecular biology” standards committee.

Directive 2001/18/EC on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms prescribes the monitoring of genetically modified organisms (GMOs) that have been placed on the market, in accordance with the monitoring plan set out in the approval, to identify potential adverse effects on the underlying legally protected rights. The detection of GMOs using molecular biological techniques may be necessary in order to carry out this monitoring. However, comparability of the results can be achieved only if validated and standardised test procedures are used. The Association of German Engineers (VDI) is therefore publishing a set of standards describing specific methods for detecting genetic modifications based on nucleic acids as part of the series of standards VDI 4330.

The standard VDI 4330 Part 5 describes the requirements for sampling and preparing plant material for the molecular biological detection of genetically modified nucleic acids. This represents a further development of the standard for the sampling of plant material [1] developed by the “Method Development” sub-committee of the German Working Group on Genetic Engineering of the Federal States and the Federal Government.

1 Scope

This standard describes the sampling, transportation and storage of plant material and the extraction of nucleic acid in the context of monitoring genetically modified plants (GM plants) which

veränderter Pflanzen (GV-Pflanzen). In diesem Zusammenhang können unter anderem nachfolgende Fragestellungen relevant sein:

- Prüfung von Pflanzen (Kulturpflanzen oder Hybriden mit kreuzbaren Arten) in der Umgebung von Anbauflächen mit GV-Pflanzen auf gentechnische Veränderungen
- Prüfung von Pflanzen (Kulturpflanzen oder Hybriden mit kreuzbaren Arten) an den Transportwegen auf gentechnische Veränderungen
- Prüfung von Durchwuchs-Kulturpflanzen auf Anbauflächen auf gentechnische Veränderungen
- Prüfung von Feldern hinsichtlich des Auftretens von GV-Pflanzen bedingt durch benachbarten Anbau von GV-Pflanzen
- Prüfung der Identität von GV-Pflanzen im Rahmen des Anbaus

Vor der Probenahme muss, abhängig von der konkreten Fragestellung, eine Probenahmestrategie entwickelt werden, die eine repräsentative und praktikable Probenahme gewährleistet. Die Beschreibung von Probenahmestrategien für die Entnahme von Pflanzenproben ist nicht Bestandteil dieser Richtlinie.

Die Durchführung floristischer Kartierungen zur Erfassung möglicher GV-Pflanzen und ihrer Kreuzungsprodukte ist in der Richtlinie VDI 4330 Blatt 10 beschrieben.

Anleitungen für die Probenahme von Pollen finden sich in den Richtlinien VDI 4330 Blatt 3 und Blatt 4.

Geeignete Verfahren zum Nachweis gentechnisch veränderter Nukleinsäuren werden in der Richtlinie VDI 4331 Blatt 2 (PCR-Verfahren) beschrieben.

have been placed on the market. Below is a list of investigations which may be relevant to the context:

- testing plants (crops or hybrids derived from crossable species) on land adjacent to areas where GM crops are grown for the presence of GM traits
- testing plants (crops or hybrids derived from crossable species) along transport routes for the presence of GM traits
- testing volunteer crops on arable land for the presence of GM traits
- testing for the presence of GM crops in non-GM fields adjacent to fields where GM crops are grown
- testing the identity of GM crops in the context of cultivation

Before sampling can take place, a sampling strategy which allows for representative and practical sampling must be developed, depending on the aim of the research. This standard does not describe sampling strategies for collecting plant samples.

The performance of floristic mapping to record potential GM plants and their offspring is described in standard VDI 4330 Part 10.

Instructions for sampling pollen can be found in Part 3 and Part 4 of the series of standards VDI 4330.

Suitable methods for detecting genetically modified nucleic acids are described in standard VDI 4331 Part 2 (PCR methods).