



Überprüfung und Beurteilung der am 07.09.2020 veröffentlichten Nachweismethode für herbizidtoleranten Raps (Chhalliyil et al., Foods 2020)

In einem Artikel der Fachzeitschrift Foods vom 07.09.2020 (Chhalliyil et al.)¹ wird eine Nachweismethode für in den USA von der Firma Cibus US LLC vermarktete herbizidtolerante Rapslinien vorgestellt, die nach Auslegung der Autoren mit Einsatz der Oligonukleotid-gesteuerten Mutagenese (ODM) erzeugt sein sollen. Die Autoren stellen heraus, dass sie erstmalig eine spezifische Nachweismethode für eine Pflanze beschrieben, die mit neuen genomischen Techniken (Genom-Editierung) verändert worden sei. Als methodischer Ansatz wurde die Real-Time-PCR gewählt. Auch in der EU gültige Anforderungen an Identifizierungs- und Nachweisverfahren für die Kontrolle genetisch veränderter Lebensmittel und Futtermittel seien mit diesem PCR-Verfahren erfüllbar. Die wissenschaftliche Veröffentlichung wurde vom Verband Lebensmittel ohne Gentechnik (VLOG), Greenpeace und weiteren Verbänden finanziert.

Das BVL hat die in der Publikation beschriebene Real-Time-PCR-Methode sorgfältig geprüft und kommt zu nachfolgender Bewertung.

Inhaltsverzeichnis

1	Überprüfung der Nachweismethode hinsichtlich analytischer Leistungskriterien	3
2	Anwendbarkeit in der Gentechniküberwachung.....	5
3	Beurteilung, ob der aufgezeigte Weg genutzt werden kann, um andere, mittels <i>Genome Editing</i> hergestellte Organismen bei amtlichen Kontrollen von Lebens- und Futtermitteln gerichtsfest zu identifizieren.....	6
4	Referenzen	7
5	Tabellen	8

1 Überprüfung der Nachweismethode hinsichtlich analytischer Leistungskriterien

Ergebnis

Die **Sensitivität** der Methode genügt den Anforderungen an qualitative Prüfverfahren gemäß dem aktuell gültigen MPR-Dokument.

Die Methode erfüllt in Hinblick auf die **Spezifität und Robustheit** nicht die minimalen Anforderungen an qualitative Prüfverfahren gemäß dem aktuell gültigen MPR-Dokument.

Begründung/Erläuterung

Zur Überprüfung der Leistungseigenschaften der Methode zum Nachweis von herbizidtoleranten Rapslinien nach Chhalliyil *et al.* (2020) durch Detektion der eigenschaftsgebenden Punktmutation im AHAS1C-Gen wurden die für qualitative Prüfverfahren geltenden Kriterien des aktuell gültigen ENGL-Dokuments „Definition of Minimum Performance Requirements for Analytical Methods of GMO Testing“ (MPR, 2015)² zugrunde gelegt^A. Demgemäß wurde die Methode hinsichtlich der Sensitivität, Spezifität und Robustheit mit verschiedenen Referenzmaterialien^B im Nationalen Referenzlabor für gentechnisch veränderte Organismen (NRL GVO) überprüft. Die bei der Überprüfung der Methode verwendeten analytischen Bedingungen entsprachen der o. g. Publikation¹.

Zunächst erfolgte die Testung der **Sensitivität** der o. g. Methode durch Messung an 60 Replikaten mit DNA, extrahiert aus der Rapslinie 40K, ohne Hintergrund-DNA (d. h. in Pufferlösung). Hier wurde eine Nachweisgrenze von 10 Kopien oder weniger ermittelt, sodass die Methode unter diesen, idealen Bedingungen als ausreichend sensitiv eingeschätzt wird und diesbezüglich den MPR-Anforderungen² entspricht (Nachweisgrenze muss weniger als 25 Kopien betragen)^C.

Im Rahmen der weiteren Untersuchungen wurde auch die **Robustheit** der Methode untersucht. Bei Einsatz von reiner 40K-Proben-DNA ist die Methode auch bei leichten Änderungen der PCR-Bedingungen in der Lage, ein reproduzierbar positives Signal zu liefern. Bei Verwendung von Raps-DNA als Hintergrund war es jedoch in Abhängigkeit des Real-Time-PCR-Geräts und des Auswertemodus nicht immer möglich, ein Amplifikationssignal zu erhalten, sodass die Robustheit der Methode unter realen Probenbedingungen nicht bestätigt werden konnte.

Um die **Spezifität** der Methode zu überprüfen, wurden zunächst in *in silico*-Experimente durchgeführt. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Punktmutation in der Zielsequenz auch natürlich vorkommen kann. Eine nahezu vollständige Übereinstimmung wurde festgestellt mit einer veröffentlichten

^A Das MPR-Dokument wird derzeit überarbeitet, um Leistungskriterien auch für Methoden zum Nachweis von Einzelbasenmutationen zu definieren.

^B Um die Materialien aus der Publikation zu verwenden und somit Abweichungen bzgl. der Rapslinien bei separater Beschaffung über die Firma Cibus auszuschließen, wurden der Methodenentwickler in den USA (John Fagan) sowie die Sponsoren der Studie (VLOG und Greenpeace e.V. bzw. Greenpeace European Unit) kontaktiert und mehrfach gebeten, vorliegende Probenmaterialien der in der Studie untersuchten Rapslinien zur Verfügung zu stellen. Weder von den Autoren noch von den Sponsoren der Publikation wurden dem BVL Materialien zur Verfügung gestellt. Das BVL hat von der Firma Cibus vermahlene Materialien der in der Publikation verwendeten herbizidtoleranten Rapslinie 40K und weiteren herbizidtoleranten Rapslinien am 26.10.2020 erhalten und die Methode damit, sowie mit zahlreichen zur Verfügung stehenden Referenzmaterialien weiterer Pflanzenlinien, überprüft.

^C Es ist die vorliegende Amplikongröße von 334 Basenpaaren zu beachten. Sofern mit der Methode stark fragmentierte DNA, z. B. aus prozessierten Lebens- oder Futtermitteln, untersucht wird, könnte eine effektive Verringerung der Menge an vorliegendem PCR-Template und somit eine Verschlechterung der praktischen Nachweisgrenze auftreten.

DNA-Sequenz (NCBI AJ344991), die für eine *Raphanus raphanistrum* (Acker-Rettich) - Probe in Australien im Rahmen einer Studie³ zur Entwicklung von Herbizidtoleranz bestimmt wurde (s. auch Abschnitt 2).

Ebenso weisen aufgrund der herbeigeführten Einzelbasenmutation im AHAS1C-Gen Wildtyp- und GVO-Raps-Linien (*Brassica napus*) sowie Gemüsekohl (*Brassica oleracea*) und Äthiopischer Senf (*Brassica carinata*) die nicht-modifizierte DNA-Sequenz und somit die PCR-Zielsequenz nahezu identisch auf, sodass aufgrund dieses minimalen Unterschieds unspezifische PCR-Amplifikationen möglich sind und eine detaillierte experimentelle Überprüfung der Spezifität nötig ist.

Nach diesen bioinformatischen Untersuchungen erfolgte die **experimentelle** Überprüfung der **Spezifität**. Zunächst wurde die Nachweismethode mit den dem BVL vorliegenden Cibus-Rapsmaterialien geprüft, darunter die in der Publikation¹ beschriebene Linie 40K sowie zwei experimentelle, nicht-vermarktete Versuchslinien (CC9014, CC9016, siehe Tabellen 1 und 3). Die Punktmutation im AHAS1C-Gen geht laut Informationen von Cibus in der Linie 40K und in den experimentellen Linien auf somaklonale Variation und nicht auf gezieltes *Genome Editing* (ODM) zurück. Mit allen DNA-Konzentrationsstufen wurden für diese Linien stets positive PCR-Ergebnisse erzielt.

Die Spezifität der Methode wurde anschließend an 56 für den Lebens- und Futtermittelbereich relevanten Pflanzen-Linien (Soja, Mais, Baumwolle, Zuckerrübe, Leinsamen, Kartoffel, Reis; jeweils sowohl gentechnisch verändert als auch als konventionell) ohne Einbeziehung der Spezies Raps überprüft (siehe Tabelle 1); pro Ansatz wurden jeweils 2500 haploide Genomkopien der jeweiligen Linie eingesetzt. Hier wurde keine unspezifische Amplifikation mit der o. g. Methode festgestellt.

Zusätzlich wurde die Spezifität aufgrund der bioinformatischen Ergebnisse an konventionellem Acker-Rettich (*Raphanus raphanistrum*) bei Einsatz von hohen bis mittleren, an der Publikation¹ orientierten Mengen an Proben-DNA (300 ng oder 100 ng pro Ansatz) geprüft. Hierbei wurden unspezifische Amplifikationen oberhalb der Nachweisgrenze der Methode beobachtet (siehe Tabelle 1).

Darüber hinaus wurden 27 Raps-Linien, die am AHAS 1C-Gen die Wildtyp-Sequenz tragen sollten, darunter 7 konventionelle Linien, 9 Clearfield-Linien sowie 11 GVO-Linien, untersucht (siehe Tabelle 2). Dabei konnte festgestellt werden, dass die Methode unter Verwendung von 300 ng oder 100 ng DNA pro Ansatz auch für *alle* getesteten Raps-Linien reproduzierbar unspezifische Amplifikationen oberhalb oder im Bereich der Nachweisgrenze der Methode zeigt. Die Amplifikationskurven weisen allerdings häufig ein niedrigeres Plateau im Vergleich zu reiner 40K-DNA ohne Hintergrund-DNA auf. Die unspezifischen Amplifikationen würden in der Analytik von unbekanntem Proben als falsch-positiv gewertet werden. Die Ergebnisse konnten an unterschiedlichen Real-Time-PCR-Geräten auch mit unterschiedlichen Einstellungen bestätigt werden.

Die Beobachtungen zur ungenügenden Spezifität der Methode mit anderen Raps-Linien wurden in weiteren Referenzlaboratorien bestätigt.

Zusammengefasst zeigen die Ergebnisse der Überprüfung, dass die von Chhalliyil *et al.*¹ publizierte Methode bei Verwendung von DNA aus nicht-prozessiertem Material ausreichend sensitiv, jedoch bei Anwesenheit von Raps-DNA in der gemäß Publikation empfohlenen Arbeitskonzentration (100 bis 300 ng pro Ansatz) nicht ausreichend spezifisch und nicht ausreichend robust ist. Die Methode erzeugt mit allen getesteten Rapslinien einschließlich konventionellem Raps und Acker-Rettich unter den publizierten analytischen Bedingungen unspezifische und als positiv zu interpretierende PCR-Ergebnisse und ist somit bezüglich sowohl des Nachweises als auch der Identifizierung der herbizidtoleranten Rapslinien der Firma Cibus nicht spezifisch. Darüber hinaus werden auch die herbizidtoleranten Versuchs-Rapslinien miterfasst und die Methode ist daher entgegen der Aussage in der Publikation¹ nicht Event-spezifisch. Die Methode erfüllt damit in Hinblick auf die Spezifität nicht die minimalen Anforderungen an qualitative Prüfverfahren gemäß dem MPR-Dokument.

2 Anwendbarkeit in der Gentechniküberwachung

Ergebnis

In der **Gentechniküberwachung** kann die Methode aufgrund der Einschränkungen hinsichtlich Spezifität und Robustheit des SNV-Nachweises derzeit nicht angewendet werden.

Begründung/Erläuterung

In Bezug auf Methodendvalidierungen im Rahmen offizieller Kontrollen ist gemäß VO (EU) 2017/625 Art. 34 (1) festgelegt, dass „die bei den amtlichen Kontrollen und anderen amtlichen Tätigkeiten für Probenahmen und für Laboranalysen, -tests und -diagnosen verwendeten Methoden [...] den Vorschriften der Union über solche Methoden oder über die Leistungskriterien für solche Methoden“ genügen müssen. In Übereinstimmung mit der letztgenannten Bestimmung sind die Leistungskriterien für GVO-Nachweismethoden im ENGL-Dokument „Definition of Minimum Performance Requirements for Analytical Methods of GMO Testing“ (MPR, 2015)² festgelegt.

Das in der Publikation beschriebene Nachweisverfahren für den Nachweis und die Identifizierung bestimmter herbizidtoleranter Rapslinien mittels Detektion der Punktmutation (engl. *Single Nucleotide Variant*, SNV) im AHAS1C-Gen ist nach Bewertung der veröffentlichten Daten und nach eigenen Untersuchungen nicht dazu geeignet, diese Rapslinien ausreichend spezifisch nachzuweisen (siehe Tabelle 2 bzw. Abschnitt 1).

Die Methode lässt außerdem keine Identifizierung der verschiedenen in Rede stehenden Rapslinien des Unternehmens Cibus (40K, C1511, C5507) zu, sondern weist (nicht ausreichend spezifisch) lediglich die Punktmutation im AHAS1C-Gen nach. Es ist keine Event-spezifische Unterscheidbarkeit möglich zwischen herbizidtoleranten Rapslinien, bei denen die Mutation durch *Genome Editing* oder somaklonal in Zellkultur entstanden ist. Das Ergebnis der Analyse einer Probe, die allein auf der Untersuchung mit dieser Methode beruht, ist daher nicht geeignet, in der Lebens- und Futtermittelüberwachung zur *Identifizierung* der infrage stehenden herbizidtoleranten Rapslinien oder des Nachweises gentechnischer Veränderungen genutzt zu werden. Ein eventuell nur schwaches, positives PCR-Ergebnis kann sowohl auf geringe Verunreinigungen mit den infrage stehenden Rapslinien (40K, C1511, C5507) als auch auf unspezifische Kreuzreaktionen mit konventionellem Raps oder Acker-Rettich zurückzuführen sein. Bei zusammengesetzten Produkten, wie beispielsweise Tiermischfuttermitteln, die häufig aus Mixturen verschiedener Spezies und Sorten bestehen sowie botanische Verunreinigungen aufweisen (z. B. auch mit Acker-Rettich), wäre ein positives PCR-Ergebnis ohne weitere Identifikationsverfahren nicht zweifelsfrei den infrage stehenden Rapslinien (40K, C1511, C5507) zuzuschreiben.

Wissenschaftliche Veröffentlichungen zeigen außerdem, dass die Anwendung von Herbiziden auf Anbauflächen (z. B. der Einsatz beim Clearfield-Produktionssystem) einen Selektionsdruck mit sich bringt, welcher die Entstehung und Etablierung der besagten Punktmutation in verwandten Spezies, die ebenfalls ein AHAS-Gen besitzen, stark beschleunigen kann⁴.

In der Gentechniküberwachung kann die Methode aufgrund der unzureichenden Spezifität und Identifizierbarkeit der Raps-Linien derzeit nicht angewendet werden. Auch eine Anwendung zum Screening, bei der zunächst keine Identifizierung der Rapslinie erfolgt, ist aufgrund der Kreuzreaktivität unter den in der Publikation vorgegebenen PCR-Bedingungen mit der beschriebenen Methode nicht möglich.

Eine zweifelsfreie Identifizierung der infrage stehenden Rapslinien (40K, C1511, C5507) wäre gegenwärtig nur unter Verwendung von nicht-analytischen Prüfungen (Dokumentenprüfungen) durchführbar.

3 Beurteilung, ob der aufgezeigte Weg genutzt werden kann, um andere, mittels *Genome Editing* hergestellte Organismen bei amtlichen Kontrollen von Lebens- und Futtermitteln gerichtsfest zu identifizieren

Ergebnis:

Mit dem in der Publikation aufgezeigten Weg kann nicht generell davon ausgegangen werden, dass die **gerichtsfeste Identifizierung** eines durch *Genome Editing* erzeugten GVO mit Einzelbasenmutation in der amtlichen Lebens- und Futtermittelüberwachung möglich ist.

Begründung/Erläuterung:

Der in der Publikation von Chhalliyil *et al.*, Foods, 2020 dargestellte Weg zur Entwicklung eines PCR-Nachweises könnte nach bisherigem Kenntnisstand grundsätzlich geeignet sein, eine Punktmutation (SNV) mit ausreichender Sensitivität und Spezifität nachzuweisen. Die verwendete Methode nutzt zur Erhöhung der Spezifität sog. *locked nucleic acids* (LNA), welche die Stringenz der Bindung am fraglichen SNV erhöhen soll. Diese Möglichkeit ist allerdings stark von der jeweiligen umgebenden DNA-Sequenz abhängig. Auch ist es aus thermodynamischen Gründen, wie im vorliegenden Fall, nicht *per se* ausreichend, durch Verwendung einer einzigen LNA-Modifikation einen spezifischen SNV-Nachweis zu erzielen⁵. Es sind weitere Forschungsarbeiten erforderlich, um Daten zu generieren hinsichtlich der Frage, ob generell mit einem LNA-Ansatz mittels *Genome Editing* erzeugte Organismen und daraus hergestellte Produkte identifizierbar sind.

Beim Nachweis von „klassischen“ GVO, die durch die Integration von Fremd-DNA in das Wirtsgenom erzeugt werden, wird mittels PCR der spezifische Übergang vom Wirtsgenom zum Transgen nachgewiesen. Da diese Integration des Transgens zufällig erfolgt, ist das resultierende Transformationsereignis (*transformation event*) einzigartig und kann, bei Kenntnis der Sequenz und Vorliegen von Referenzmaterial in Kombination mit einer validierten Methode, zweifelsfrei und gerichtsfest identifiziert werden; dies entspricht auch den Anforderungen in VO (EU) 503/2013, Anhang III, 3.1.C.3 ff.

Der bisherige Analyseweg zur Identifizierung eines GVO über den Nachweis einer Integration von Transgenen ist nicht auf Organismen übertragbar, die durch *Genome Editing* genetisch verändert wurden und keine Fremd-DNA enthalten. Im Falle einer Einzelbasenmutation (Punktmutation) sind zur eindeutigen analytischen Identifizierung des Events nach derzeitigem Kenntnisstand weitere, für den GVO charakteristische genetische Veränderungen einzubeziehen. Sollten in einem Lebens- oder Futtermittel mithilfe von *Genome Editing* weitere, einzigartige Veränderungen im Genom, welche zusammen mit einem SNV vererbt werden, aufgetreten sein, und von einer ausreichend genetischen Stabilität des Wildtyp-Genoms ausgegangen werden kann, könnte eine Identifizierung bei Vorliegen einer entsprechenden Methode und geeigneten Referenzgenomdaten möglich sein. Die Frage nach der Größe der einzigartigen genetischen Sequenzveränderung (Anzahl von Einzelbasenmutationen, Größe einer Deletion oder Insertion), die für eine eindeutige und rechtssichere Identifizierung des GVO benötigt wird, lässt sich bei derzeitigem Wissensstand nicht sicher beantworten⁶.

Mit dem in der Publikation aufgezeigten Weg und dem beschriebenen technischen Ansatz kann nicht generell davon ausgegangen werden, dass die gerichtsfeste Identifizierung eines durch *Genome Editing* erzeugten GVO mit Einzelbasenmutation in der amtlichen Lebens- und Futtermittelüberwachung möglich ist. Sofern ein genomeditierter Organismus identisch ist zu einem Organismus, bei dem die Mutationen natürlich entstanden sind oder durch herkömmliche Mutagenese oder Züchtung erzeugt wurden, ist der Nachweis einer Einzelbasenmutation nicht ausreichend, um eine Untersuchungsprobe eindeutig zuzuordnen. Es wäre grundsätzlich - bei Vorliegen der erforderlichen Robustheit und Spezi-

fität für den Nachweis der Einzelbasenmutation - allenfalls ein Screening auf die Anwesenheit von infrage stehenden Einzelbasenmutationen möglich, die bei positiven Befunden durch weitere, noch zu entwickelnde Identifizierungsverfahren oder durch Dokumentenprüfungen zu bestätigen wären, um gerichtsfeste Analyseergebnisse zu erzielen.

4 Referenzen

- [1] Chhalliyil P, Ilves H, Kazakov SA, Howard SJ, Johnston BH, Fagan J. *A Real-Time Quantitative PCR Method Specific for Detection and Quantification of the First Commercialized Genome-Edited Plant*. *Foods*. 2020 Sep 7;9(9):1245. doi: 10.3390/foods9091245
- [2] European Network of GMO Laboratories (ENGL). *Definition of Minimum Performance Requirements for Analytical Methods of GMO Testing*. JRC Technical Report 2015. JRC95544
- [3] Tan MK, Medd RW. *Characterisation of the acetolactate synthase (ALS) gene of *Raphanus raphanistrum* L. and the molecular assay of mutations associated with herbicide resistance*. *Plant Sci*. 2002; 163, 195-205. doi: 10.1016/S0168-9452(02)00082-1
- [4] Nandula VK, Giacomini DA, Ray JD. *Resistance to acetolactate synthase inhibitors is due to a W574 to L amino acid substitution in the ALS gene of redroot pigweed and tall waterhemp*. *PLOS ONE* 2020; 15(6): e0235394. doi: 10.1371/journal.pone.0235394
- [5] You Y, Moreira BG, Behlke MA, Owczarzy R. *Design of LNA probes that improve mismatch discrimination*. *Nucleic Acids Res*. 2006 May 2;34(8):e60. doi: 10.1093/nar/gkl175
- [6] Ressortforschungseinrichtungen BVL, JKI, FLI, TI, MRI und BfR. *Wissenschaftlicher Bericht zu den neuen Techniken in der Pflanzenzüchtung und der Tierzucht und ihren Verwendungen im Bereich der Ernährung und Landwirtschaft*. Bericht vom 23.02.2018

5 Tabellen

Tabelle 1: Zusammenfassung des Spezifitätstests mit DNA aus Nicht-Raps-Linien.

Bezeichnung	Spezies	Bezugsquelle	Amplifikation mit SU-Raps-Methode ¹
<i>R. raphanistrum</i> (konventionell)	Acker-Rettich	Templiner Kräutergarten	ja
Baumwolle (konventionell)	Baumwolle	AOCS	nein
3006-210-23 x 281-24-236	Baumwolle	JCR	nein
GHB119	Baumwolle	JRC	nein
GHB614	Baumwolle	AOCS	nein
LLCOTTON25	Baumwolle	AOCS	nein
MON1145	Baumwolle	AOCS	nein
MON15985	Baumwolle	AOCS	nein
MON531	Baumwolle	AOCS	nein
MON88913	Baumwolle	AOCS	nein
T304-40	Baumwolle	JRC	nein
Kartoffel (konventionell)	Kartoffel	JRC	nein
AM04-1020	Kartoffel	-	nein
EH92-527-1	Kartoffel	JRC	nein
Leinsamen (konventionell)	Leinsamen	-	nein
J101	Luzerne	Forage Genetics	nein
Mais (konventionell, Linie 0406-A)	Mais	AOCS	nein
Mais (konventionell, Linie 0407-A)	Mais	AOCS	nein
1507	Mais	JRC	nein
5307	Mais	AOCS	nein
40278	Mais	JRC	nein
59122	Mais	JRC	nein
4114-3	Mais	JRC	nein

Bezeichnung	Spezies	Bezugsquelle	Amplifikation mit SU-Raps-Methode¹
Bt11	Mais	JRC	nein
GA21	Mais	AOCS	nein
MIR162	Mais	AOCS	nein
MIR604	Mais	JRC	nein
MON810	Mais	JRC	nein
MON87403	Mais	AOCS	nein
MON87411	Mais	AOCS	nein
MON87427	Mais	AOCS	nein
MON87460	Mais	AOCS	nein
MON88017	Mais	AOCS	nein
MON89034	Mais	AOCS	nein
MZHG0JG	Mais	AOCS	nein
NK603	Mais	JRC	nein
T25	Mais	AOCS	nein
LLRice62	Reis	AOCS	nein
Soja (konventionell)	Soja	AOCS	nein
44406	Soja	JRC	nein
68416	Soja	JRC	nein
305423	Soja	JRC	nein
356043	Soja	JRC	nein
40-3-2	Soja	JRC	nein
A2704-12	Soja	AOCS	nein
A5547-127	Soja	AOCS	nein
CV-127	Soja	AOCS	nein
FG72	Soja	AOCS	nein

Bezeichnung	Spezies	Bezugsquelle	Amplifikation mit SU-Raps-Methode ¹
MON87701	Soja	AOCS	nein
MON87705	Soja	AOCS	nein
MON87708	Soja	AOCS	nein
MON87751	Soja	AOCS	nein
MON87769	Soja	AOCS	nein
MON89788	Soja	AOCS	nein
Weizen (konventionell, Linie Biscay)	Weizen	-	nein
Zuckerrübe (konventionell)	Zuckerrübe	AOCS	nein
H7-1	Zuckerrübe	JRC	nein

Tabelle 2: Zusammenfassung des Spezifitätstests mit DNA aus Raps-Linien.

Bezeichnung	Spezies	Bezugsquelle	Amplifikation mit SU-Raps-Methode ¹
konventioneller Raps (Cibus CC9018)	Raps	Cibus	ja
konventioneller Raps (Linie AOCS 0304-A2)	Raps	AOCS	ja
konventioneller Raps (Linie AOCS 0306-B4)	Raps	AOCS	ja
konventioneller Raps (Linie 32RRMM0091)	Raps	Bayer CropScience	ja
konventioneller Raps (Linie 32RRMM0102)	Raps	Bayer CropScience	ja
konventioneller Raps (Linie Drakkar)	Raps	Bayer CropScience	ja
konventioneller Raps (Linie KWS1519)	Raps	KWS Saat	ja
DK Imperial CL	Raps	Bayer CropScience	ja
DK Impression CL	Raps	Bayer CropScience	ja
ES Aquarel CL	Raps	Euralis	ja
ES Decibel CL	Raps	Euralis	ja
LG CARLTON CL	Raps	Limagrain	ja

Bezeichnung	Spezies	Bezugsquelle	Amplifikation mit SU-Raps-Methode ¹
LG CONRAD CL	Raps	Limagrain	ja
Summer Rapeseed B-Line CL	Raps	Deutsche Saatveredelung AG	ja
Winter Rapeseed B-Line CL	Raps	Deutsche Saatveredelung AG	ja
Winter Rapeseed Hybrid CL	Raps	Deutsche Saatveredelung AG	ja
73496	Raps	JRC	ja
GT73	Raps	AOCS	ja
MON88302	Raps	AOCS	ja
Ms1	Raps	AOCS	ja
Ms11	Raps	AOCS	ja
Ms8	Raps	AOCS	ja
Rf1	Raps	AOCS	ja
Rf2	Raps	AOCS	ja
Rf3	Raps	AOCS	ja
T45	Raps	AOCS	ja
Topas19/2	Raps	AOCS	ja
40K	Raps	Cibus	ja
CC9014	Raps	Cibus	ja
CC9016	Raps	Cibus	ja

Farbgebung: grün, konventioneller Raps; blau, Clearfield-Raps; gelb, gentechnisch veränderter Raps; grau, Cibus-Linien mit vorliegender Einzelbasenmutation

Tabelle 3: Anwesenheit und Ursprung der AHAS-Punktmutationen in untersuchten herbizidtoleranten Rapslinien der Firma Cibus.

Linie	Punktmutation (Ursprung) in AHAS1C	Punktmutation (Ursprung) in AHAS3A
40K	ja (somaklonal)	ja (somaklonal)
CC9014	ja (somaklonal)	ja (somaklonal)
CC9016	ja (somaklonal)	ja (ODM)