



Consiglio dei **Diritti Genetici**



Rapporto di valutazione della notifica EFSA-GMO-DE-2004-03



“Richiesta per l'immissione in commercio, per uso alimentare e produzione di mangimi, di mais GM MON863 x MON810 resistente agli insetti, ai sensi del Regolamento (CE) 1829/2003 ”

Presentata da Monsanto Europe S.A.

Rapporto numero: 2-2006

PREMESSA

Il 18 ottobre 2003 è stato emanato il Regolamento (CE) 1829/2003 relativo agli alimenti ed ai mangimi geneticamente modificati. Tale Regolamento, entrato in vigore il 18 Aprile 2004, istituisce procedure comunitarie per l'autorizzazione e la vigilanza di alimenti e mangimi geneticamente modificati.

In base al principio "one door, one key", le richieste di commercializzazione di alimenti e mangimi geneticamente modificati possono essere presentate ai sensi del suddetto Regolamento senza che sia necessaria un'ulteriore autorizzazione ai sensi della Direttiva 2001/18/CE.

L'ente responsabile della valutazione delle notifiche è la European Food Safety Authority (EFSA), attraverso un apposito gruppo di esperti, il GMO-Panel.

Procedura Autorizzativa

Un'azienda che intende commercializzare un OGM ad uso alimentare in Europa, dovrà presentare una domanda, denominata **notifica**, all'Autorità Competente di uno Stato Membro. Essa dovrà contenere, oltre ai documenti richiesti per la valutazione della sicurezza alimentare¹, tutte le informazioni necessarie affinché sia effettuabile la valutazione del rischio e i piani di monitoraggio dei possibili effetti diretti e indiretti, immediati e differiti sull'ambiente e sulla salute umana, così come indicato negli allegati tecnici della Direttiva europea sull'emissione deliberata nell'ambiente di organismi geneticamente modificati².

La documentazione viene inviata al GMO-Panel dell'EFSA, che, verificatane la conformità, ha 6 mesi di tempo per redigere un parere scientifico (**scientific opinion**) sulla base della documentazione presentata, che viene trasmessa alla Commissione Europea. Nella fase propedeutica alla formulazione del parere, l'EFSA può richiedere una valutazione di sicurezza dell'alimento, all'ente per la valutazione degli alimenti di uno Stato Membro³ e/o una valutazione del rischio ambientale ad opera dell'Autorità competente di uno Stato membro⁴.

Nel caso in cui la richiesta includa anche la coltivazione, la valutazione del rischio ambientale del prodotto deve essere condotta dall'Autorità Competente di uno stato membro, ai sensi della Direttiva 2001/18/CE. Le Autorità Competenti degli altri stati membri possono essere consultate.

Se la notifica riceve parere favorevole da parte dell'EFSA, la richiesta passa al Comitato delle Autorità Competenti degli Stati Membri dell'Unione Europea, e sarà autorizzata secondo la procedura di comitato⁵.

L'articolo 29 del Regolamento (CE) 1829/2003 garantisce il diritto all'informazione del pubblico regolamentando le modalità di accesso alla documentazione: il pubblico può richiedere all'EFSA l'accesso alla documentazione completa (escluse le parti confidenziali) relativa alle notifiche che abbiano ottenuto una "valid application".

L'articolo 6 comma 7 del Regolamento (CE) 1829/2003 prevede la possibilità per il pubblico di partecipare attivamente ai processi decisionali attraverso la facoltà di esprimere osservazioni: il tempo limite per la presentazione da parte del pubblico di eventuali osservazioni è di **30 giorni dalla data di pubblicazione dell'opinione da parte dell'EFSA**.

Osservatorio Agrobiotecnologie

L'Osservatorio Agrobiotecnologie, come parte del Consiglio dei Diritti Genetici⁶, associazione scientifica e culturale indipendente, intende promuovere e approfondire la partecipazione del

¹ Regolamento (CE) n.1829/2003, articoli 5(8) e 17(8)

² Direttiva 2001/18/CE

³ Regolamento (CE) n.1829/2003, art.6, par.3, lett. b

⁴ Regolamento (CE) n.1829/2003 art.6, par.3, lett. c

⁵ Regolamento (CE) n.1829/2003 art.35

⁶ www.consigliodirittigenetici.org

pubblico ai processi decisionali relativi ai rilasci di OGM. A tal fine, analizza le *opinion* pubblicate dall'EFSA e la documentazione disponibile e realizza un rapporto di valutazione basato sia sulle notizie rese disponibili al pubblico secondo le modalità previste dal Regolamento, sia sulle informazioni scientifiche fornite da altre fonti pubbliche. Il rapporto così realizzato ha la finalità di evidenziare gli eventuali punti non chiariti nella notifica e nell'*opinion*, fornendo così gli elementi necessari al pubblico per formulare le proprie osservazioni.

Inoltre, l'OA intende concorrere direttamente al processo di autorizzazione dei nuovi OGM inviando alla Commissione Europea le proprie osservazioni.

In considerazione della scarsità del tempo lasciato al pubblico per procedere ad un'attenta valutazione delle richieste di rilascio di OGM e della difficoltà di reperimento delle informazioni scientifiche relative alla valutazione del rischio degli OGM, tale rapporto non può essere considerato come un oggetto statico e definitivo, bensì come un lavoro in fase di elaborazione che potrà arricchirsi di tutti i contributi che saranno resi disponibili in futuro.

Riassunto

Il 14 Luglio 2005, l'EFSA ha pubblicato l'*opinion* relativa all'applicazione EFSA-GMO-DE-2004-03. Tale richiesta, presentata dalla Monsanto, è per ottenere l'autorizzazione ad introdurre nel mercato europeo il mais GM MON 863 x MON 810, per usi nell'alimentazione umana e animale.

Il mais suddetto è stato ottenuto tramite incrocio tradizionale tra le linee di mais GM MON863 e MON810 per combinare il carattere di resistenza ad alcuni coleotteri e principalmente alla Diabrotica (dovuto al gene cry3Bb1 inserito nel genoma del MON863) con il carattere di resistenza ad alcuni lepidotteri e principalmente alla Piralide e alla Sesamia (dovuto al gene cry1Ab inserito nel genoma del MON810).

Il 3 aprile l'EFSA ha pubblicato la overall opinion e si è ufficialmente aperta la consultazione pubblica.

Il pubblico ha la possibilità di inviare – **entro 30 giorni dalla data di pubblicazione dell'*opinion*** - i propri commenti, come previsto dall'Articolo 6 comma 7 del Regolamento (CE) 1829/2003.

Le eventuali osservazioni potranno essere inviate alla Commissione Europea, entro il 2 maggio 2006.

all'indirizzo

http://europa.eu.int/comm/food/food/biotechnology/authorisation/public_comments_en.htm.

L'**Osservatorio Agrobiotecnologie** del **CDG** ha esaminato i documenti messi a disposizione del pubblico e ritiene che:

- La documentazione fornitaci, dopo richiesta di accesso all'EFSA, risulta completa e dettagliata, sebbene di non facile consultazione, infatti la documentazione è stata integrata nel tempo a seguito delle richieste effettuate dagli Stati Membri e dal GMO Panel, il dossier tecnico completo tuttavia riporta tutti i dati principali.
- Dalla caratterizzazione dei singoli eventi, risulta evidente che il materiale effettivamente inserito, non si limita ai geni di interesse, ma al contrario, si sono cointegrati frammenti di DNA di diversa origine (vettore o mitocondriali):
 - in particolare, il MON 810 potrebbe presentare delezioni e/o riarrangiamenti, come conclude il lavoro di Hernandez⁷, dove non sono in grado di amplificare il DNA genomico del mais isogenico;
 - non è stata approfondita la ricerca di eventuali integrazioni di frammenti derivanti del secondo plasmide PV-ZMGT10 utilizzato nella trasformazione del MON 810;
 - nel caso del mais MON 863, come l'EFSA stessa sostiene^{8,9}, la caratterizzazione molecolare del DNA effettivamente integrato nel genoma non è stata completata. In effetti, il notificante, a causa di difficoltà tecniche dovute alla copurificazione di DNA mitocondriale e DNA genomico, non è stato in grado di identificare il punto di inserzione nel DNA genomico della pianta.

7 Hernandez M, Pla M, Esteve T, Prat S, Puigdomenech P and Ferrando A. A specific real-time quantitative PCR detection system for event MON810 in maize YieldGard based on the 3'-transgene integration sequence. Transgenic Research 2003, 12, 179-89.

8 Responses to EFSA Questions of February 13, 2004 (Ref. SR/sp D(2004)0155): pag. 3

9 Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the safety of foods and food ingredients derived from insect-protected genetically modified maize MON 863 and MON 863 x MON 810, for which a request for placing on the market was submitted under Article 4 of the Novel Food Regulation (EC) No 258/97 by Monsanto, The EFSA Journal (2004) 50, 1-25

- Sono evidenziate variazioni nel contenuto delle proteine CRY tra ibrido e parentali, che non suscitano preoccupazioni di per sé sulle potenziali conseguenze sulla salute, ma piuttosto sulla qualità e affidabilità dei dati riportati.
- In conclusione i dati forniti a riguardo della caratterizzazione molecolare non consentono di escludere possibili effetti secondari non prevedibili, determinati da interazioni tra nuovi elementi genici introdotti o modificati. Riteniamo pertanto necessarie l'uso di tecnologie ad ampio spettro per disegnare il profilo di espressione (trasrittomica, proteomica, metabolomica). In assenza di tali analisi, le ulteriori valutazioni condotte sul prodotto finale (composizionali, di allergicità e tossicità, delle performance agronomiche..) sono essenziali per escludere effetti non previsti sulla salute umana ed animale. A nostro avviso, per ridurre i potenziali rischi derivanti dall'inserzione di DNA di funzione non nota, sarebbe opportuno migliorare la selezione delle piante trasformate, selezionando quelle con il minor numero di elementi di DNA non necessari, prima di arrivare alla fase di commercializzazione del prodotto.
- Il campione del materiale usato per l'analisi composizionale è poco rappresentativo. Comunque, nell'analisi della granella del mais MON863 x MON810 e quella degli ibridi di controllo non-GM, sono stati valutati 58 parametri chimici e nel 21% dei casi sono state riscontrate differenze statisticamente significative. Questi risultati dimostrano che il quadro delle vie metaboliche del mais MON863 x MON810 è stato in qualche modo alterato. Ciò potrebbe avere conseguenze sulla salute indotte da variazioni delle concentrazioni di metaboliti al momento sconosciuti o non adeguatamente valutati.
- Non andrebbero sottovalutati gli indizi di potenziali rischi sanitari che emergono dall'analisi tossicologica la quale ha registrato un decremento statisticamente significativo della concentrazione di emoglobina nei maschi dei gruppi test, insieme al decremento in alcuni gruppi del peso di organi importanti come la tiroide ed i reni.
- La presunta assenza di allergicità del mais MON863 x MON810 è stata giustificata solo con ragionamenti deduttivi e non valutata con prove allergiche utilizzando la pianta intera. Infine, riteniamo gli studi sui polli, riportati dal notificante, non sufficienti per poter trarre conclusioni attendibili sull'equivalenza nutrizionale del prodotto.
- La maggior parte delle valutazioni sui possibili effetti derivanti dall'utilizzo per fini alimentari del mais transgenico MON 863 x MON 810 sono state effettuate in base ai risultati ottenuti studiando i singoli eventi di trasformazione (MON 863 e MON 810) e non il mais ibrido oggetto della notifica.
La valutazione di impatto ambientale fornita non risulta perciò sufficiente per individuare i possibili effetti indesiderati derivanti dall'utilizzo del mais GM. Dovrebbero essere forniti ulteriori studi sui possibili effetti del mais transgenico sugli organismi non target e sui microrganismi del suolo, con lo scopo di verificare che la trasformazione genetica delle piante non abbia effetti negativi rispettivamente sulle catene trofiche e sui cicli biogeochimici.
- I piani di sorveglianza e monitoraggio previsti non risultano sufficienti per monitorare i possibili effetti indesiderati che non sono stati considerati nella valutazione di impatto fornita dal notificante, ed inoltre, non risultano idonei per assicurare la separazione tra le filiere di produzione GM, tradizionali e biologiche.

BACKGROUND

In passato sono stati richiesti pareri dell'EFSA su due notifiche, in valutazione, concernenti la commercializzazione del mais MON863 e del mais MON863 x MON810. Nella prima notifica, presentata ai sensi del Regolamento (CE) 258/97, si richiedeva l'autorizzazione per la commercializzazione delle due varietà di mais GM suddette per usi alimentari. Nella seconda notifica, presentata ai sensi della Direttiva 2001/18/CE (riferimento C/DE/02/9), si richiedeva l'autorizzazione per la commercializzazione delle stesse varietà di mais GM per l'alimentazione animale, l'importazione e la trasformazione.

Il 2 aprile 2004, l'EFSA ha rilasciato un suo parere favorevole sulla sicurezza del mais MON863 (EFSA, 2004a, b) mentre richiedeva ulteriori studi (prove tossicologiche su ratti) per la valutazione del rischio relativa al MON863 x MON810, forniti dal notificante solo il 5 aprile 2005.

Non avendo completato l'iter autorizzativo entro il 18 aprile 2004, in accordo con l'articolo 46(1) del Regolamento (CE) 1829/2003, la notifica è stata convertita in una richiesta presentata ai sensi del dello stesso Regolamento.

Infatti, il 2 luglio 2004 l'EFSA ha ricevuto dall'Autorità Competente tedesca una richiesta di applicazione presentata dalla Monsanto ai sensi del Regolamento (CE) 1829/2003 relativa all'uso del mais GM MON863 x MON810 per l'alimentazione umana ed animale. La nuova richiesta, rinominata EFSA-GMO-DE-2004-03, sostituisce la notifica presentata ai sensi del Regolamento (CE) 258/97, e solo in parte quella presentata ai sensi della Direttiva 2001/18/CE. Infatti, la richiesta per l'importazione e la trasformazione, delle suddette varietà di mais GM, resta sotto la detta direttiva.

L'EFSA ha informato gli stati membri e la Commissione, ed ha pubblicato sul suo sito Web¹⁰ il riassunto del dossier.

Appena entrata in possesso di tutte le informazioni necessarie per poter svolgere un'analisi appropriata, l'EFSA ha considerato l'applicazione valida (26 novembre 2004) e ha reso disponibile agli Stati Membri ed alla Commissione Europea l'intera documentazione così come al cittadino che ne faccia richiesta. Sono state inoltre consultate le Autorità Competenti degli Stati Membri, come previsto dalla Direttiva 2001/18/CE e dall'Articolo 6(4) del Regolamento (CE) 1829/2003, che hanno avuto 3 mesi (fino al 26 febbraio 2005) per esprimere una valutazione sulla sicurezza dell'alimento GM.

L'EFSA ha quindi pubblicato l'*opinion* relativa all'applicazione EFSA-GMO-DE-2004-03 il 14 luglio 2005.

Il 3 aprile l'EFSA ha pubblicato la *overall opinion* e si è ufficialmente aperta la consultazione pubblica.

Si è quindi aperta la possibilità per il pubblico di inviare – **entro 30 giorni dalla data di pubblicazione dell'*opinion*** - i propri commenti, come previsto dall'Articolo 6 comma 7 del Regolamento (CE) 1829/2003.

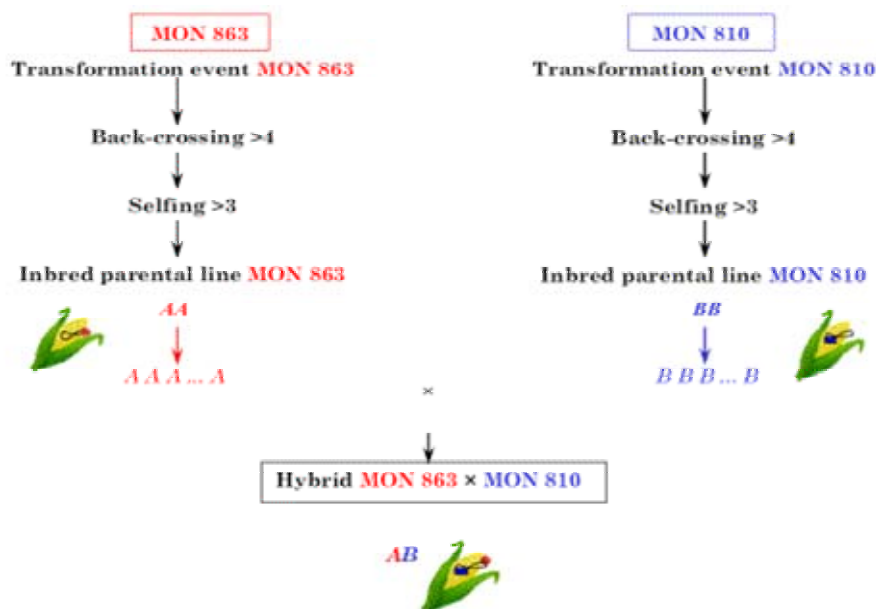
Le eventuali osservazioni potranno essere inviate alla Commissione Europea, entro il 2 maggio 2006, compilando il format predisposto dalla Commissione Europea all'indirizzo http://europa.eu.int/comm/food/food/biotechnology/authorisation/public_comments_en.htm.

¹⁰ http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gm_ff_applications/catindex_en.html

2. Caratterizzazione molecolare

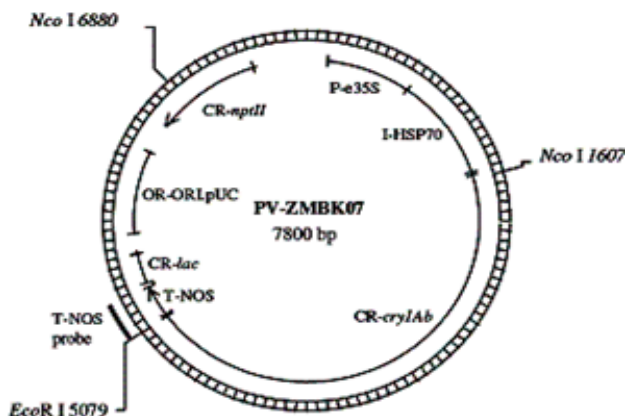
Parere EFSA

La richiesta di commercializzazione riguarda ibridi di mais MON 810 x MON 863, ottenuti tramite incrocio classico, utilizzando linee inbred sviluppate a partire dalle linee GM MON 810 e MON 863, secondo lo schema di incrocio mostrato sotto¹¹.



MON 810

La linea di mais evento MON 810 è stata ottenuta tramite trasformazione con metodo biolistico utilizzando il plasmide PV-ZMBK07, il cui schema è riportato di seguito¹².



11 Application for authorization of MON 863 x MON 810 maize in the European Union, according to Regulation (EC) No 1829/2003 on genetically modified food and feed. Part I Technical Dossier by Monsanto Company. Documentazione fornita dall'EFSA dopo richiesta di accesso ai sensi del regolamento (CE) n. 1049/2001 del 30 maggio 2001.

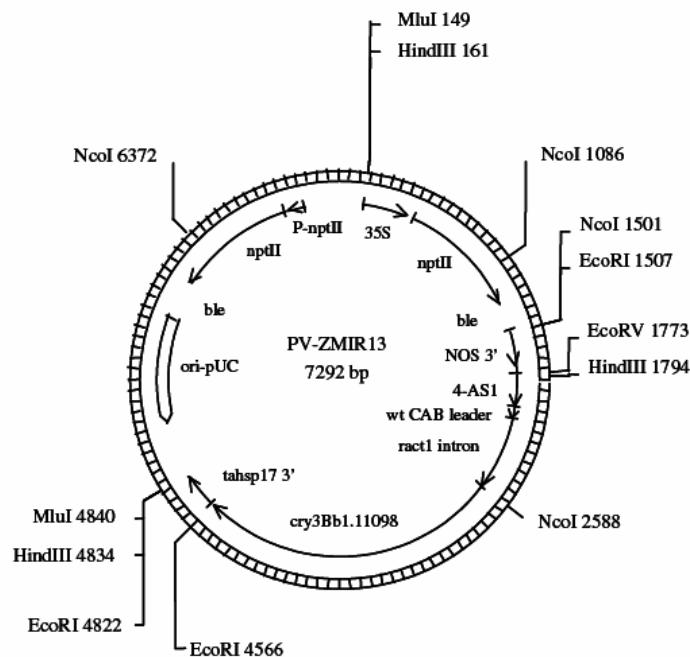
12 Confirmation of the Absence of T-NOS in MON 810 by Southern Blot Analysis MSL#: 19224 Monsanto Company. Documentazione fornita dall'EFSA dopo richiesta di accesso ai sensi del regolamento (CE) n. 1049/2001 del 30 maggio 2001.

Il plasmide, oltre alle sequenze dell'origine di replicazione ori-pUC e il gene nptII che conferisce resistenza agli antibiotici (kanamicina), ma non esprimibili nella pianta contiene:

- la cassetta di espressione per la sequenza codificante (ORF Open Reading Frame), ottimizzata per l'espressione nelle piante, l'endotossina CRY1Ab di *Bacillus thuringiensis*, sotto il promotore costitutivo P-e35S del gene 35S di CaMV (virus a mosaico del cavolfiore).

MON 863

La linea di mais evento MON 863 è stata ottenuta tramite trasformazione con metodo biolistico utilizzando un frammento di restrizione dopo digestione, con l'enzima MluI, di ca. 5000 bp del plasmide PV-ZMIR13, il cui schema è riportato di seguito¹³.



Il frammento MluI del plasmide contiene due cassette di espressione:

- la prima contenete la sequenza codificante (ORF Open Reading Frame), l'endotossina CRY3Bb1 di *Bacillus thuringiensis*, tossica per alcuni coleotteri e ottimizzata per l'espressione nelle piante e con alcune modificazioni nella sequenza aminoacidica che ne aumentano la tossicità verso gli insetti target, sotto il promotore costitutivo derivato dal P-e35S del gene 35S di CaMV (virus a mosaico del cavolfiore)
- la seconda contenente la sequenza codificante (ORF Open Reading Frame) del gene nptII che conferisce resistenza agli antibiotici aminoglicosidici (kanamicina, neomicina, paromomicina, ribostamicina, butirosina e gentamicina) di *Streptomyces hygroscopicus*, sotto il promotore costitutivo P-e35S del gene 35S di CaMV (virus a mosaico del cavolfiore).

Osservazioni | La documentazione fornitaci, dopo richiesta di accesso all'EFSA, risulta completa

¹³ Confirmation of the Absence of T-NOS in MON 810 by Southern Blot Analysis. Monsanto Company. MSL#: 19224 Documentazione fornita dall'EFSA dopo richiesta di accesso ai sensi del regolamento (CE) n. 1049/2001 del 30 maggio 2001.

e dettagliata, sebbene di non facile consultazione, infatti la documentazione è stata integrata nel tempo a seguito delle richieste effettuate dagli Stati Membri e dal GMO Panel, il dossier tecnico completo tuttavia riporta tutti i dati principali. A nostro avviso, almeno la mappa del plasmide così come la tabella che descrive le dimensioni e le funzioni dei frammenti di DNA presenti nel plasmide ed effettivamente integrati nel genoma delle piante trasformate, potrebbero essere inserite nello SNIF o nell'*opinion* del GMO Panel, in modo da facilitare la comprensione del testo da parte del pubblico.

Infine, il GMO Panel¹⁴ riporta che per la trasformazione dell'evento MON 810, sia stato impiegato il solo vettore PV-ZMBK07, mentre nella documentazione da loro stessi citata¹⁵ risulta che sia stato impiegato anche il vettore PV-ZMGT10, contenente le regioni codificanti per i geni CP4 EPSPS e *gox* che conferiscono tolleranza agli erbicidi a base di glifosato.

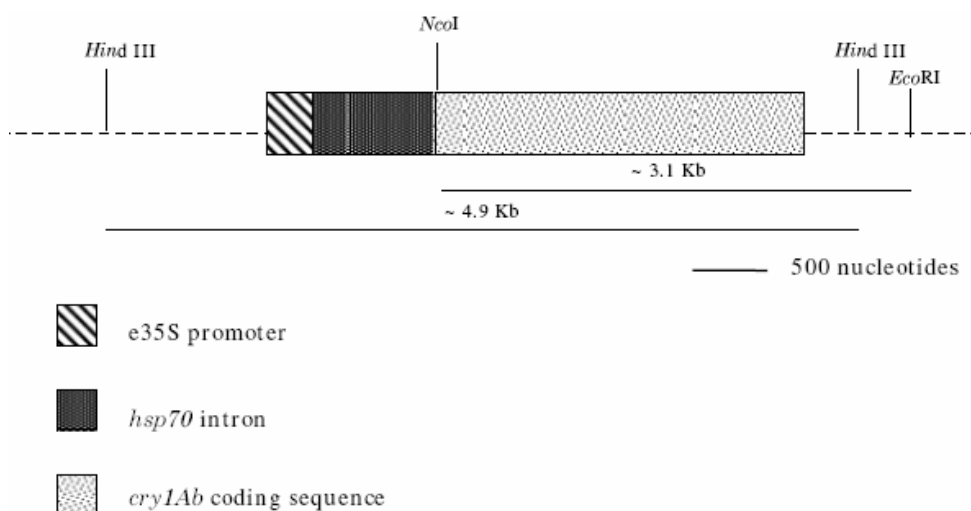
Parere EFSA

L'analisi Southern blot (SB) del DNA genomico degli ibridi di mais MON 810 x MON 863 hanno confermato la presenza degli stessi inserti presenti nei singoli eventi GM.

Mentre, le analisi SB del DNA genomico dei singoli eventi GM hanno evidenziato per entrambi gli eventi la presenza di un'unica copia dell'inserto ed escluso l'inserzione di altri frammenti dei plasmidi nel genoma.

MON 810

*Il frammento di DNA inserito è stato sequenziato, così come le regioni fiancheggianti il sito di inserzione. Dall'analisi di tali sequenze risulta inserito solo una parte del plasmide PV- ZMBK07 corrispondente al promotore P-35S e parte della ORF della Cry1Ab, che risulta deleta nella regione al 3' così come risulta non presente la sequenza del terminatore 3' nos. La sequenza fiancheggiante l'estremità 5' dell'inserto risulta omologa ad una porzione del gene della zeina di *Zea mays*, mentre la regione fiancheggiante l'estremità 3' mostra forte omologia con frammenti genici di origine mitocondriale. Una rappresentazione schematica dell'inserto è riportata nella figura seguente¹⁶.*



¹⁴ Parere EFSA: punto 2.2.2

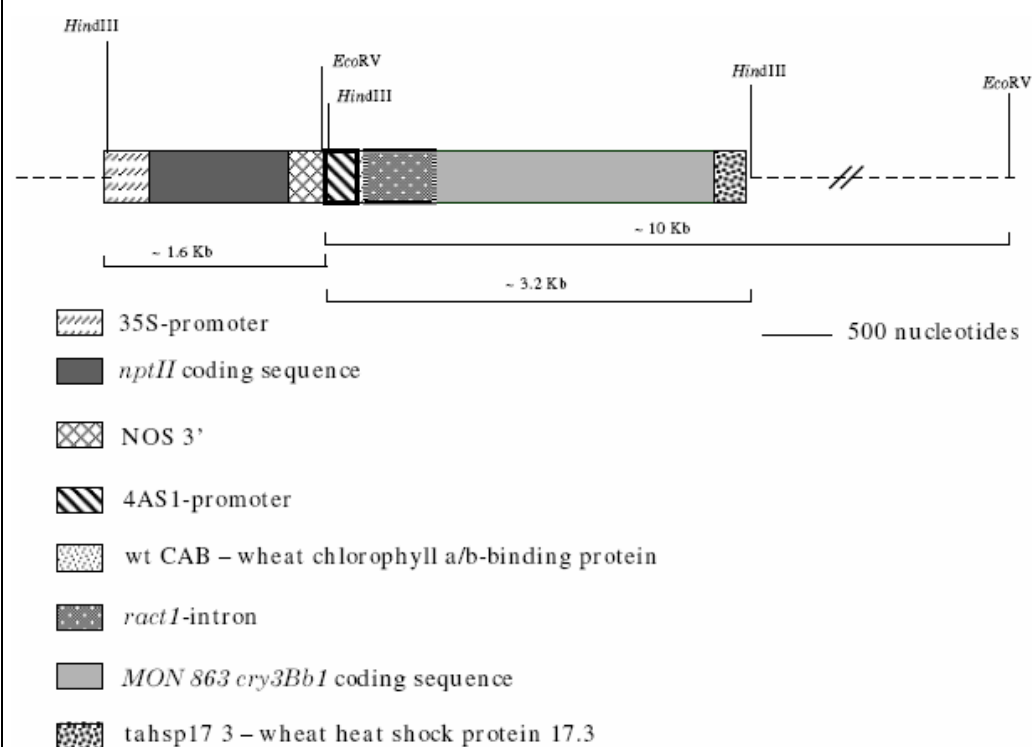
¹⁵ Opinion of the Scientific Committee on Plants Regarding the Genetically Modified, Insect Resistant Maize Lines Notified by the Monsanto Company (NOTIFICATION C/F/95/12/02)

¹⁶ Application for authorization of MON 863 x MON 810 maize in the European Union, according to Regulation (EC) No 1829/2003 on genetically modified food and feed. Part I Technical Dossier by Monsanto Company. Documentazione fornita dall'EFSA dopo richiesta di accesso ai sensi del regolamento (CE) n. 1049/2001 del 30 maggio 2001

L'EFSA fa notare che diverse questioni sollevate nel corso della valutazione del dossier anche da parte degli Stati Membri relative alla caratterizzazione molecolare dell'evento MON 810 e dell'ibrido oggetto della richiesta sono state risolte.

MON 863

Il frammento di DNA inserito è stato sequenziato, così come le regioni fiancheggianti il sito di inserzione. Il frammento *MluI* utilizzato per la trasformazione risulta correttamente integrato, mentre le sequenze fiancheggianti le estremità dell'inserto risultano omologhe a frammenti genici di origine mitocondriale. Una rappresentazione schematica dell'inserto è riportata nella figura seguente¹⁷.



Osservazioni

Dalla caratterizzazione molecolare dell'evento MON 810, risulta evidente che il materiale effettivamente inserito, non si limita ai geni di interesse, ma al contrario, si sono cointegrati frammenti di DNA di diversa origine mitocondriale¹⁸. Inoltre, non è possibile escludere che a livello del genoma della pianta ospite non si siano verificate delezioni e/o riarrangiamenti, come conclude il lavoro di Hernandez¹⁹, dove si dimostra che i *primers* selezionati in base alle sequenze delle regioni adiacenti al sito di inserzione di MON810 non sono in grado di amplificare il DNA genomico del mais isogenico.

Dalla documentazione fornitaci non risulta che si sia approfondita la ricerca di

¹⁷ Application for authorization of MON 863 x MON 810 maize in the European Union, according to Regulation (EC) No 1829/2003 on genetically modified food and feed. Part I Technical Dossier by Monsanto Company. Documentazione fornita dall'EFSA dopo richiesta di accesso ai sensi del regolamento (CE) n. 1049/2001 del 30 maggio 2001

¹⁸ Assessment Report of the Robert Koch Institut in accordance with Directive 2001/18/EC: punto 3.2.2

¹⁹ Hernandez M, Pla M, Esteve T, Prat S, Puigdomenech P and Ferrando A. A specific real-time quantitative PCR detection system for event MON810 in maize YieldGard based on the 3'-transgene integration sequence. Transgenic Research 2003, 12, 179-89.

eventuali integrazioni di frammenti derivanti dal plasmide PV-ZMGT10, utilizzato nella trasformazione del MON 810, come invece il Comitato Scientifico delle Piante raccomandava nella sua valutazione²⁰.

Nel caso del mais MON 863, come l'EFSA stessa sostiene²¹, la caratterizzazione molecolare del DNA effettivamente integrato nel genoma non è stata completata. In effetti, il notificante, a causa di difficoltà tecniche dovute alla copurificazione di DNA mitocondriale e DNA genomico, non è stato in grado di stabilire l'esatto punto di inserzione nel DNA genomico della pianta e non può escludere se le sequenze omologhe al DNA mitocondriale erano già presenti nel sito di inserzione nel DNA genomico della pianta oppure se si siano cointegrate successivamente. A nostro avviso tali difficoltà tecniche sono facilmente superabili, attraverso opportuni sub-clonaggi del DNA genomico del mais evento MON 863. Senza le informazioni sulla reale dimensione e natura delle sequenze mitocondriali cointegrate non è possibile verificare la presenza di eventuali nuove ORF effettivamente integrate.

Dall'analisi della documentazione fornitaci dall'EFSA ed in particolare dei documenti relativi alle risposte fornite dal notificante alle richieste di integrazione sia degli Stati Membri che dell'EFSA, si ha l'impressione che il notificante limiti le proprie risposte al minimo. Per esempio, i SB presentati nei nuovi documenti relativi al MON 810²² e all'ibrido MON 810 x MON 863²³, sono stati effettuati digerendo il DNA genomico con un unico enzima di restrizione (HindIII), che generalmente non può essere ritenuto sufficiente in quanto eventuali frammenti di DNA troppo piccoli o troppo grandi potrebbero non essere evidenziabili.

I dati molecolari pur incompleti suggeriscono comunque la possibilità che si siano verificati delezioni e/o riarrangiamenti del DNA genomico della pianta nella regione adiacente al sito di inserzione. In conclusione i dati forniti a riguardo della caratterizzazione molecolare non consentono di escludere possibili effetti secondari non prevedibili, determinati da interazioni tra nuovi elementi genici introdotti o modificati. Riteniamo pertanto necessarie l'uso di tecnologie ad ampio spettro per disegnare il profilo di espressione (trascrittomica, proteomica, metabolomica). In assenza di tali analisi, le ulteriori valutazioni condotte sul prodotto finale (composizionali, di allergicità e tossicità, delle performance agronomiche..) sono essenziali per escludere effetti non previsti. A nostro avviso, per ridurre i potenziali rischi derivanti dall'inserzione di DNA di funzione non nota, sarebbe opportuno migliorare la selezione delle piante trasformate, selezionando quelle con il minor numero di elementi di DNA non necessari, prima di arrivare alla fase di commercializzazione del prodotto. Quest'ultima è una raccomandazione di carattere generale, dato che in quasi tutti gli eventi di mais GM, destinati alla commercializzazione e ottenuti tramite la tecnica biolistica, risultano cointegrati frammenti di DNA di diversa origine e dimensione.

Parere EFSA

I livelli di espressione delle proteine CRY1Ab, CRY3Bb e NPTII, sono stati saggiati in diversi tessuti delle piante, tramite ELISA confrontando i livelli di espressione tra l'ibrido MON 810 x MON 863 e i singoli eventi MON 810 e MON 863. Le proteine CRY risultano in media espresse maggiormente nell'ibrido, e nei tessuti verdi o giovani della pianta. L'EFSA conclude che le differenze riportate tra ibrido e linee singole non sono quantitativamente importanti (vi era una

²⁰ Opinion of the Scientific Committee on Plants Regarding the Genetically Modified, Insect Resistant Maize Lines Notified by the Monsanto Company (NOTIFICATION C/F/95/12/02): punto 6.1.3

²¹ Responses to EFSA Questions of February 13, 2004 (Ref. SR/sp D(2004)0155): pag. 3

²² Confirmation of the Absence of T-NOS in MON 810 by Southern Blot Analysis. Monsanto Company. MSL#: 19224

²³ Additional Confirmation of the Molecular Identity of Corn Hybrid MON 810 x MON 863 by Southern Blot Analysis. Monsanto Company. MSL#: 19226

	<i>differenza nei dati medi ma i valori singoli erano sovrapponibili) e possano essere attribuite a fattori ambientali e/o all'eterosi dell'ibrido.</i>
Osservazioni	A nostro avviso, le variazioni nel contenuto delle proteine CRY tra ibrido e parentali, non suscitano preoccupazioni di per sé sulle potenziali conseguenze sulla salute, ma piuttosto sulla qualità e affidabilità dei dati riportati. Si evidenziano in effetti grosse differenze tra siti sperimentali diversi e anni diversi e, non si riesce a comprendere se l'ibrido MON 810 x MON 863 sia paragonato alle linee ibride equivalenti contenenti i singoli eventi GM oppure alle linee inbred contenenti i singoli eventi utilizzate per generare l'ibrido.
Parere EFSA	<i>La stabilità del materiale inserito è stata analizzata sia a livello fenotipico che genetico per almeno sei generazioni, senza evidenziare alcuna instabilità.</i>
Osservazioni	Le analisi relative all'aspetto della stabilità risultano condotte accuratamente.

3. Analisi Comparativa

3.2.1 valutazione dei singoli eventi

Parere EFSA	<i>Nell'analisi composizionale sono emerse differenze, piccole ma statisticamente significative, del contenuto di acido palmitico nel mais MON863 rispetto al controllo non GM. Comunque il Panel conclude che tali differenze non hanno nessun significato biologico poiché ricadono nel più ampio intervallo di variazione relativo alla specie.</i>
Osservazioni	La variazione statisticamente significativa della concentrazione di acido palmitico può essere un indizio che qualcosa di importante possa essersi modificato nel metabolismo della pianta GM. Le conclusioni del Panel non sono adeguatamente supportate da sufficienti evidenze scientifiche, per cui sarebbero opportuni ulteriori studi di approfondimento.

3.2.2 Scelta del controllo e produzione del materiale per l'analisi composizionale

Parere EFSA	<i>Le analisi composizionali sono state fatte su foraggio e granella ottenute in campi di prova realizzati in 4 località argentine durante la stagione di crescita 1999-2000. Il Panel considera che tali siti siano rappresentativi della maggior parte delle aree di produzione che esportano mais in Europa.</i>
Osservazioni	Si fa notare che sulla base di quanto riportato dalla Monsanto nel dossier tecnico allegato alla notifica, il materiale per l'analisi composizionale è stato prodotto in 4 piccolissimi campi sperimentali, costituiti da poche file di mais, in tre località dell'Argentina definite rappresentative solo delle regioni argentine in cui il mais è coltivato per scopi commerciali. Non si capisce sulla base di quali evidenze scientifiche il Panel considera che "tali siti siano rappresentativi della maggior parte delle aree di produzione che esportano mais in Europa", e non solo argentine.

3.2.3 Analisi Composizionale

Parere EFSA	<i>Nel confronto dei dati, sono state osservate un certo numero di differenze statisticamente significative. Il livello medio dell'acido linolenico nella granella del mais MON863 x MON810 era diminuito significativamente rispetto a tutti i mais di confronto e in tutti i siti esaminati. Considerato che tale differenza ricade nel range riportato in letteratura, il Panel conclude che la differenza nella concentrazione dell'acido linolenico non è importante dal punto di vista biologico. Inoltre, il Panel considera che tale differenza non comporterà effetti negativi sulla salute.</i>
Osservazioni	<p>Dall'esame del dossier tecnico allegato alla notifica risulta che sulla granella del mais MON863 x MON810 e di quella degli ibridi di controllo (le linee parentali GM, una varietà non GM con background genetico simile e altri 4 ibridi commerciali non GM) coltivati in 4 campi sperimentali in Argentina durante la stagione 1999-2000, sono stati valutati 58 parametri chimici e nel 21% dei casi sono state riscontrate differenze statisticamente significative. Infatti, su 8 acidi grassi valutati, 4 mostravano differenze significative e tra questi oltre all'acido linolenico sono presenti: ac.linoleico, ac. Stearico e ac. Palmitico. Altri parametri con differenze statisticamente significative sono i seguenti:</p> <ul style="list-style-type: none"> • una vitamina (vitamina E) • quattro minerali (zinco, potassio, ferro e rame) su otto esaminati • il contenuto di proteine totali • il contenuto di alcune fibre (NDF) • Un metabolita secondario

3.2.4 Trattamenti Agronomici e fenotipo GM

Parere EFSA	<i>IL Panel non prevede interazioni (sinergiche o antagoniste) risultanti dalla modificazione genetica che potrebbero alterare le caratteristiche agronomiche del mais MON863 x MON810 . Inoltre, le prove di campo realizzate con lo stesso mais GM non hanno mostrato nessuna differenza agronomica. Il Panel accetta l'assenza di ulteriori dati agronomici.</i>
Osservazioni	<p>Il Panel sottovaluta la questione posta dagli stati membri²⁴, circa la possibilità di potenziali effetti sinergici o indesiderati derivanti dalla ibridazione, e accetta dati prodotti dal notificante e provenienti da campi sperimentali che, per quanto ci è dato sapere dal dossier tecnico, sono in numero e dimensioni molto limitati, nonché realizzati per una sola stagione.</p> <p>Nel dossier tecnico presentato dalla Monsanto, vengono riportati i risultati inerenti le prove condotte per testare solo gli ibridi trasformati con i singoli eventi, ovvero i mais MON 863 e MON 810. Il notificante, facendo riferimento ai singoli eventi e, affermando che non sono presenti differenze significative nelle caratteristiche agronomiche tra i mais transgenici MON 863, MON 810 e i corrispettivi isogenici, presume che anche per l'ibrido di mais MON 863 x MON 810 non siano prevedibili cambiamenti di comportamento rispetto alle piante isogeniche. Sebbene il mais MON 863 x MON 810 sia stato testato sperimentato in Argentina nel 1999 e in USA nel 2000 non è ben chiaro se, in tali anni di prove, sia stata valutata solo l'analisi composizionale dei macro e micro nutrienti o siano state testate anche le caratteristiche agronomiche del mais GM. I risultati di tali anni di</p>

²⁴ Parere EFSA: 3.1 p 9

prove, riportati in George 2003²⁵ sono infatti stati inseriti nella parte del dossier considerata confidenziale. Non risulta quindi chiaro perché, mentre per il mais MON 863 e MON 810, siano stati pubblicati gli studi riguardanti le caratteristiche agronomiche, si sia deciso invece di rendere confidenziali quelli riguardanti il mais MON 863 x MON 810. La possibilità del notificante di rendere o meno confidenziali le informazioni che potrebbe essere utili per un'analisi indipendente delle notifiche, è un aspetto che dovrebbe essere trattato in modo più attento dall'autorità competente. L'osservatorio reputa che le informazioni riguardanti le performance agronomiche non debbano rientrare nella parte del dossier considerata confidenziale, visto che la loro pubblicazione non dovrebbe essere tale da poter nuocere all'azienda notificante. Inoltre, sebbene lo scopo della notifica non includa la coltivazione, tali ibridi di mais GM non sono mai stati testati nelle condizioni climatiche europee.

Visto lo scopo della notifica, comunque, non sono ipotizzabili possibili effetti negativi che potrebbero derivare in seguito ad un cambiamento delle performance agronomiche degli ibridi transgenici.

3.3 Conclusione

Parere EFSA	<i>Il confronto del mais MON863 x MON810 con i controlli, sia le linee parentali GM a singolo tratto che i vari ibridi commerciali utilizzati, ha mostrato differenze statisticamente significative per diversi composti analizzati. Il Panel considera che i livelli di tali composti rientrano nei normali intervalli di variazione e non c'è bisogno di valutazioni ulteriori.</i>
Osservazioni	Le conclusioni dell'EFSA ci sembrano poco chiare, quasi una contraddizione in termini.

4. Valutazione della sicurezza per l'uso alimentare umano ed animale

4.2.1 Valutazione dei singoli eventi

Parere EFSA	<i>I risultati di studi condotti su roditori alimentati, per 90 giorni, con mangime a base di mais MON863 non indicano effetti negativi sulla salute, di conseguenza il Panel conclude che non ci sono preoccupazioni sulla sua sicurezza.</i>
Osservazioni	In aprile 2004, l'EFSA rilasciò la sua opinione ²⁶ favorevole, relativa alla notifica C/DE/02/9, presentata ai sensi della direttiva 2001/18/CE, per l'uso del mais GM MON863 nell'alimentazione umana. Invece, le Autorità nazionali di alcuni stati membri, in particolare della Francia, espressero una opinione contraria evidenziando, nelle osservazioni inviate alla Commissione, che gli studi tossicologici riportavano diverse e preoccupanti patologie nei ratti alimentati con mangime contenente il mais MON863. In effetti, come denunciato pubblicamente dal quotidiano inglese "The Independent", i risultati degli studi tossicologici, allegati al dossier tecnico come

25 George, C. ; Ridley, W.P. ; Nemeth, M.A. ; Astwood, J.D. ; Obert, J.C. ; Breeze, M.L. ; Sorbet, R. 2003. Amended report for MSL-17242 : compositional analysis of forage and grain collected from insect protected maize hybrid MON 863 x MON 810, containing events MON 863 and MON 810, grown in 1999 Argentina field trials . Monsanto Technical Report. MSL 18680.

26 The EFSA Journal (2004) 49, 1-25

“documenti confidenziali”, mostravano una serie di effetti negativi sui ratti alimentati con mais MON863 . Ad esempio: il numero dei globuli bianchi dei ratti test era statisticamente differente da quello dei ratti nutriti con mais tradizionale di controllo. Risultarono fuori norma anche altri parametri ematici (glicemia, numero di granulociti, ecc...) e delle urine. Anomalo risultò anche il peso e la struttura dei reni, mentre fegato stomaco e retto mostravano evidenti lesioni.

4.2.4 Analisi Tossicologica

4.2.4.3 Valutazione tossicologica dell'intero alimento

Parere EFSA	<p><i>La sicurezza del prodotto intero derivato da granella di mais MON863 x MON810 è stata valutata con studi tossicità orale condotti con ratti.</i></p> <p><i>Tre gruppi di ratti (20 animali/sexo/gruppo) sono stati nutriti, ad libitum per 90 giorni, con una dieta contenente mais. Un gruppo ha ricevuto una dieta contenente il 33% di mais MON863 x MON 810. Un altro gruppo ha ricevuto una dieta contenente il 11% di mais MON863 x MON 810, integrata con il 22% di mais di controllo. Infine, al gruppo di controllo è stata somministrata una dieta contenente il 33% del mais di controllo.</i></p> <p><i>E' stato osservato un decremento statisticamente significativo nella concentrazione di emoglobina nei maschi di ambedue i gruppi test, alimentati con dieta pari a 11% e 33% di mais MON863 x MON810, ma non nei maschi del gruppo di controllo, alimentati con mais non GM. Nei maschi del gruppo test con dieta contenente mais GM all'11% è stata registrata una variazione statisticamente significativa nel numero dei granulociti basofili per unità di volume.</i></p> <p><i>Alcune differenze significative sono state osservate per il peso di alcuni organi. Ad esempio un più basso peso medio, assoluto e relativo (tiroide/paratiroide), della tiroide è stato osservato nelle femmine di ambedue i gruppi test (11% e 33%) rispetto al controllo. Inoltre, il peso medio dei reni, riferito al peso corporeo, nelle femmine del gruppo test con dieta al 33% di mais GM, era significativamente più basso rispetto al controllo.</i></p> <p><i>In sintesi, il Panel considera le sopraccitate differenze irrilevanti e giudica sicuro l'uso del mais MON863 x MON810 nell'alimentazione umana e animale.</i></p>
Osservazioni	<p>La tiroide è la ghiandola produttrice di alcuni ormoni (tiroxina, triiodotirosina) con funzioni fondamentali nell'accrescimento e nello sviluppo animale così come i reni che, con il loro continuo lavoro di filtraggio e riassorbimento dei minerali, permettono la indispensabile depurazione del sangue. Considerando quanto appena detto, i risultati esposti nel punto precedente dovrebbero far sorgere qualche preoccupazione (“scientificamente legittima”) circa i potenziali rischi sanitari legati al consumo di mais MON863 x MON810, soprattutto nel lungo periodo.</p> <p>Infine, si fa presente che studi tossicologici su effetti sub-letali andrebbero effettuati anche su animali, come i polli, i suini ed i bovini nella cui dieta entra massicciamente il mais e che presentano sistemi digerenti fisiologicamente molto diversificati tra di loro e rispetto ai ratti, appartenendo a gruppi o classi differenti.</p>

4.2.5 Allergenicità

4.2.5.2 Valutazione dell'allergenicità delle nuove proteine espresse

Parere EFSA	<i>La valutazione del rischio riferito alla pianta intera deve considerare se le caratteristiche allergeniche dell'intera coltura possono essere incrementate come effetto indesiderato dell'inserzione casuale del transgene nel genoma della pianta ospite, per esempio attraverso la modificazione qualitativa e quantitativa dei modelli di espressione delle proteine endogene. Tali effetti indesiderati possono verificarsi per ogni modificazione genetica (ad esempio durante la modificazione genetica del MON863 e del MON810) ma anche nella pianta con i due tratti transgenici derivante dall'incrocio tra MON863 e MON810. Quest'ultima eventualità al Panel appare non rilevante poiché il mais non è considerato comunemente un alimento allergenico.</i>
Osservazioni	Se per "modificazione qualitativa del modello di espressione proteica" s'intende la possibile presenza di proteine nuove (diverse da quelle espresse dai transgeni) o comunque mutate rispetto al quadro proteico del mais convenzionale, non si capisce come si possa escludere l'allergenicità potenziale del mais GM MON863 x MON810 solo sulla base del fatto che il mais convenzionale non sia comunemente considerato un alimento allergenico. Come suggerito anche dagli stati membri ²⁷ , prove allergiche più estese sarebbero necessarie per valutare eventuali variazioni dell'allergenicità intrinseca del mais GM intervenute involontariamente per effetto dei processi di ibridazione.

4.2.6 Valutazione nutrizionale di food/feed GM

Parere EFSA	<i>Il valore nutrizionale del MON863 x MON810 è stato valutato attraverso studi di alimentazione, della durata di 42 giorni, condotti con polli per la produzione di carne. I gruppi test sono stati alimentati con diete contenenti il mais GM suddetto mentre al gruppo di controllo è stata somministrata una dieta a base di mais non GM di controllo. Nessuno di questi studi mostra effetti negativi sugli animali alimentati con la dieta contenente il mais MON863 x MON810. Il Panel considera questi dati sufficienti per concludere che non ci sono ragioni per ritenere le proprietà nutrizionali del mais MON863 x MON810 differenti dal mais tradizionale.</i>
Osservazioni	Gli studi di alimentazione sugli animali devono avere una durata che copra un intervallo maggiore del ciclo di vita dell'animale. Inoltre, per una più corretta valutazione nutrizionale, gli studi andrebbero condotti anche con alcuni animali come ad esempio i ruminanti (mucche da latte e vitelli da carne) e suini poiché sono i principali destinatari di mangimi a base di granella o insilati di mais ed hanno sistemi digerenti molto diversi tra di loro e rispetto ai polli. Per quanto detto, riteniamo gli studi sui polli riportati dal notificante non sufficienti per poter trarre conclusioni attendibili sull'equivalenza nutrizionale del prodotto.

4.2.7 Post market monitoring di food/feed GM

²⁷ Parere EFSA: 4. 1 p 10

Parere EFSA	<i>Il mais MON863 x MON810 è, dal punto di vista nutrizionale, equivalente al mais convenzionale e sarà usato come ogni altro mais. Il Panel è dell'opinione che il monitoraggio post market non sia necessario.</i>
Osservazioni	Come sottolineato in precedenza, il mais MON863 x MON810 mostra diverse differenze statisticamente significative nell'analisi composizionale, alcuni effetti tossicologici sub-letali, la valutazione della potenziale allergenicità e la valutazione nutrizionale è inadeguata. Per tutti questi motivi riteniamo che il monitoraggio post market sarebbe necessario al fine di individuare precocemente l'insorgenza di eventuali effetti negativi sulla salute dei consumatori di prodotti contenenti il mais GM suddetto.

5. Valutazione dei rischi ambientali e piani di monitoraggio²⁸

5.1. Questioni sollevate dagli stati membri (ST)²⁹

ST	<i>Gli stati membri hanno sollevato questioni relative: - agli impatti derivanti dal rilascio accidentale e agli effetti delle proteine CRY sulle specie non target; - sulla necessità di ulteriori informazioni riguardanti le conseguenze che le tossine presenti nel mais MON 863 x MON 810 e derivanti dai prodotti di scarto della lavorazione potrebbero avere sul suolo e sulle acque; - sulla necessità di piani di monitoraggio e sorveglianza più dettagliati.</i>
-----------	--

5.2 Valutazione dei principali dati scientifici³⁰

5.2.1. Valutazione dei singoli eventi MON 863 e MON 810³¹

Parere EFSA	<i>Il mais MON 863 è stato valutato in base alla sola importazione, per cui non sono necessarie informazioni aggiuntive riguardanti i possibili rischi ambientali derivanti dalla sua coltivazione. Mentre, il mais MON 810 aveva già precedentemente ricevuto una valutazione in base sia alla richiesta di importazione che di coltivazione.</i> <i>Il gruppo di esperti dell'EFSA ha considerato la possibilità che i prodotti genici, in particolare le proteine CRY, possano entrare nell'ambiente del tratto gastrointestinale degli animali e la possibilità del trasferimento genetico orizzontale (TGO). I dati forniti dal notificante e quelli presenti in letteratura, suggeriscono che la maggior parte delle proteine vengono degradate dall'attività enzimatica presente nel tratto intestinale. La parte residuale, presente nelle feci, viene invece degradata dai microrganismi del suolo. L'esposizione degli organismi non target alla proteine CRY risulta perciò limitata.</i>
Osservazioni	I principali dati scientifici a cui il gruppo di esperti dell'EFSA dovrebbe fare

²⁸ Parere EFSA: 5. p 15.

²⁹ Parere EFSA: 5.1. p 15.

³⁰ Parere EFSA: 5.2. p 15.

³¹ Parere EFSA: 5.2.1. p 15.

riferimento nel formulare la propria opinione, visto lo scopo della notifica, dovrebbero riguardare il mais ibrido MON 863 x MON 810 e non i dati ottenuti dai singoli ibridi GM. Ad esempio, prendendo in considerazione i dati forniti dal notificante, inerenti il profilo di espressione dei geni cry3Bb1 e cry1Ab, risulta che l'espressione di tali tossine è maggior negli ibridi di mais MON 863 x MON 810 rispetto ai singoli ibridi MON 863 e MON 810. Il tasso di degradazione e di accumulo delle tossine presente negli alimenti e mangimi a base di mais MON 863 x MON 810 potrebbe essere diverso rispetto a quella che si avrebbe in seguito all'ingestione di prodotti derivati dal mais MON 863 e MON 810.

5.2.2. Valutazione del rischio ambientale³²

5.2.2.1. Effetti potenziali della modificazione genetica sulla fitness delle piante GM³³

Parere EFSA *Il mais è una pianta altamente domesticata che generalmente non è in grado di sopravvivere negli ambienti non coltivati. Essa ha perso la capacità di rilasciare i semi ed, inoltre, non sono presenti in Europa piante selvatiche compatibili. Il flusso genetico verticale attraverso il polline è limitato alle colture vicine. Il gruppo di esperti dell'EFSA è quindi dell'opinione che gli effetti ambientali non previsti, derivanti dall'importazione del mais MON 863 x MON 810 non siano diversi da quelli che potrebbero derivare dall'utilizzo degli ibridi MON 863, MON 810 e tradizionali.*

Osservazioni La modificazione genetica apportata alle piante di mais GM, tenuto in conto anche dello scopo della notifica, non dovrebbe essere tale da condurre ad effetti indesiderati derivanti da un aumento di adattabilità ambientale degli ibridi GM. Comunque, l'osservatorio è in disaccordo con le considerazioni attraverso cui il gruppo di esperti dell'EFSA giunge alle proprie conclusioni. Infatti, esistono prove di formazione di ibridi a livello intergenerico tra *Zea mays* e *Triticum aestivum* (Riera-Lizarazu & Mujeeb-Khazi, 1990³⁴; Suenaga & Nakajima, 1993³⁵). Inoltre, diversi studi presenti in bibliografia riportano che il flusso genico verticale attraverso il polline non è limitato solo alle colture vicine ma può estendersi fino a distanze notevoli. In uno studio di Jones e Brooks del 1950³⁶ viene riportato che la percentuale di ibridazione media era ancora l'1,6% a 200 metri di distanza dal campo di mais emittente e si manteneva allo 0,2% a 500 metri di distanza. Inoltre, in particolari condizioni climatiche il polline vitale di mais può essere trasportato, attraverso correnti d'aria di alta quota (800-2000 metri di quota), a considerevoli distanze per cadere al suolo anche a dozzine di Km dalla sorgente (Brunet Y., 2003³⁷). Ad esempio, gli autori di uno studio condotto sulla vitalità del polline e l'efficienza delle distanze di isolamento, hanno stimato in 32 Km la distanza percorribile dal polline vitale di mais nel suo tempo di vita valutato 2 ore,

32 Parere EFSA: 5.2.2. p 16.

33 Parere EFSA: 5.2.2.1. p 16.

34 Riera-Lizarazu O., Mujeeb-Kazi A. (1990) Maize (*Zea mays* L.) mediated wheat (*Triticum aestivum* L.) polyploid production using various crossing methods. *Cereal Res. Commun.*, 18: 339-345.

35 Suenaga K., Nakajima K. (1993) Efficient production of haploid wheat (*Triticum aestivum*) through crosses between Japanese wheat and maize (*Zea mays*). *Plant Cell Reports*, 8: 263-266.

36 Jones, J.M., and J.S. Brooks. 1950. "Effectiveness and distance of border rows in preventing outcrossing in corn", *Oklahoma Agric. Exp. Sta. Tech. Bull. No. T-38*.

37 Y. Brunet, X. Foueillassar, A. Audran, D. Garrigou, S. Dayau & L. Tardieu (2003) "Evidence for long-range transport of viable maize pollen" in Boelt B., *Proceedings: The 1st European Conference on the Co-existence*.

in considerazione della velocità media del vento che realmente si verifica durante la fioritura nell'area di studio, la quale era priva di qualsiasi barriera anche naturale (Luna V. S. et al., 2001³⁸).

5.2.2.2 *Rischi derivati dal trasferimento genetico*³⁹

Parere EFSA

Un prerequisito per il trasferimento genetico è la disponibilità di vie in grado di trasferire il materiale genetico, DNA nel caso di trasferimento genetico orizzontale e polline in caso di trasferimento genetico verticale che può avvenire in seguito ad impollinazione incrociata tra piante sessualmente compatibili.

Nell'ambiente naturale, l'esposizione dei microrganismi al DNA delle piante GM, può avvenire in seguito alla degradazione dei residui colturali lasciati dopo il raccolto.

Il DNA transgenico è una componente degli alimenti derivati dal mais GM, per cui, i microrganismi del tratto digestivo degli uomini e degli animali, possono essere esposti al DNA transgenico.

Il polline transgenico è disperso e distribuito dalle piante GM coltivate o dalle piante risultanti dalla inavvertita presenza di semi di mais GM in partite di mais convenzionale. Un altro mezzo con cui il mais GM potrebbe essere propagato è dovuto alla disseminazione involontaria di semi di mais durante il trasporto.

(a) Trasferimento genetico dalle piante ai batteri⁴⁰

Il trasferimento genetico tra piante e batteri in condizioni naturali, allo stato attuale delle conoscenze, è estremamente improbabile e potrebbe capitare solo attraverso la ricombinazione omologa dei microrganismi.

I geni cry3Bb1, NptII e cry1Ab espressi nel mais MON 863 x MON 810 sono stati posti sotto il controllo di promotori eucariotici che mostrano limitata (nessuna) attività nei procarioti. Inoltre, i geni presenti nel mais MON 863 x MON 810 sono ampiamente presenti in natura. In base a queste considerazioni e alla mancanza di pressione selettiva nel tratto intestinale, la probabilità che il trasferimento genetico orizzontale possa conferire vantaggio selettivo o incrementare la fitness è molto limitata. Per questo, è molto improbabile che il DNA transgenico possa stabilirsi nel genoma dei microrganismi presenti nell'ambiente e nel tratto digerente dell'uomo e degli animali. Nell'improbabile eventualità che il TGO possa avvenire non sono comunque prevedibili effetti avversi sull'ambiente o sulla salute umana ed animale dato che non verrebbero introdotti nuovi geni nelle comunità microbiche specifiche.

(b) Trasferimento genetico da pianta a pianta⁴¹

L'impollinazione incrociata tra colture tradizionali e transgeniche dipende esclusivamente dalla probabilità che avvenga il rilascio accidentale o l'inavvertita presenza di semi transgenici in partite convenzionali.

Come mostrato nelle diverse prove sperimentali, non ci sono indicazioni che facciano dedurre un aumento della capacità competitiva delle piante GM di mais, in comparazione a quelle convenzionali con lo stesso background.

38 S. Luna V., J. Figueroa M., B. Baltazar M., R. Gomez L., R. Townsend and J. B. Schoper "Maize Pollen Longevity and Distance Isolation Requirements for Effective Pollen Control", crop Sci., Sep 2001; 41: 1551 – 1557.

39 Parere EFSA: 5.2.2.2. p 16.

40 Parere EFSA: 5.2.2.2. (a) p 16.

41 Parere EFSA: 5.2.2.2. (b) p 17.

La protezione verso le specie infestanti di Coleotteri e Lepidotteri non fornisce alle piante di mais un vantaggio selettivo, visto che la sopravvivenza di tali piante, è limitata dall'assenza di dormienza dei semi, dalla suscettibilità ai funghi patogeni e dalle basse temperature. Perciò, così come per qualsiasi cultivars di mais, le piante selvatiche di mais che potrebbero originarsi nelle zone europee a clima temperato non sarebbero comunque in grado di originare comunità di piante selvatiche.

Osservazioni

(a) Trasferimento genetico tra piante e batteri

I geni cry presenti negli ibridi di mais GM non possono considerarsi omologhi a quelli naturalmente espressi dai batteri da cui sono stati isolati. Come è infatti mostrato nella documentazione fornita dal notificante, tali geni sono stati modificati in laboratorio per consentire alla pianta di esprimere le proteine CRY in una forma che sia direttamente attiva verso gli organismi bersaglio. Invece, in natura, la proteina CRY è una proteossina che per esplicare la sua funzione necessita di essere attivata dagli enzimi del tratto digerente degli insetti.

Inoltre, i possibili effetti derivanti dal possibile TGO dei geni cry alle comunità microbiche e, la stabilità del transgene, rimangono tuttora oggetto di studio. Comunque, è stato ampiamente dimostrato che la tossina Bt può accumularsi nel suolo mantenendo la sua attività per diversi mesi (Saxena and Stotzky, 2003⁴²; Zwahlen et al, 2003⁴³). Altri studi hanno inoltre riportato la persistenza del DNA nel suolo (Ceccherini et al. 2003⁴⁴; Nielsen et al. 2002⁴⁵), in ambiente acquatico (Paul et al., 1989⁴⁶), nel tratto digerente dei topi (Schubbert et al., 1997⁴⁷) e sebbene in minor proporzione anche in quello dei ruminanti (Duggan et al., 2000⁴⁸; Gay, 2001⁴⁹). Oltre al trasferimento genetico orizzontale che può avvenire tra suolo e piante, studi riportano la possibilità che questo possa avvenire anche tra la microflora batterica che popola l'intestino umano e quello degli animali (Landis et al., 2000⁵⁰; Jarvis et al., 2001⁵¹; Nielsen et al., 2002⁵²).

In base a queste considerazioni, il rischio che il DNA presente negli alimenti o

⁴² Saxena D. and Stotzky G. (2003). Fate and effect in soil of the insecticidal toxin from *Bacillus Thuringiensis* intransgenic plants. In Ministero dell' Ambiente e della Tutela del Territorio (2003): "Collection of biosafety reviews". International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (ICGEB), pag. 7-83.

⁴³ Zwahlen, C., Hilbeck, A. & Nentwig, W (2003) Degradation of Cry1Ab within *Bacillus Thuringiensis* corn tissue in the field. *Molecular Ecology* (2003)12, 765-775.

⁴⁴ Ceccherini M.T., Potè J., Kay E., Van V.T., Maréchal J., Pietramellara G., Nannipieri P., Vogel T.M., and Simonet P. (2003). "Degradation and Transformability of DNA from Transgenic Leaves". *Applied and Environmental Microbiology*, Jan., pp: 673-678.

⁴⁵ Nielsen K.M., Choi M., Pietramellara G., Nannipieri P., Bensasson D. (2002). *Advances in Microbial Ecology* 17.

⁴⁶ Paul, W.J., Jeffrey, W.H., David, A.W., De Flaun, M.F. and Cazares, L.H. (1989). Turnover of extracellular DNA in eutrophic and oligotrophic freshwater environments of Southwest Florida. *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 1823–1828.

⁴⁷ Schubbert, R., Renz, D., Schmitz, B. and Doerfler, W. (1997) Foreign (M13) DNA ingested by mice reaches peripheral leukocytes, spleen, and liver via the intestinal wall mucosa and can be covalently linked to mouse DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94, 961–966.

⁴⁸ Duggan, P.S., Chambers, P.A., Heritage, J. and Forbes, J.M. (2000) Survival of free DNA encoding antibiotic resistance from transgenic maize and the transformation activity of DNA in ovine saliva rumen fluid and silage effluent. *FEMS Microbiol. Lett.* 191, 71–77.

⁴⁹ Gay, P. (2001) The biosafety of antibiotic resistance markers in plant transformation and the dissemination of genes through horizontal gene flow. In *Safety of Genetically Engineered Crops* (Custers, R., ed.). Zwijnaarde, Belgium: Flanders Interuniversity Institute for Biotechnology, pp. 135–159.

⁵⁰ Landis, W.G., Lenart, L.A. and Spromberg, J.A. (2000) Dynamics of horizontal gene transfer and the ecological risk assessment of genetically engineered organisms. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 6, 875–899.

⁵¹ Jarvis G.N., Kurtovic A., Kay A.G. and Russel J.B. (2001). The physiological and genetic diversity of bovine streptococcus bovis strains. *FEMS Microbial Ecology* 35: 49-56.

⁵² Nielsen K.M., Choi M., Pietramellara G., Nannipieri P., Bensasson D. (2002). *Advances in Microbial Ecology* 17

derivante dai residui della lavorazione, possa essere trasferito alle comunità microbiche, sia del suolo che dell'organismo umano ed animale, non è da sottovalutare. Per cui, dovrebbero essere condotti studi più approfonditi, per assicurare che l'utilizzo di questi alimenti non conduca ad effetti indesiderati non previsti nella valutazione del rischio effettuata dal notificante.

Inoltre, la possibile diffusione nelle comunità microbiche del gene nptII presente nel mais MON 863 e nell'ibrido MON 863 x MON 810 in seguito a TGO, potrebbe diminuire l'efficacia dei trattamenti agli antibiotici aminoglicosidici come neomicina e gentamicina che sono ancora utilizzati nel campo veterinario e medico in diversi paesi europei.

(b) Trasferimento genetico verticale da pianta a pianta

Visto che lo scopo della notifica non prevede l'importazione di semi vitali ma la sola autorizzazione di prodotti derivati dal mais MON 863 x MON 810 per l'alimentazione umana e del bestiame, non sono prevedibili rischi conseguenti al trasferimento genetico verticale da pianta a pianta. Non risulta comunque chiaro perché il gruppo di esperti dell'EFSA abbia elaborato la propria opinione considerando il rischio di un possibile avvento di volunteers, quando lo scopo della notifica in oggetto concerne la sola autorizzazione per l'immissione sul mercato di prodotti a base o derivati dal mais MON 863 x MON 810 ma non l'importazione di semi vitali. L'autorizzazione e il processamento per l'importazione dei semi è stata infatti richiesta ai sensi della direttiva 2001/18/CE dove peraltro l'EFSA ha già espresso il proprio parere.

5.2.2.3 Rischi potenziali sugli organismi non target⁵³

Parere EFSA | *I prodotti genici, in particolare le proteine CRY, possono entrare nell'ambiente o nel tratto gastrointestinale degli animali attraverso il trasferimento genetico orizzontale o come parte dei residui della produzione industriale. I dati forniti dal notificante e quelli presenti in letteratura suggeriscono che la maggior parte di queste proteine sono denaturate dagli enzimi del tratto gastrointestinale, per cui, solo piccole quantità possono essere disperse attraverso le feci. La quantità di proteina CRY distribuita nell'ambiente attraverso i soli sottoprodotti della lavorazione industriale è perciò limitata, riducendo così i possibili rischi per gli organismi non target.*

Osservazioni | I meccanismi di trasferimento genetico orizzontale sia verso i microrganismi del suolo che a quelli della microflora intestinale degli animali e, i meccanismi d'azione delle proteine CRY, allo stato attuale delle conoscenze non sono ancora stati del tutto chiariti⁵⁴. Il DNA transgenico, derivato dai sottoprodotti della lavorazione distribuiti nell'ambiente, potrebbe condurre ad effetti sugli organismi non target, in particolare ai microrganismi del suolo, che non sono stati tenuti in debito conto nella valutazione del rischio. Non essendo stato possibile stimare dalla documentazione fornita dal notificante le quantità e la destinazione dei sottoprodotti della lavorazione e considerando lo stato attuale delle conoscenze dei possibili effetti sugli organismi non target non è comunque possibile fare una stima di tale rischio.

⁵³ Parere EFSA: 5.2.2.3. p 17.

⁵⁴ Griffiths J.S., Haslam S.M., Yang T., Garczynski S.F., Mulloy B., Morris H., Cremer P.S., Dell A., Adang M.J., Aroian R.V. (2005) "Glycolipids as receptors for Bacillus thuringiensis crystal toxin", Science, Feb. vol 307 pp. 922-925.

Nella documentazione fornita dal notificante non sono riportati studi specifici sui possibili effetti verso gli organismi non target. Il notificante nel concludere che non vi siano effetti su tali organismi, fa riferimento ai soli patogeni che attaccano il mais, verso i quali le piante GM, da quanto emerso dai dati ottenuti nei campi sperimentali del 1999 in Argentina e in quelli del 2000 in USA, non avrebbero riportato nessuna differenza significativa rispetto alle corrispettive piante isogeniche.

Una corretta valutazione del rischio dovrebbe essere mirata all'individuazione di specie chiave rappresentative delle comunità di appartenenza e degli ambienti in cui l'OGM potrebbe essere rilasciato, in modo da consentire il monitoraggio dei possibili effetti negativi sulle specie non target e quindi sulle catene trofiche. Ad esempio, non è stato condotto nessun tipo di studio sui possibili effetti dell'OGM sull'artropodofauna utile e sui microrganismi del suolo.

L'analisi sui possibili rischi potenziali verso gli organismi non target condotta dal notificante non può perciò essere considerata sufficiente.

5.2.3. Piani di sorveglianza e monitoraggio⁵⁵

Parere EFSA

Gli obiettivi dei piani di monitoraggio sono:

- *verificare se le questioni sollevate nella valutazione di impatto ambientale, riguardanti l'avvento di potenziali effetti avversi derivanti dall'OGM o dal suo utilizzo, siano corrette;*
- *identificare i possibili effetti sulla salute e sull'ambiente che non sono stati anticipati nella valutazione di impatto ambientale.*

Lo scopo dei piani di monitoraggio previsti dal notificante sono in accordo con gli usi che si intendono perseguire nella richiesta di autorizzazione che non include la coltivazione. Dato che il mais MON863 x MON810 sarà destinato principalmente ad uso animale, il notificante ha proposto che i piani di sorveglianza generale debbano concentrarsi sul monitoraggio di tale filiera alimentare. Il gruppo di esperti dell'EFSA è in accordo con questo tipo di approccio.

Osservazioni

L'utilizzo per scopi alimentari dei prodotti derivati dal mais MON863 x MON810, come descritto nei punti precedenti potrebbe rappresentare un rischio sia per la filiera dei prodotti destinati all'alimentazione animale sia per quelli destinati all'alimentazione umana. I piani di sorveglianza generale dovrebbero perciò essere rivolti non solo alla filiera zootecnica, ma ad entrambe le filiere di produzione. Inoltre, non risulta chiaro chi dovrebbero essere i responsabili per fornire agli operatori del settore tutte le informazioni per un corretto utilizzo dei prodotti GM, fondamentale per evitare la commistione e il cattivo uso dei prodotti importati. Inoltre, non viene specificato chi avrà la responsabilità nel caso in cui si verificassero dei possibili effetti indesiderati e quali saranno gli organi predisposti e coinvolti nel piano di sorveglianza generale.

Il piano di sorveglianza generale dovrebbe perciò fornire una descrizione dettagliata:

- delle regole chiare e precise da destinare agli operatori del settore su come evitare la commistione e il cattivo uso dei prodotti GM allo scopo di preservare le filiere convenzionali e biologiche;
- degli organi coinvolti nel piano di sorveglianza e sulle specifiche responsabilità.

Il piano di sorveglianza generale così come riportato nella notifica, non risulta sufficiente per monitorare i possibili effetti indesiderati che non sono stati considerati nella valutazione di impatto fornita dal notificante.

⁵⁵ Parere EFSA: 5.2.3. p 18.

5.3. Conclusioni⁵⁶

<i>Parere EFSA</i>	<i>Il mais MON 863 x MON 810 è stato valutato a riguardo della sola importazione, non sono quindi necessarie ulteriori informazioni sugli effetti ambientali associati alla coltivazione. Il gruppo di esperti dell'EFSA è quindi d'accordo nell'affermare che i possibili effetti ambientali derivanti dall'importazione di prodotti a base di mais MON 863 x MON 810 non siano diversi da quelli del mais tradizionale. I piani di monitoraggio forniti dal notificante risultano in accordo con gli usi previsti dallo scopo della notifica in oggetto.</i>
Osservazioni	<p>La maggior parte delle valutazioni sui possibili effetti derivanti dall'utilizzo per fini alimentari del mais transgenico MON 863 x MON 810 sono state effettuate in base ai risultati ottenuti studiando i singoli eventi di trasformazione (MON 863 e MON 810) e non il mais ibrido oggetto della notifica.</p> <p>La valutazione di impatto ambientale fornita non risulta perciò sufficiente per individuare i possibili effetti indesiderati derivanti dall'utilizzo del mais GM.</p> <p>Dovrebbero essere forniti ulteriori studi sui possibili effetti del mais transgenico sugli organismi non target e sui microrganismi del suolo, con lo scopo di verificare che la trasformazione genetica delle piante non abbia effetti negativi rispettivamente sulle catene trofiche e sui cicli biogeochimici.</p> <p>I piani di sorveglianza e monitoraggio previsti non risultano sufficienti per monitorare i possibili effetti indesiderati che non sono stati considerati nella valutazione di impatto fornita dal notificante, ed inoltre, non risultano idonei per assicurare la separazione tra le filiere di produzione GM, tradizionali e biologiche.</p>

⁵⁶ Parere EFSA: 5.3. p 18.