



Consiglio dei **Diritti Genetici**



Rapporto di valutazione della notifica EFSA-GMO-UK-2004-06



“Richiesta per l'immissione in commercio, per uso alimentare e produzione di mangimi, per l'importazione e la trasformazione di mais GM MON863 x NK603 resistente agli insetti e tollerante l'erbicida glifosato, ai sensi del Regolamento (CE) 1829/2003 ”

Presentata dalla Monsanto Europe S.A.

Rapporto numero: 3-2006

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 è inviata al GMO-Panel dell'EFSA, che, verificatane la conformità, ha 6 mesi di tempo per redigere un parere scientifico sulla base della documentazione presentata, *opinion*, 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'*opinion* 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-UK-2004-06. Tale richiesta, presentata dalla Monsanto, è per ottenere l'autorizzazione ad introdurre nel mercato europeo il mais GM MON863 x NK603, per usi nell'alimentazione umana e animale, per l'importazione e la trasformazione.

Il mais suddetto è stato ottenuto tramite incrocio tradizionale tra le linee di mais GM MON863 e NK603 per combinare il carattere di resistenza ad alcuni coleotteri e principalmente alla Diabrotica (dovuto al gene cry3Bb1 inserito nel genoma del mais MON863) con il carattere di tolleranza agli erbicidi a base di glifosato (dovuto al gene CP4 EPSPS inserito nel genoma del mais NK603).

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 incompleta infatti, sebbene ci sia stato dato il dossier tecnico completo non abbiamo ricevuto la documentazione relativa alle richieste effettuate dagli Stati Membri e dal GMO Panel.
- La richiesta di commercializzazione riguarda ibridi di mais NK603 x MON 863, ottenuti tramite incrocio classico, a partire dagli venti NK603 e MON 863. 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, cloroplasto o mitocondrio):
 - nel caso del mais MON 863, come l'EFSA stessa sostiene^{7,8}, 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.
- 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

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

8 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

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.

- Le quattro località argentine, da cui proviene il materiale usato nelle analisi, non sono rappresentative della maggior parte delle aree di produzione che esportano mais in Europa. Tuttavia, dall'analisi composizionale risulta che su 310 confronti, tra il Mais MON863 x NK603 e gli ibridi di controllo, 42 di essi, ovvero circa il 14% del totale, presentavano differenze significative. In particolare, nove parametri, tra cui 4 amminoacidi, 3 acidi grassi, il ferro e l'acido ferulico, differivano significativamente in tutti i siti esaminati. Conseguentemente, andrebbe meglio indagata l'equivalenza composizionale tra mais MON863 x NK603 e mais tradizionale poiché questi risultati dimostrano che il quadro delle vie metaboliche del mais GM è stato in qualche modo alterato.
- Dall'analisi tossicologica emerge una serie confusa di differenze statisticamente significative che comprendono divergenze del consumo giornaliero di mangime, dei valori di alcuni parametri ematologici (numero di eritrociti, concentrazione di emoglobina, urea, ecc...) ed anomalie di alcuni organi importanti come il cuore. Di conseguenza, i risultati sopra riportati dovrebbero sollevare ragionevoli dubbi circa l'accertata sicurezza dell'uso alimentare del mais MON863 x NK603
- La presunta assenza di allergenicità del mais MON863 x NK603 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 valutazione di impatto ambientale fornita dal notificante è stata condotta considerando solo i possibili effetti derivanti dall'importazione del mais MON863 x NK603. Non sono state considerate le conseguenze che potrebbero derivare dalla disseminazione involontaria, commistione e cattivo uso delle sementi importate. Inoltre, la maggior parte delle valutazioni sui possibili effetti derivanti dall'importazione del mais transgenico MON863 x NK603 sono state effettuate in base ai risultati ottenuti studiando i singoli eventi di trasformazione (MON 863 e NK603) 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'importazione e il processamento dei semi di mais transgenico MON863 x NK603. Dovrebbero essere forniti ulteriori studi riguardanti i possibili effetti del mais GM 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 adeguati per assicurare la separazione tra le filiere di produzione GM, tradizionali e biologiche.

BACKGROUND

Il 10 novembre 2004 l'EFSA ha ricevuto dall'Autorità Competente del Regno Unito una richiesta di autorizzazione, o applicazione, per la commercializzazione del mais GM MON863 x NK603, per l'importazione e la trasformazione, l'uso nell'alimentazione umana ed animale, presentata dalla Monsanto ai sensi del Regolamento (CE) 1829/2003 (riferimento EFSA-GMO-UK-2004-06).

Dopo aver ricevuto la richiesta l'EFSA ha informato gli stati membri e la Commissione, ed ha pubblicato sul suo sito Web⁹ il riassunto del dossier.

In seguito ad appropriata analisi, l'EFSA ha considerato l'applicazione valida (14 gennaio 2005) 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) e 18(4) del Regolamento (CE) 1829/2003, le quali hanno avuto 3 mesi (fino al 14 aprile 2005) per esprimere le loro valutazioni.

Il 27 aprile 2005 il GMO Panel ha richiesto all'applicante ulteriori dati, relativi a studi esistenti su ratti alimentati per 90 giorni con mangime contenente mais GM MON863 x NK603, che gli sono stati forniti il 20 giugno 2005.

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.

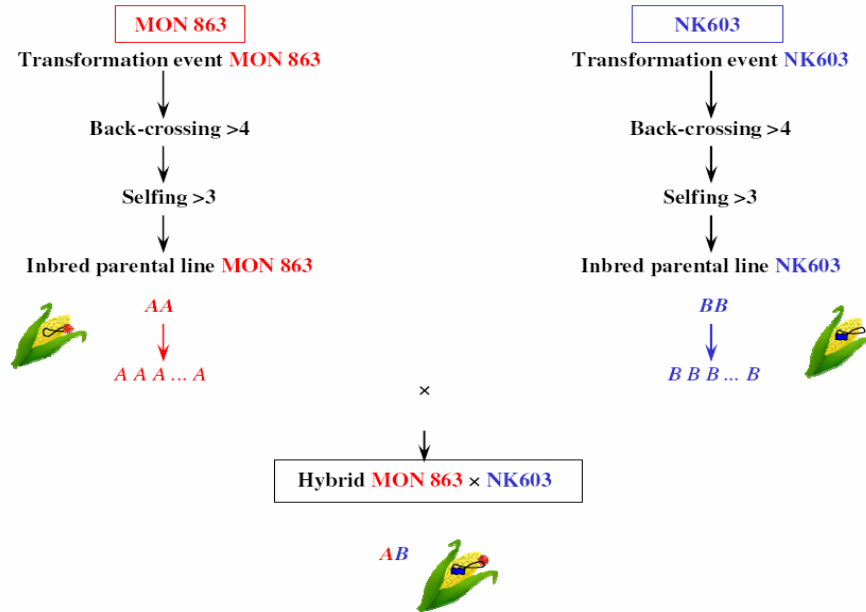
Le eventuali osservazioni potranno essere inviate alla Commissione Europea, entro il 2 maggio 2006, compilando il format predisposto dalla Commissione Europea all'indirizzo http://europa.eu.int/comm/food/food/biotechnology/authorisation/public_comments_en.htm.

⁹ http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gm_ff_applications/catindex_en.html

2. Caratterizzazione molecolare

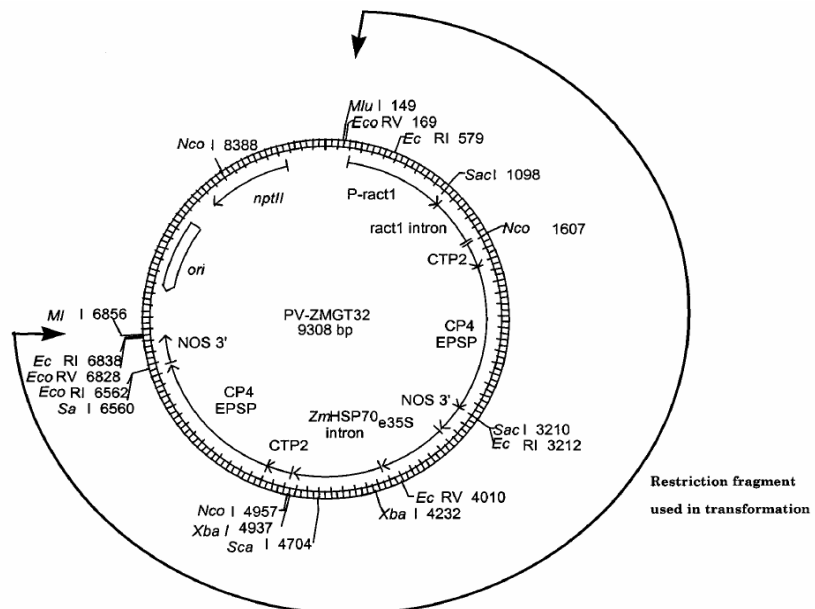
Parere EFSA

La richiesta di commercializzazione riguarda ibridi di mais NK603 x MON 863, ottenuti tramite incrocio classico, utilizzando linee inbred sviluppate a partire dalle linee GM NK603 e MON 863, secondo lo schema di incrocio mostrato sotto¹⁰.



NK603

L'evento NK603 è stato trasformato utilizzando un frammento di 6,7 kB, del vettore PV-ZMGT32, mostrato di seguito¹¹.



10 Application for authorization of MON 863 x NK603 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.

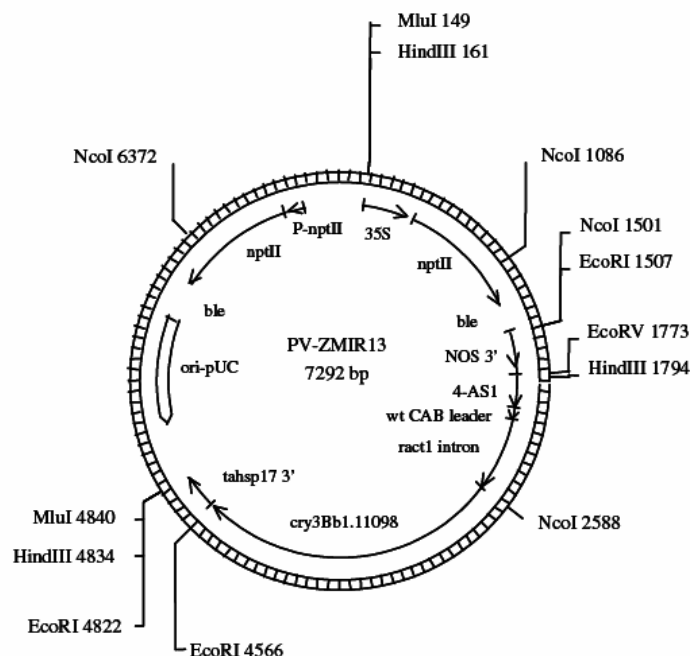
11 SNIF, Notifica C/ES/00/01. Monsanto Company.

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 due cassette di espressione:

- la prima contenente la sequenza codificante del gene cp4 EPSPS di *Agrobacterium* sp. ceppo CP4 posta sotto il controllo del promotore costitutivo P-ract1 di un gene dell'actina di *Oryza sativa*
- la seconda contenente la sequenza codificante del gene cp4 EPSPS di *Agrobacterium* sp. ceppo CP4 posta sotto il controllo del promotore costitutivo del gene 35S del 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 seguito¹².



Il frammento MluI del plasmide contiene due cassette di espressione:

- la prima contenente 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

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.

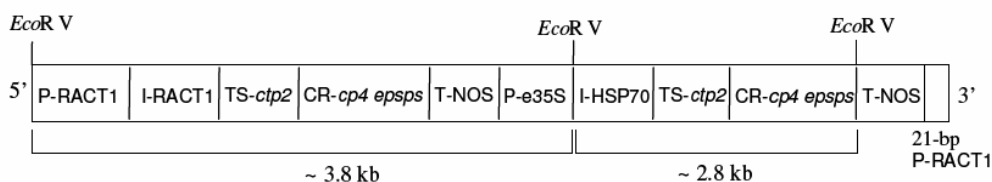
promotore costitutivo P-e35S del gene 35S di CaMV (virus a mosaico del cavolfiore).

Osservazioni La documentazione fornitaci, dopo richiesta di accesso all'EFSA, risulta incompleta infatti, sebbene ci sia stato dato il dossier tecnico completo non abbiamo ricevuto la documentazione relativa alle richieste effettuate dagli Stati Membri e dal GMO Panel riguardo la notifica C/ES/00/01, presentata ai sensi della direttiva 2001/18/CE. E' bene ricordare che, relativamente all'evento NK603, 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 della pianta trasformata, sono state inserite nello SNIF della richiesta C/ES/00/01.

Parere EFSA *L'analisi Southern blot (SB) del DNA genomico degli ibridi di mais MON 863 x NK603 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.*

NK603

Il frammento di DNA inserito è stato sequenziato, così come le regioni fiancheggianti il sito di inserzione. Dall'analisi di tali sequenze il frammento utilizzato per la trasformazione risulta inserito integralmente, sono state riscontrate due mutazioni puntiformi nella sequenza codificante di uno dei geni cp4 epsps una delle quali determina un cambiamento aminoacidico della sequenza proteica L214P. All'estremità 3' dell'inserto è inoltre presente un frammento di 217 bp della regione enhancer del promotore del gene dell'actina di riso così come un altro piccolo frammento di DNA (305 bp) che presenta omologia con DNA di origine cloroplastica¹³. Una rappresentazione schematica dell'inserto è riportata nella figura seguente¹⁴.

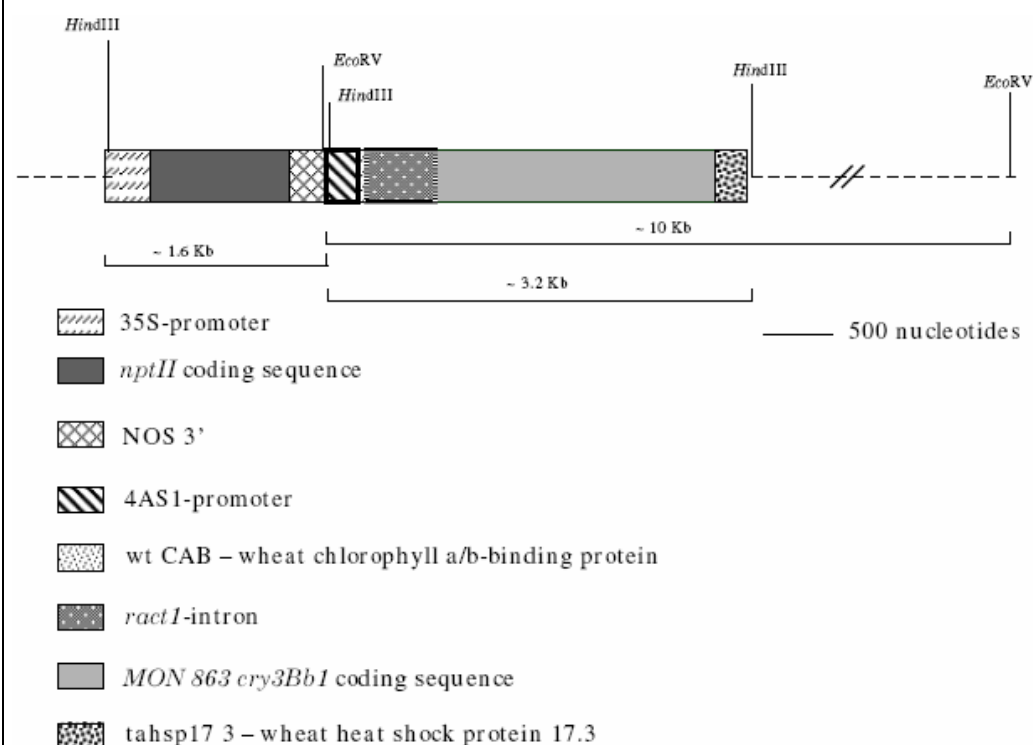


MON 863

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

¹³ SNIF, Notifica C/ES/00/01. Monsanto Company.

¹⁴ Application for authorization of MON 863 x NK603 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.

figura seguente¹⁵.**Osservazioni**

La caratterizzazione molecolare dell'evento NK603, risulta effettuata con accuratezza e l'inserito risulta integro, eccetto per due mutazioni puntiformi, tuttavia viene rilevata l'inserzione di frammenti di DNA non desiderati alle estremità dell'inserito, uno dei quali mostra omologia di sequenza con geni di origine cloroplastica¹⁶.

Nel caso del mais MON 863, come l'EFSA stessa sostiene¹⁷, 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. 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.

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 sulla salute umana ed animale. A nostro avviso, per ridurre i potenziali rischi derivanti dall'inserzione di DNA di funzione non nota, sarebbe

15 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

16 SNIF, Notifica C/ES/00/01. Monsanto Company.

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

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 non desiderati di diversa origine e dimensione.

Parere EFSA	<i>I livelli di espressione delle proteine CP4 EPSP, CRY3Bb1 e NPTII, sono stati saggiati in diversi tessuti delle piante, tramite ELISA confrontando i livelli di espressione tra l'ibrido NK603 x MON 863 e i singoli eventi NK603 e MON 863. I livelli di espressione delle proteine analizzate risultano equivalenti nell'ibrido e negli eventi singoli.</i>
Osservazioni	Come ci si sarebbe atteso i livelli di espressione delle proteine analizzate nell'ibrido risultano equivalenti a quelli verificati nei singoli eventi. Per tal motivo si confermano le nostre preoccupazioni espresse a riguardo dei risultati riportati relativamente all'ibrido MON 810 x MON 863 ¹⁸ . Non avendo accesso ai dati originali, in quanto confidenziali, ci riserviamo dei dubbi in merito alla qualità e affidabilità di tali dati.
Parere EFSA	<i>La stabilità del materiale inserito è stata analizzata sia a livello fenotipico che genetico per diverse generazioni, senza evidenziare alcuna instabilità.</i>
Osservazioni	Le analisi relative all'aspetto della stabilità sono state 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 e, quindi, ulteriori studi sarebbero necessari. Le conclusioni del Panel non sono adeguatamente supportate da sufficienti evidenze scientifiche.

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

Parere EFSA	<i>Il MON863 x NK603 è stato comparato con le linee parentali MON863 e NK603, con l'ibrido non GM ma geneticamente simile DKC46-26 e con 4 ibridi commerciali non GM. Da notare che questi ultimi erano diversi per i singoli siti, per cui il mais MON863 x NK603 è stato confrontato complessivamente con 13 ibridi commerciali non GM. Le prove di campo sono state eseguite in 4 località</i>
--------------------	---

¹⁸ Rapporto di valutazione della Notifica EFSA-GMO-DE-2004-03. Consiglio dei diritti genetici. Rapporto 2-2005

argentine comprese in due regioni geograficamente differenti, per la sola stagione di crescita del 2002-2003. Tali siti possono essere considerati rappresentativi di tutte le regioni che esportano mais in Europa.

Osservazioni

Il Panel non prende in considerazione i suggerimenti degli stati membro secondo i quali ulteriori i dati per l'analisi composizionale, ma anche per la valutazione agronomica e fenotipica, devono provenire da altre aree geografiche e per altre stagioni di crescita.

In effetti, noi riteniamo sia audace sostenere, senza adeguato supporto scientifico, che 4 siti in due regioni Argentine possano essere rappresentativi, dal punto di vista ecologico, agronomico e pedologico in particolare, di tutte le aree di coltivazione da cui proviene il mais importato in Europa. Si fa notare che, nel dossier tecnico, il notificante definisce le località che hanno ospitato i campi di prova rappresentative solo delle regioni argentine in cui il mais è coltivato per scopi commerciali, e non della "maggior parte delle aree di produzione che esportano mais in Europa".

3.2.3 Analisi Composizionale

Parere EFSA

Un certo numero di differenze statisticamente significative sono state osservate nel confronto della composizione della granella del mais MON863 x NK603 e gli ibridi di controllo. Tali differenze non si verificavano in tutti i siti di prova. La sola differenza riscontrata in tutti i siti era riferibile al contenuto di acido arachidico. Il Panel considera tale differenza piccola e non importante dal punto di vista biologico.

Osservazioni

Confrontando i valori di 62 parametri analitici del mais MON863 x NK603 e quella degli ibridi di controllo non-GM, di cui uno con background genetico simile (DK C46-26) e altri 13 ibridi commerciali, risultano ripetute ed evidenti differenze statisticamente significative che coinvolgono una parte considerevole dei parametri misurati.

Infatti, dall'esame dei dati riportati nel "Dossier tecnico"¹⁹, per il mais MON863 x NK603 prodotto nei 4 campi sperimentali realizzati nella regione di Buenos Aires (2) ed in quella di Cordova (2) durante la stagione 2002-2003, emerge quanto segue:

- Su 310 confronti operati tra il Mais MON863 x NK603 e gli ibridi di controllo, 42 di essi, ovvero circa il 14% del totale, mostravano differenze significative, considerando un intervallo di confidenza pari al 95%.
- Nel confronto tra il Mais MON863 x NK603 e l'ibrido di controllo DK C46-26, gruppi di circa una decina di parametri, diversificati per ogni singolo sito di prova, risultavano statisticamente differenti, mentre nove parametri, tra cui 4 amminoacidi (alanina, ac. Aspartico, leucina e treonina), 3 acidi grassi (ac. Oleico, ac. Linoleico e ac. Arachidico), il ferro e l'acido ferulico, differivano in modo statisticamente significativo in tutti i siti esaminati.

Questi risultati non sono da sottovalutare anche perché dimostrano chiaramente

¹⁹ Il dossier tecnico fa riferimenti a studi composizionali riportati in un rapporto interno prodotto da Ridley et al 2004, che peraltro risulta informazione confidenziale e quindi, non consultabile dal pubblico.

che il quadro delle vie metaboliche del mais GM è stato in qualche modo alterato. Ciò potrebbe avere conseguenze sulla salute indotte da variazioni delle concentrazioni di metaboliti al momento sconosciuti, non considerati o non adeguatamente valutati. La “sostanziale equivalenza” andrebbe ulteriormente indagata.

3.2.4. Tratti Agronomici e fenotipo GM²⁰

Parere EFSA | *Le piante sono state valutate per le loro caratteristiche agronomiche e per il loro fenotipo. Le analisi hanno riguardato la caratterizzazione del vigore dei semi e le caratteristiche fisiologiche/riproduttive della pianta, come ad esempio: l'altezza, la resa, la fioritura e l'impollinazione. Le piante testate non hanno evidenziato nessuna deviazione delle caratteristiche analizzate rispetto alle corrispettive isogeniche.*

Osservazioni | Lo studio delle caratteristiche agronomiche e fenotipiche del mais MON 863 x NK603 è stato condotto nella sola annata 2002-2003 in Argentina. Un solo anno di studio condotto in un singolo paese non può considerarsi sufficiente per valutare la sostanziale equivalenza degli ibridi GM rispetto ai corrispettivi isogenici. Gli studi condotti per saggiare le caratteristiche agronomiche, fenotipiche e dei macro e micronutrienti dovrebbero essere condotti per almeno quattro anni in condizioni climatiche differenti allo scopo di accertare la stabilità dell'inserito ed i possibili cambiamenti derivanti dalla trasformazione genetica del mais ibrido MON863 x NK603. Inoltre, l'unica referenza citata (Carringer et al., 200421), è stata introdotta nella parte del dossier considerata confidenziale, tale da non permettere una valutazione a riguardo dei possibili cambiamenti delle caratteristiche agronomiche e fenotipiche dei mais GM. La possibilità del notificante, di rendere o meno confidenziali le informazioni che potrebbe essere utili per un'analisi indipendente della notifica, 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 può 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. Quindi, le informazioni riguardanti gli studi sulle performance agronomiche del mais MON863 x NK603 non possono essere considerate sufficienti per effettuare un'analisi approfondita del rischio, derivante dall'importazione e dall'utilizzo di tale mais.

3.3 Conclusione

Parere EFSA | *Se si escludono i tratti voluti, ovvero la produzione delle proteine Cry3Bb1 e CP4 EPSPS, il mais MON863 x NK603 non mostra sostanziali differenze nella composizione, nel fenotipo e nelle caratteristiche agronomiche rispetto alle linee parentali e di controllo. Il Panel conclude, quindi, che il mais MON863 x NK603 è composizionalmente e fenotipicamente equivalente alle sue linee parentali GM e al mais tradizionale non GM.*

²⁰ Parere EFSA: 3.2.4. p 9.

²¹ Carringer, R.D., Marcinkiewicz, B.R. and Schottel, S. (2004) Collection of plant tissue and grain samples from test corn hybrids containing MON 810 x MON 863 and MON 863 x NK603, parental controls, and references in a 2002- 2003 Argentina field production. Monsanto Technical Report, MSL 18567.

Osservazioni	Le conclusioni dell'EFSA sembrano sottovalutare le differenze riportate nell'analisi composizionale comparata, la quale sembra indicare, piuttosto, una "sostanziale non equivalenza" tra mais MON 863 x NK603 e ibridi di controllo. Si ritengono quindi necessari ulteriori indagini e soprattutto studi epidemiologici su popolazioni campione selezionate, anche per verificare se le differenze riscontrate possano generare, a lungo termine, effetti inintenzionali sui consumatori.
--------------	---

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 ²² 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 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	<i>Sono stati condotti studi di tossicità orale della durata di 90 giorni su ratti suddivisi in 3 gruppi (20 animali/sexo/gruppo). Ad un gruppo è stata somministrata una dieta contenente l'11% in peso di granella di mais MON863 x NK603 integrata con il 22% di granella dell'ibrido di mais non GM DKC46-26. Al secondo gruppo è stata somministrata una dieta contenente il 33% di granella di mais MON863 x NK603. Al terzo gruppo, usato come controllo, è stata somministrata una dieta contenente il 33% di granella di mais non GM DKC46-26. E' stato osservato un aumento statisticamente significativo nel consumo di cibo, misurato in termini di consumo medio giornaliero, da parte dei ratti maschi e femmine nutriti con mangime contenente mais MON863 x NK603 al 33%. Rispetto al controllo, è stato rilevato un peso medio significativamente minore del cuore, un minore numero medio di eritrociti ed una maggiore concentrazione media di emoglobina corpuscolare nei ratti maschi alimentati con mangime</i>
--------------------	---

²² The EFSA Journal (2004) 49, 1-25

contenente l'11% di mais MON863 x NK603,. Tali differenze non si riscontrano nel gruppo alimentato con mangime contenente mais GM al 33%.
 Infine, nelle femmine dei ratti alimentati con mangime contenente l'11% di mais MON863 x NK603 risultava più alto rispetto al controllo il contenuto di composti azotati del sangue.

Osservazioni Si ritiene che i risultati sopra riportati dovrebbero sollevare ragionevoli dubbi circa l'accertata sicurezza dell'uso alimentare del mais MON863 x NK603. Pertanto, si considera non giustificata la posizione del GMO-Panel, secondo la quale le differenze sopra citate non suscitano alcuna preoccupazione sulla sicurezza per la salute dell'uso di mais MON863 x NK603 nell'alimentazione umana ed animale.

4.2.5 Allergenicità

4.2.5.2 Valutazione dell'allergenicità dell'intera pianta

Parere EFSA *Un altro problema è che 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 mais MON863 e del mais NK603) ma anche nella pianta con i due tratti transgenici derivante dall'incrocio tra MON863 e NK603. Quest'ultima eventualità al Panel appare non rilevante poiché il mais non è considerato comunemente un alimento allergenico.*

Osservazioni Se per "modificazione qualitativa del modello di espressione proteica" s'intende anche 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 NK603 solo sulla base del fatto che il mais convenzionale non sia comunemente considerato un alimento allergenico. Infatti, anche piccole mutazioni puntiformi potrebbero determinare cambiamenti nella struttura di una proteina tali da creare epitopi per le IgE. Dato che non si sta valutando un normale mais ma una nuova varietà ottenuta per incrocio di linee parentali geneticamente modificate con tecniche di biologia molecolare, come raccomandato anche dagli stati membri²³, sarebbe opportuno eseguire prove allergiche più estese, usando anche il prodotto intero.

4.2.6 Valutazione nutrizionale di food/feed GM

Parere EFSA *Il valore nutrizionale del MON863 x NK603 è stato valutato attraverso studi di alimentazione, della durata di 6 settimane circa, condotti con polli per la produzione di carne. I gruppi test sono stati alimentati con diete contenenti il 55-60 % di granella del mais GM suddetto mentre ai gruppi di controllo e riferimento è stata somministrata una dieta a base di mais non GM, rispettivamente ibrido DKC46-26 e 5 ibridi non GM tradizionali. Nessuno di questi studi ha mostrato effetti negativi sugli animali alimentati con la dieta contenente il mais MON863 x*

²³ Parere EFSA: 4. 1 p 9

NK603.

Il Panel considera questi dati sufficienti per concludere che non ci sono ragioni per ritenere le proprietà nutrizionali del mais MON863 x NK603 differenti dal mais tradizionale.

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 agli uccelli. 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

Parere EFSA | *Il mais MON863 x NK603 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.*

Osservazioni | Come sottolineato in precedenza, il mais MON863 x NK603 mostra diverse differenze statisticamente significative nell'analisi composizionale, alcuni effetti tossicologici sub-letali 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 monitoraggio²⁴

5.1. Questioni sollevate dagli stati membri (ST)²⁵

ST | *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 MON863 x NK603 e derivanti dai prodotti di scarto della lavorazione potrebbero avere sul suolo e sulle acque;*
- *sulla necessità di piani di sorveglianza e monitoraggio più dettagliati.*

5.2. Valutazione dei principali dati scientifici²⁶

5.2.1. Valutazione dei singoli eventi²⁷

Parere EFSA | **MON 863 e MON 810**
Il mais MON 863 è stato valutato in base allo scopo della notifica che concerne la

24 Parere EFSA: 5. p 14.

25 Parere EFSA: 5.1. p 14.

26 Parere EFSA: 5.2. p 14.

27 Parere EFSA: 5.2.1. p 14.

sola importazione, per cui, non sono state necessarie ulteriori dati scientifici riguardanti i rischi derivanti dalla coltivazione.

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) dei geni cry. 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.

Il gruppo di esperti dell'EFSA considera che i rischi derivanti dall'utilizzo del mais GM non siano differenti da quelli del mais tradizionale.

NK 603

La notifica approvata C/ES/00/01 a cui l'EFSA fa riferimento per effettuare la valutazione di impatto del mais MON863 x NK603 è stata approvata per la sola importazione del mais NK603. Non sono perciò necessarie ulteriori informazioni sui possibili impatti che potrebbero derivare dalla coltivazione del mais NK603. Il gruppo di esperti dell'EFSA ritiene che la valutazione di impatto ambientale fornita dal notificante sia in accordo con gli usi che si intende perseguire con tale autorizzazione e, che, l'importazione e l'utilizzo del mais NK603 non possa condurre ad effetti avversi diversi da quelli che potrebbe derivare dall'utilizzo di ibridi di mais convenzionale.

Osservazioni

I principali dati scientifici a cui il gruppo di esperti dell'EFSA dovrebbe fare riferimento nel formulare la propria opinione, visto lo scopo della notifica, dovrebbero riguardare il mais ibrido MON863 x NK603 e non i dati ottenuti dai singoli ibridi GM. Infatti, le analisi composizionali dei macro e micronutrienti mostrano che sono presenti alcune differenze significative tra: i mais GM con un singolo evento di trasformazione, il mais MON863 x NK603 e i rispettivi controlli isogenici, differenze che potrebbero condurre ad una valutazione di impatto diversa rispetto a quella che si potrebbe ottenere considerando solo i singoli eventi di trasformazione.

5.2.2. Valutazione del rischio ambientale²⁸

5.2.2.1. Effetti potenziali della modificazione genetica sulla fitness delle piante GM²⁹

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 genico verticale attraverso il polline è limitato alle colture vicine.

Le caratteristiche di sopravvivenza, moltiplicazione e disseminazione del mais MON863 x NK603 non sono state alterate se non nel caso della presenza degli specifici insetti target o dello specifico erbicida.

Il gruppo di esperti dell'EFSA è quindi dell'opinione che gli effetti ambientali non previsti, derivanti dall'importazione del mais MON 863 x NK603 non siano diversi da quelli che potrebbero derivare dall'utilizzo degli ibridi MON 863, NK603 e tradizionali.

²⁸ Parere EFSA: 5.2.2. p 14.

²⁹ Parere EFSA: 5.2.2.1. p 14.

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. Infatti, viste le caratteristiche agronomiche del mais la sola resistenza ad alcune specie di Coleotteri e, la tolleranza all'erbicida glifosato non può essere considerata una condizione tale da poter creare un vantaggio selettivo, nel caso in cui vi fosse disseminazione involontaria dei semi al di fuori dei campi coltivati. Nel caso in cui la dispersione dei semi avvenga all'interno delle aree coltivate, l'inavvertita presenza di piante di mais GM, tolleranti all'erbicida glifosato potrebbe condurre ad una maggior difficoltà nella gestione delle infestanti solo nel caso in cui si utilizzi tale erbicida. 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, 1990³⁰; Suenaga & Nakajima, 1993³¹). Inoltre, diversi studi presenti in bibliografia riportano che il flusso genetico 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 1950³² 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., 2003³³). 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, 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., 2001³⁴). In base a queste considerazioni e all'impossibilità di consultare gli studi riguardanti le performance agronomiche del mais ibrido MON863 x NK603 (Carringer et al., 2004) non è comunque possibile affermare con certezza la possibile assenza di effetti indesiderati, derivanti da un aumento della fitness, in seguito alla modificazione genetica.

5.2.2.2. Rischi derivati dal trasferimento genetico³⁵

Parere EFSA | *Un prerequisite 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*

30 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.

31 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.

32 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*.

33 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*.

34 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.

35 Parere EFSA: 5.2.2.2. p 15.

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 e il processamento. Per il mais, il trasferimento genetico verticale è limitato alle piante di mais sessualmente compatibili, visto che, non sono presenti nell'areale europeo piante selvatiche sessualmente compatibili.

(a) Trasferimento genetico dalle piante ai batteri³⁶

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 cp4 epsps espressi nel mais MON863 x NK603 sono stati posti sotto il controllo di promotori eucariotici che mostrano limitata (nessuna) attività nei procarioti. Inoltre, i geni presenti nel mais MON863 x NK603 posti sotto il controllo di promotori procariotici 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 e sulla salute umana ed animale dato che non verrebbero introdotti nuovi geni nelle comunità microbiche specifiche.

Le linee di mais MON863 contengono il gene integro nptII codificante la resistenza agli antibiotici aminoglicosidici ed utilizzato come marker per la selezione delle piante trasformate. Il gruppo di esperti dell'EFSA ha recentemente espresso il proprio parere sull'utilizzo dei geni di resistenza agli antibiotici nelle piante GM ed ha concluso che l'utilizzo dei geni nptII come marker per la selezione delle piante trasformate non pone un rischio per l'ambiente e per la salute umana ed animale. Queste conclusioni sono basate sul limitato uso degli antibiotici kanamicina e neomicina nel settore medico e veterinario, l'elevata diffusione di tali geni nei batteri presenti in natura e il basso rischio di trasferimento genetico tra piante e batteri.

(b) Trasferimento genetico da pianta a pianta³⁷

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.

Per il mais, il trasferimento genetico da pianta a pianta è limitato alle altre piante di mais, visto che, non esistono in Europa specie selvatiche compatibili.

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.

La protezione verso le specie infestanti di Coleotteri non fornisce alle piante di

36 Parere EFSA: 5.2.2.2. (a) p 15.

37 Parere EFSA: 5.2.2.2. (b) p 16.

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. I semi che potrebbero svernare nelle zone europee a clima temperato non sarebbero perciò in grado di originare comunità di piante selvatiche.

Gli studi condotti in Europa e nel mondo per testare il mais NK603 hanno mostrato che la tolleranza all'erbicida non costituisce un carattere in grado di aumentare la fitness delle piante, eccetto nella presenza dell'erbicida specifico.

Il gruppo di esperti dell'EFSA è quindi dell'opinione che gli effetti ambientali non previsti, derivanti dall'importazione e dall'utilizzo del mais MON 863 x NK603 non siano diversi da quelli che potrebbero derivare dall'utilizzo degli ibridi MON 863, NK603 e tradizionali.

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 pretossina 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, 2003³⁸; Zwahlen et al, 2003³⁹). Altri studi hanno inoltre riportato la persistenza del DNA nel suolo (Ceccherini et al. 2003⁴⁰; Nielsen et al. 2002⁴¹), in ambiente acquatico (Paul et al., 1989⁴²), nel tratto digerente dei topi (Schubbert et al., 1997⁴³) e sebbene in minor proporzione anche in quello dei ruminanti (Duggan et al., 2000⁴⁴; Gay, 2001⁴⁵). Oltre al trasferimento genetico orizzontale che può avvenire tra i microrganismi del suolo e le 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., 2000⁴⁶; Jarvis et al., 2001⁴⁷; Nielsen et al., 2002⁴⁸).

38 Saxena D. and Stotzky G. (2003). Fate and effect in soil of the insecticidal toxin from Bacillus Thuringensis 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.

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

40 Ceccherini M.T., Poté 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.

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

42 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.

43 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.

44 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.

45 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.

46 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.

47 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.

In base a queste considerazioni, il rischio che il DNA presente negli alimenti o 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 MON863 x NK603 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 genico da pianta a pianta

Considerando quanto detto al punto 5.2.2.1, non si può escludere la possibilità di trasferimento genetico tra gli ibridi di mais GM e le corrispettive specie compatibili. Visto lo scopo della notifica, tale evenienza potrebbe verificarsi in seguito al cattivo uso delle sementi o al rilascio accidentale o inavvertita presenza di semi transgenici in partite convenzionali, con conseguente rischio per le colture tradizionali e biologiche.

5.2.2.3. Rischi potenziali sugli organismi non target⁴⁹

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 limitata dall'attività di decomposizione microbica, riducendo così i possibili rischi per gli organismi non target.*

Osservazioni | I meccanismi di trasferimento genetico orizzontale sia verso i microrganismi del suolo che 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 chiariti⁵⁰. Il DNA transgenico derivato dai sottoprodotti della lavorazione, una volta 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.

Nella documentazione fornita dal notificante non sono riportati studi specifici sui

48 Nielsen K.M., Choi M., Pietramellara G., Nanniieri P., Bensasson D. (2002). Advances in Microbial Ecology 17

49 Parere EFSA: 5.2.2.3. p 16.

50 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.

possibili effetti verso gli organismi non target. Il notificante nel concludere che non vi siano effetti sugli organismi non target, fa riferimento ai soli patogeni che attaccano il mais, verso i quali le piante GM non mostrerebbero 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'ibrido di mais transgenico 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 monitoraggio⁵¹

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 NK603 sarà destinato principalmente ad uso animale, il notificante ha proposto che i piani di sorveglianza generale debbano concentrarsi sul monitoraggio dei possibili effetti sulla salute animale e di tale filiera alimentare. Il gruppo di esperti dell'EFSA è in accordo con questo tipo di approccio.

Osservazioni

L'importazione e il processamento degli ibridi di mais GM, 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.

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, il rilascio accidentale e il cattivo uso delle sementi importate. 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:

- dei siti di ingresso e delle modalità di trasporto e stoccaggio del materiale grezzo;

⁵¹ Parere EFSA: 5.2.3. p 16.

- delle regole su come evitare la commistioni, disseminazione involontaria e il cattivo uso delle sementi GM importate e lavorate, da destinare agli operatori del settore;

- 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.

5.3. Conclusioni⁵²

Parere EFSA *Il mais MON 863 x NK603 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 e il processamento del mais transgenico 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.*

Osservazioni La valutazione di impatto ambientale fornita dal notificante è stata condotta considerando solo i possibili effetti derivanti dall'importazione del mais MON863 x NK603. Non sono state considerate le conseguenze che potrebbero derivare dalla disseminazione involontaria, commistione e cattivo uso delle sementi importate. Inoltre, la maggior parte delle valutazioni sui possibili effetti derivanti dall'importazione del mais transgenico MON863 x NK603 sono state effettuate in base ai risultati ottenuti studiando i singoli eventi di trasformazione (MON 863 e NK603) 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'importazione e il processamento dei semi di mais transgenico.

Dovrebbero essere forniti ulteriori studi riguardanti i possibili effetti del mais GM 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 adeguati per assicurare la separazione tra le filiere di produzione GM, tradizionali e biologiche.

52 Parere EFSA: 5.3. p 17.