



Consiglio dei Diritti Genetici
Osservatorio Agrobiotecnologie

Rapporto di valutazione della notifica C/ES/04/02

“Richiesta per l’importazione e la commercializzazione in
Europa di semi e derivati di cotone ibrido tollerante l’erbicida
glufosinato-ammonio”

Presentata all’**Autorità Competente** della **Spagna**
da *Bayer CropScience GmbH*.

Rapporto numero: 7-2004
21-04-2004

Rapporto di valutazione della notifica C/ES/04/02

PREMESSA

Secondo la direttiva europea [2001/18/CE](#) qualsiasi soggetto che intenda commercializzare un organismo geneticamente modificato (OGM) dovrà presentare una domanda, denominata *notifica*, all'Autorità Competente (AC) di uno Stato Membro (SM). Essa dovrà contenere, così come indicato negli allegati tecnici della direttiva, tutte le informazioni necessarie affinché sia effettuabile la valutazione del rischio, la valutazione del rischio e i piani di monitoraggio dei possibili effetti diretti e indiretti, immediati e differiti sull'ambiente e sulla salute umana.

Il notificante deve inoltre fornire allo SM una Sintesi della Notifica (SNIF) compilata secondo il formato previsto dalla decisione europea [2003/812/CE](#). Essa viene trasmessa immediatamente alla Commissione Europea che provvede a renderla pubblica attraverso il sito europeo del Joint Research Centre (JRC), http://gmoinfo.jrc.it/gmc_browse.asp. L'Autorità Competente provvede a valutare i dati contenuti nella notifica ed elabora una relazione di valutazione (assessment report) che viene trasmessa alla Commissione e pubblicata on-line sul sito del JRC.

L'articolo 24 della direttiva prevede la possibilità per il pubblico di partecipare attivamente ai processi decisionali attraverso il diritto all'informazione e la facoltà di esprimere osservazioni ed obiezioni sulla documentazione non confidenziale fornita dal notificante. Il pubblico può esercitare questo diritto in due fasi diverse del processo decisionale, dopo la pubblicazione dello SNIF e dopo la pubblicazione della relazione di valutazione dell'AC. In entrambi i casi, il tempo limite di presentazione è di 30 giorni.

Al fine di promuovere e garantire una effettiva partecipazione del pubblico ai processi decisionali relativi ai rilasci di OGM, il **Consiglio dei Diritti Genetici (CDG)**, in veste di gruppo organizzato, ha attivato l'**Osservatorio Agrobiotecnologie (OA)**, composto da un gruppo di esperti del settore. L'OA realizza un rapporto di valutazione basato sia sulle notizie rese disponibili al pubblico secondo le modalità previste dalla direttiva, 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 nel rapporto di valutazione, fornendo così gli elementi necessari al pubblico per potere formulare le proprie osservazioni, obiezioni e opinioni.

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.

A. Riassunto

Il 29 marzo 2004 è stata pubblicata la **notifica C/ES/04/02**, inviata da Bayer CropScience (di seguito Bayer) all'Autorità Competente della Spagna, per importare nel mercato europeo semi e derivati del cotone ibrido Geneticamente Modificato (GM) ottenuto per incrocio tradizionale tra il cotone GM LLCotton25 e cultivar non modificate. La linea parentale LLCotton25 porta il gene bar, codificante per l'enzima Phosphinothricin-Acetyl-Transferase (PAT) che conferisce tolleranza agli erbicidi a base di glufosinato-ammonio. L'ibrido, ereditando il suddetto fenotipo, risulta tollerante agli erbicidi a base di glufosinato.

Tale richiesta è per qualsiasi uso del prodotto esclusa la coltivazione.

Nella valutazione dei rischi per la salute (umana e animale) e l'ambiente non sono stati evidenziati effetti negativi potenziali, correlabili all'uso dei semi e dei derivati del cotone GM. Di conseguenza non è stato previsto un piano di monitoraggio caso specifico, ma solo il piano di sorveglianza generale.

Il pubblico potrà inviare le eventuali **osservazioni** alla Commissione europea, **entro il 28 aprile 2004**, alla e-mail gmoinfo-comments@jrc.it specificando nell'oggetto "Comment on SNIF C/ES/04/02".

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

- le informazioni riportate nello SNIF risultano parzialmente incomplete e inesatte e in effetti non consentono di trarre delle conclusioni sulla sicurezza per la salute umana e animale del prodotto.
- I risultati presentati dal notificante, relativi agli studi volti a valutare la sicurezza per la salute umana ed animale del prodotto, sono poco chiari e incompleti, mancano infatti studi sul comportamento della proteina introdotta al variare del pH, gli studi sugli animali non sono esaurienti: in alcuni casi di durata troppo limitata per poter avere valore scientifico, in altri casi limitati all'analisi di parametri non in grado di dare garanzie sullo stato di salute dell'animale.
- Non sono rilevabili consistenti effetti negativi sull'ambiente (inquinamento genetico, perdita di biodiversità, ecc...) conseguenti alla commercializzazione del cotone GM perché nella notifica è esclusa la richiesta di coltivazione in Europa. Rischi potenziali possono essere associati al rilascio involontario di semi durante le operazioni di trasporto e uso.

B. Introduzione

Il 29 marzo 2004, sul sito del JRC, dedicato alle notifiche presentate ai sensi della direttiva europea 2001/18/CE, è stato pubblicato lo SNIF relativo alla notifica C/ES/04/02 che la Bayer ha presentato all'Autorità Competente della Spagna. Lo scopo della notifica, che esclude la coltivazione, concerne l'immissione sul mercato europeo dei semi e prodotti derivati del **Cotone GM LLcotton25**.

Il pubblico potrà inviare alla Commissione eventuali osservazioni, alla suddetta relazione di valutazione, **entro il 28 aprile** alla E-mail gmoinfo-comments@jrc.it specificando nell'oggetto "Comment on SNIF C/ES/04/02".

I documenti pubblici cui si fa riferimento nel presente rapporto sono:

- SNIF C/ES/04/02¹;

B.1 Descrizione della pianta ospite

Il cotone, genere *Gossypium*, appartiene alla famiglia delle *Malvaceae*, ordine *Columniferae*, classe *Dicotyledoneae*, sottoclasse *Dialipetaleae*. Al genere *Gossypium* appartengono 20 specie ma soltanto 4 sono generalmente utilizzate per la coltivazione, tra cui sono comprese le specie tetraploidi *Gossypium hirsutum* e *Gossypium barbadense*, e le specie diploidi *G. herbaceum* e *G. arboreum*.

Le diverse specie di *Gossypium* si presentano come piante erbacee annuali o vivaci, arbusti o alberi; quelle selvatiche sono, in genere, arbusti perenni delle regioni tropicali aride e semi aride.

L'origine geografica del cotone è incerta ma di probabile ambiente tropicale. La coltura fu portata in Europa dagli Arabi che la introdussero in Sicilia intorno al IX secolo. Oggi è coltivato in tutto il mondo, maggiormente nel continente asiatico ed in quello americano. Tra i paesi europei interessati alla coltivazione troviamo la Spagna, la Grecia ed, in minor misura, l'Italia.

Il cotone è una delle più importanti e diffuse piante industriali del mondo, essendo una pianta da fibra ed oleaginosa allo stesso tempo. Il seme viene utilizzato per l'estrazione dell'olio che viene usato, previa raffinazione, nell'alimentazione e nell'industria cosmetica. Dall'estrazione dell'olio si ottengono due sottoprodotti, i panelli² e la farina, che vengono impiegati nella industria mangimistica.

Il ciclo biologico del cotone *G. hirsutum* varia da 4 a 7 mesi circa. La propagazione avviene per la maggior parte attraverso i semi che sono prodotti per auto-impollinazione e, in minor misura, per impollinazione entomofila (api, bombi, ecc...)³. Può formare incroci e trasferire geni tra specie con genotipo tetraploide del genere *Gossypium*⁴.

Nella cotonicoltura asciutta, lo sviluppo di erbe infestanti è da temere solamente durante le prime settimane. Per il loro controllo è sufficiente una sola scerbatura meccanica.

Alcuni lepidotteri, tra cui *Pectinophora gossypiella*, creano danni considerevoli alle coltivazioni. In Italia la larva di *Platyedra gossypiella* (verme rosa del cotone) scava gallerie nella capsula distruggendo fibra e semi⁵.

¹ <http://gmoinfo.jrc.it/csnifs/C-ES-04-02.pdf>

² Panelli: residui ricchi di proteine

³ SNIF Punto 9 a)

⁴ SNIF Punto 9 b)

⁵ Baldoni R., Giardini L. "Coltivazioni erbacee", Patron editore 1982

C. Commenti di carattere generale sulla notifica in esame

Le informazioni riportate nello SNIF, e quindi disponibili per la consultazione pubblica, sono insufficienti per una approfondita valutazione della notifica, non contengono i necessari riferimenti bibliografici a supporto delle tesi e dei dati riportati.

Sebbene non sia previsto specificamente dalla direttiva, sarebbe opportuno tenere in maggiore considerazione i rischi connessi alla contaminazione accidentale durante la filiera di trasformazione. In effetti non sono state considerate le conseguenze socio-economiche derivanti dall'introduzione di semi GM, ed in particolare, non è stato considerato il bilancio costi/benefici riferito all'incremento dei costi dei prodotti tradizionali e biologici causato dal prevedibile aumento delle spese sostenute per il controllo e la separazione delle filiere produttive.

D. Analisi tecnica dei documenti e nostre osservazioni

D.1 Caratterizzazione molecolare della Pianta Superiore Geneticamente Modificata (PSGM)

SNIF	<p><i>La linea di cotone LLCotton25 è stata ottenuta tramite trasformazione mediata da Agrobacterium utilizzando il plasmide pGSV71⁶.</i></p> <p><i>Il T-DNA del vettore pGSV71 contiene: la sequenza codificante (ORF Open Reading Frame) del gene bar di Streptomyces hygroscopicus, sotto il controllo del promotore costitutivo del 35S del CaMV (Cauliflower Mosaic Virus) e la sequenza del terminatore 3'nos del gene per la nopalina sintetasi del T-DNA di pTiT37⁷, le dimensioni, l'origine e le funzioni dei frammenti presenti nel T-DNA sono riportati nella tabella 1 dello SNIF.</i></p>
Osservazioni	<p>Vorremmo far notare che le dimensioni dei frammenti riportate in tabella 1 non sono corrette, tutti i frammenti sono ridotti di una base e la taglia del frammento LB eseguendo correttamente la sottrazione risulta essere di 25 e non di 2 come riportato.</p>
SNIF	<p><i>Il frammento di DNA inserito è lungo 2319 bp.</i></p> <p><i>Analisi Southern blot (SB) del DNA genomico hanno evidenziato la presenza di un'unica copia dell'inserito ed escluso l'inserzione di altre sequenze di DNA derivanti dal vettore pGSV71 nel genoma della pianta trasformata.</i></p> <p><i>Analisi PCR hanno evidenziato che il Right Border repeat non è inserito per intero e che l'estremità al 3' dell'inserito cade all'interno della sequenza del Left Border repeat.</i></p> <p><i>La stabilità dell'inserito è stata analizzata sia a livello fenotipico che molecolare (tramite SB)⁸.</i></p>
Osservazioni	<p>Non è indicato se in base al sequenziamento l'inserito risulta integro oppure no e non si comprende perchè per descrivere il materiale effettivamente inserito si faccia riferimento ai risultati delle analisi PCR e non a quelli del sequenziamento.</p>
SNIF	<p><i>L'espressione della proteina PAT in differenti tessuti della pianta è stata quantificata tramite analisi ELISA. L'ordine di espressione di PAT nei diversi tessuti analizzati è: seme>foglie>fusto>polline>radici. I dati riportati in letteratura indicano invece che il promotore 35S nel cotone è più attivo nelle parti verdi.⁹</i></p>
Osservazioni	<p>Come indicato nello SNIF l'ordine di espressione di PAT nei diversi tessuti analizzati non corrisponde a quello atteso in base ai dati riportati in letteratura. In effetti i livelli della proteina PAT sono superiori nel seme rispetto alle foglie. Sarebbe opportuno verificare se anche a livello di RNA sia mantenuto l'ordine osservato e in caso affermativo questa differenza andrebbe studiata con maggior attenzione.</p>

⁶ SNIF punto 16 e 17

⁷ SNIF punto 18

⁸ SNIF punto 20

⁹ SNIF punto 20

D.2 Valutazione dei rischi sulla salute animale e umana

SNIF	<p><i>La trasformazione genetica nel LLcotton25 non sembra portare effetti negativi sulla salute umana o sull'ambiente.</i></p> <p><i>Il solo cambiamento presente nella composizione del LLcotton25 è la proteina PAT, prodotta dal gene bar che è stato introdotto con la modificazione genetica. La proteina PAT non è tossica per i mammiferi e non possiede caratteristiche associabili ad allergeni alimentari. A supporto di tali conclusioni si specifica che:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <i>(i) la sequenza codificante del gene bar deriva da un comune microbo del suolo non conosciuto come patogeno</i> <i>(ii) la proteina PAT non ha omologie con allergeni, tossine o antinutrienti conosciuti</i> <i>(iii) la proteina PAT non ha siti di glicosilazione presenti su certi allergeni alimentari</i> <i>(iv) la proteina PAT è labile al calore ed agli acidi, a differenza di molti allergeni alimentari</i> <i>(v) la proteina PAT è altamente substrato-specifica. Agisce solo sul suo target, il glufosinato, ma non sul glutammato, l'analogo strutturale più vicino all'L-glufosinato.¹⁰</i>
Osservazioni	<p>Non è chiarito se i risultati presentati si riferiscono ad analisi originali effettuate dal notificante o se si fa riferimento a dati già pubblicati.</p> <p>Non sono stati riportati studi al variare del pH. Inoltre andrebbero effettuati studi di stabilità, tossicità e comparazione con allergeni conosciuti sui frammenti di proteina derivanti dai processi di degradazione.¹¹</p>
SNIF	<p><i>Sono stati effettuate analisi composizionali su granella grezza e frazioni processate di cotone per verificare la composizione in amminoacidi, acidi grassi, contenuto di vitamine e minerali e di un numero di fattori antinutrizionali, analisi che dimostrano come il LLcotton25 non sia differente dal cotone non-transgenico, con l'eccezione dell'espressione della proteina PAT.</i></p> <p><i>Durante test di campo del LLcotton25, non sono state osservate tossicità o alterazione dei livelli di popolazione per insetti utili, uccelli o altre specie che frequentano i campi di cotone. Non ci sono differenze qualitative tra le specie utili e le popolazioni presenti sulle piante di cotone transgeniche e non-transgeniche.¹²</i></p>
Osservazioni	<p>Non sono riportati dati su analisi, effettuate sulla linea LLcotton25, di fibre, ceneri, metaboliti secondari. Inoltre, non sono stati effettuati studi per controllare eventuali variazioni dei livelli di gossipiolo, sostanza tossica presente nel cotone, causate direttamente o indirettamente, dalla modificazione genetica.</p> <p>Inoltre, si richiedono informazioni sugli studi di tossicità e alterazione dei livelli di popolazione effettuati sugli insetti utili, uccelli o altre specie che frequentano i campi di cotone. Le informazioni così riportate, sembrano infatti essere "poco scientifiche".</p>
SNIF	<p><i>Non ci sono differenze tra il LLcotton25 e il ricevente Coker 312 in merito alla sicurezza sugli animali. Semi di cotone e sottoprodotti del processamento del cotone sono inclusi nella dieta animale. I valori composizionali dei semi e delle</i></p>

¹⁰ SNIF punto 24 pag.13

¹¹ OECD, Guidance Document for the risk assessment of GMP and derived food & feed

¹² SNIF punto 24 pag.13

frazioni processate sono stati trovati equivalenti all'altro cotone a seguito di analisi chimiche.

Per supportare la sostanziale equivalenza, polli e animali da latte sono stati alimentati con mangimi contenenti cotone per valutare la crescita e/o parametri legati alla salute.

I polli sono stati selezionati per valutare gli effetti di tossicità alimentandoli per un periodo di 5 settimane e in condizioni di rapida crescita.

Sono inoltre stati studiati i ruminanti perché la presenza di gossipiolo nei semi di cotone ne limita l'uso nell'alimentazione di altri animali. Sono stati analizzati i parametri di produzione del latte come indicatori delle condizioni dell'animale.

Non sono state osservate differenze nei valori nutritivi dei semi e non sono stati rilevati effetti tossici associati alle fonti di cotone in entrambe le specie di animali analizzate.

I risultati ottenuti portano alla conclusione che LLcotton25 è sostanzialmente equivalente alle altre varietà di cotone e che non ci sono conseguenze sulla sicurezza alimentare e sui valori nutrizionali del LLcotton25 e della sua progenie.¹³

Osservazioni

Si richiedono studi di tossicità acuta e cronica sui ratti come previsto oppure opportuni riferimenti.

Per quanto riguarda gli studi di tossicità sui polli, bisogna sottolineare che gli studi dovrebbero coprire l'intero ciclo di riproduzione dell'animale¹⁴, che nel caso dei polli dura circa 5-6 mesi.

Si richiedono inoltre informazioni più dettagliate sulle analisi effettuate sui parametri di produzione del latte, anche perché non possono essere considerati gli unici parametri per valutare lo stato di salute di un animale.

¹³ SNIF punto 25 pag.14

¹⁴ OECD, Considerations for the safety assessment of animal feedstuffs derived from GMP

D.3 Valutazione dei rischi ambientali

SNIF	<p><i>Rispetto alla varietà ricevente, il cotone GM tollerante l'erbicida non mostra maggiore persistenza negli habitats agricoli né maggiore invasività negli habitats naturali. Solo in ambienti agricoli, in cui si usano erbicidi a base di glufosinato-ammonio, la pianta GM potrebbe avere un vantaggio selettivo¹⁵. Il cotone è una pianta a riproduzione sessuale autogama con un certo grado di impollinazione incrociata mediata da insetti. La frequenza di fecondazione incrociata dipende dalle popolazioni di impollinatori e principalmente da vespe, bombi e api¹⁶. Il <i>G. hirsutum</i> è sessualmente compatibile con altri membri tetraploidi del genere <i>Gossypium</i>, come ad esempio <i>G. tomentosum</i> e <i>G. barbadense</i>¹⁷. In Europa, non essendo presenti specie selvatiche sessualmente compatibili, il trasferimento genetico verticale può avvenire soltanto verso altre colture di cotone ed in particolare di <i>G. hirsutum</i> ma, non essendo prevista la coltivazione, tale rischio è solo potenziale. Comunque, un'adeguata gestione del rischio di impollinazione incrociata con colture adiacenti può essere ottenuta mantenendo una distanza di isolamento di 30 metri¹⁸.</i></p>
Osservazioni	<p>Si fa notare che la distanza di isolamento proposta è insufficiente per evitare il flusso genico. In effetti nel punto 11 dello SNIF sono riportati i risultati di studi secondo i quali il polline è rintracciabile fino a 60 metri dalla sorgente. In generale, la diffusione del polline mediata da insetti si estende da poche decine di metri (Umbeck et al, 1991.) a qualche km di distanza dall'origine per cui si potrebbe avere un flusso genico (Gene Flow and Agriculture) verticale tra campi coltivati con cotone GM e campi, anche relativamente distanti, coltivati con varietà di cotone tradizionali che risulterebbero inquinati¹⁹. Questo rischio si evita solo perché è esclusa la coltivazione in Europa.</p>
SNIF	<p><i>Durante le prove di campo del cotone LLcotton25 non sono stati riscontrati effetti tossici o alterazioni nelle popolazioni di insetti utili, uccelli o altre specie. Non c'erano differenze qualitative tra le popolazioni e le specie di insetti utili presenti sulle piante di cotone transgeniche e isogeniche²⁰. Nessun impatto può essere identificato sugli organismi non target²¹.</i></p>
Osservazioni	<p>Per agevolare la valutazione del pubblico, sarebbe opportuno rendere disponibili gli elaborati relativi agli studi di campo effettuati. Bisognerebbe sapere, tra l'altro, quali e quante specie sono state prese in considerazione e se esse sono sufficientemente rappresentative dell'intera comunità. Inoltre, l'assenza di <i>differenze qualitative</i>, tra le specie e le popolazioni di insetti utili presenti nei campi GM e controllo, non esclude esplicitamente la presenza di <i>differenze quantitative</i> con conseguenti effetti negativi.</p>

¹⁵ SNIF punto 29

¹⁶ SNIF punto 9. a

¹⁷ SNIF punto 9. b

¹⁸ SNIF punti 23, 29

¹⁹ Umbeck, P. F., et al, J. Econ. Entomology 84: 1991 ; Gene Flow and Agriculture. Relevance for transgenic crops. BCPC Symposium Proceedings N° 72

²⁰ SNIF punto 24

²¹ SNIF punti 27 e 29

SNIF	<i>In diverse aree europee di coltivazione del cotone, i semi perduti durante la raccolta possono germinare in autunno o, per la Spagna e la Grecia, anche nella primavera successiva e diventare infestanti (volunteers)²².</i>
Osservazioni	La perdita dei semi durante la raccolta, ma anche durante il trasporto e l'uso, e la successiva germinazione, può trasformare il cotone GM in una infestante (volunteer).

D.4 Piani di sorveglianza e monitoraggio

SNIF	<i>La valutazione dei rischi ambientali non identifica rischi potenziali correlati alla importazione e commercializzazione dei semi di cotone LLcotton25, per cui non è necessario elaborare un piano di monitoraggio caso specifico. Il cotone GM sarà importato per l'uso diretto nell'alimentazione umana e animale e per la trasformazione. I semi di cotone non saranno importati per la coltivazione in Europa. Solo un piano di sorveglianza generale, per rilevare gli effetti imprevisti, è stato preparato secondo l'allegato VII della direttiva 2001/18/CE.</i>
Osservazioni	Si dovrebbe proporre un piano d'intervento e di monitoraggio caso-specifico per evitare i rischi potenziali associati al rilascio involontario di semi durante le operazioni di trasporto e uso. Il piano di sorveglianza generale dovrebbe essere spiegato con maggior dettaglio.

D.6 Conclusioni OA:

- le informazioni riportate nello SNIF risultano parzialmente incomplete e inesatte e in effetti non consentono di trarre delle conclusioni sulla sicurezza per la salute umana e animale del prodotto;
- sono necessari chiarimenti sull'integrità ed equivalenza dell'inserito rispetto alle sequenze del plasmide utilizzato per la trasformazione;
- vorremmo conoscere se grazie all'analisi delle sequenze delle regioni fiancheggianti è stata evidenziata la localizzazione cromosomica dell'inserzione;
- l'espressione del gene bar nei diversi tessuti andrebbe analizzata anche a livello di RNA e se si confermasse una maggior espressione nei semi piuttosto che nelle foglie sarebbe necessario un approfondimento degli studi per giustificare le differenze riscontrate rispetto ai dati di letteratura;
- sarebbe opportuno verificare i potenziali effetti indesiderati sull'espressione di altri geni della pianta dovuti alla tecnica di trasformazione, confrontando i profili di espressione di mRNA e di sintesi proteica delle piante GM con i corrispettivi isogenici;

²² SNIF punto 10

- andrebbero effettuati studi della proteina al variare del pH, di stabilità, tossicità e comparazione con allergeni conosciuti sui frammenti di proteina derivanti dai processi di degradazione ed analisi composizionali complete sulla linea LLcotton25;
- si richiedono studi di tossicità acuta e cronica sui ratti come previsto oppure opportuni riferimenti bibliografici e studi di alimentazione più approfonditi sui ruminanti;
- si richiedono studi per controllare eventuali variazioni dei livelli di gossipiolo ed possibili correlazioni con la modificazione genetica;
- sarebbe opportuno un piano d'intervento e di monitoraggio caso-specifico per evitare i rischi potenziali associati al rilascio involontario di semi durante le operazioni di trasporto e uso.