

# Primo rapporto dell'Osservatorio "Vite Vita"

*"Vite geneticamente modificata: stato dell'arte, rischi connessi e prospettive future"*



A cura di: Francesco Pazzi.

**Sommelier.it**  
Associazione Italiana Sommelieri



**Città del Vino**  
Associazione Nazionale Città del Vino



**coop**

FEDER **VOC**

GIUGNO 2007

# Indice

1. Background .....	1
2. Metodologia.....	2
3. Risultati .....	3
3.1 Fase 1: Risultati revisione impatti OGM.....	3
3.2 Fase 2: Risultati della raccolta informazioni.....	6
3.3 Fase 3: risultati delle notifiche sperimentali.....	8
4. Stato dell'arte: applicazione ed impatti.....	77
4.1 Stato della modificazioni delle caratteristiche qualitative.....	79
4.2 Stato della resistenza agli stress abiotici .....	79
4.3 Stato della resistenza ai virus.....	80
4.4 Stato della resistenza ai funghi.....	81
4.5 Stato della resistenza ai batteri.....	82
4.6 Stato della valutazione degli Impatti.....	82
5. Il futuro della vite transgenica: dove, come e quando.....	89
6. Glossario .....	97

## **Abbreviazioni**

**CGH:** Comparative Genome Hybridization

**ELISA:** Enzime-Linked Immunosorbent Assay

**OGM:** Organismi Geneticamente Modificati

**PCR:** Polymerase Chain Reaction

**PGM:** Pianta/e geneticamente modificata/e

**RAPD:** Random Amplification of Polymorphic DNA

**repPCR:** Repetitive-sequence-based PCR

**RT-PCR:** Reverse transcriptase PCR

**TGO:** Trasferimento genetico orizzontale

**TGV:** Trasferimento genetico verticale

**VGM:** Vite/i geneticamente modificata/e

## **Riassunto**

La globalizzazione dei mercati e la crescente competizione degli stati emergenti, rende oggi necessaria una costante innovazione del settore vitivinicolo.

L'applicazione delle moderne biotecnologie, se da una parte offre numerose prospettive e applicazioni, dall'altra lascia ancora molte questioni aperte sugli impatti relativi alla salute, all'ambiente e di tipo socio-economico. In particolare, gli organismi geneticamente modificati (OGM), sono oggi al centro di un grande dibattito sui possibili impatti che una loro introduzione commerciale potrebbero causare al comparto agroalimentare italiano. In questo contesto, un'approfondita valutazione dei rischi/benefici che potrebbero derivare dall'utilizzo di vite geneticamente modificata (VGM) risulterà determinante per l'individuazione di strategie di sviluppo che meglio si prestano e si adattano al nostro settore vitivinicolo.

Nonostante alcuni ricercatori affermino che l'introduzione commerciale di VGM possa avvenire tra 5 o 10 anni e, sebbene le prime sperimentazioni in campo siano iniziate già a partire dal 1994, fino ad ora le tecniche del DNA ricombinante applicate alla vite non hanno contribuito ad apportare particolari miglioramenti nel germoplasma viticolo, tali da poterne giustificare un'introduzione imminente sul mercato. Anche gli studi relativi ai possibili impatti, che risultano fondamentali per una possibile accettazione futura della VGM, nonché per adempiere ai requisiti normativi, risultano attualmente molto limitati.

I primi paesi ad utilizzare VGM potranno probabilmente essere gli Stati Uniti o il Canada, dove le numerose sperimentazioni condotte non hanno suscitato particolare attenzione da parte dell'opinione pubblica e dell'industria di trasformazione, al contrario di quanto accaduto per le poche sperimentazioni effettuate negli altri continenti, tra cui l'Europa, dove la maggioranza dei consumatori è contraria all'utilizzo di alimenti prodotti o ottenuti con OGM.

In questo contesto è evidente che l'introduzione di VGM nel comparto vitivinicolo italiano ed europeo avrebbe forti ripercussioni negative sull'economia dell'intero settore e su quella di tutto l'indotto economico.

Il futuro della vite transgenica dipenderà dalla sua capacità di apportare evidenti vantaggi produttivi al settore vitivinicolo e di adattarsi sia alle politiche di sviluppo messe in atto dall'intero comparto agroalimentare che alle esigenze del settore consumeristico.

## 1. Background

I dati economici del settore vitivinicolo italiano indicano chiaramente che nell'ultimo ventennio la tendenza è stata quella di puntare sulla qualità e la tipicità delle produzioni vitivinicole. Rispetto ai 76,8 milioni di ettolitri del 1986, la produzione di vino è infatti passata ai circa 51 milioni stimati per il 2006, di cui il 60% prodotto dalle 453 denominazioni di origine riconosciute, a fronte di un fatturato annuo che ha registrato nel periodo considerato un incremento del +260%.

Se da una parte questi dati dimostrano l'efficienza e l'efficacia delle scelte effettuate fino ad ora, la globalizzazione dei mercati e la crescente competizione degli stati emergenti rendono necessaria una costante innovazione del settore, basata su scelte che meglio si prestano e si adattino alla particolare situazione italiana. In questo contesto, l'applicazione delle moderne biotecnologie, se da una parte offre numerose prospettive e applicazioni, dall'altra pone ancora molti interrogativi sugli impatti relativi alla salute, all'ambiente e di tipo socio-economico. In particolare, le biotecnologie che fanno uso dell'ingegneria genetica per la produzione di organismi geneticamente modificati (OGM) sono oggi al centro di un grande dibattito relativo ai possibili rischi/benefici che potrebbero derivare dalla loro introduzione nel mercato agroalimentare italiano. Per questo motivo, il primo obiettivo dell'osservatorio "Vite Vita" è stato quello di studiare le applicazioni e gli impatti della VGM sull'ambiente, la salute ed i sistemi socio-economici, al fine di rispondere a tutti coloro che sono chiamati a compiere scelte informate sul tema delle biotecnologie applicate alla vite.

Visto il grande dibattito in corso in sede di autorizzazione europea tra gli stati che, come Italia, Grecia ed Austria, affermano il principio di precauzione e reputano prematuro e rischioso l'utilizzo di OGM nel settore agroalimentare senza che ne venga prima certificata la loro completa innocuità, e stati come Spagna, Inghilterra e Germania più favorevoli al loro utilizzo, i risultati di questa ricerca serviranno anche come base scientifica di partenza per la valutazione dei possibili impatti sul settore vitivinicolo italiano, nel caso in cui siano notificate nel prossimo futuro richieste per la commercializzazione o la sperimentazione di VGM. Inoltre, attraverso tali risultati si intende individuare quali tecnologie derivate dell'ingegneria genetica potrebbero in futuro essere applicate alla specifica situazione italiana e quali le possibili vie alternative.

## **2. Metodologia**

Per conseguire il primo obiettivo il lavoro è stato suddiviso in tre fasi.

Nella prima fase è stata realizzata una revisione della bibliografia scientifica relativa agli impatti provocati fino ad ora dall'introduzione in commercio degli OGM. A questo lavoro è seguita un'indagine accurata delle caratteristiche morfo-fisiologiche della vite, nonché della struttura e della dinamica del settore vitivinicolo italiano. L'incrocio dei dati ottenuti ha permesso di individuare con maggior accuratezza i rischi ed i possibili impatti sulla salute, l'ambiente ed i sistemi socio-economici che potrebbero derivare dall'introduzione in commercio della VGM, che meritano quindi di essere valutati attentamente caso per caso in fase sperimentale.

La seconda fase ha riguardato la raccolta delle informazioni relative alle sperimentazioni di VGM effettuate fino ad oggi ed attualmente in corso e della bibliografia correlata. Per la raccolta delle informazioni riguardanti le sperimentazioni è stata effettuata un'analisi approfondita della normativa in materia di OGM dello specifico stato. Questo ha permesso di individuare le modalità d'accesso alle informazioni pubbliche e di reperire in questo modo i dati desiderati. Nei casi in cui l'accesso alle informazioni non era previsto, il loro reperimento è stato effettuato principalmente on-line attraverso il materiale pubblicato su riviste scientifiche o in atti di convegni. Tutti i dati raccolti sono stati divulgati attraverso la pagina web del progetto, nella sezione biblioteca:

(<http://www.consigliodirittigenetici.org/vitevita/biblioteca.php>).

Durante la terza fase sono stati analizzati ed elaborati tutti i dati raccolti. Questo ha consentito di valutare lo stato della ricerca sulla VGM, le sue possibili applicazioni, le possibili alterazioni derivate dalla trasformazione genetica e tutti gli aspetti che dovrebbero essere analizzati prima di un suo utilizzo commerciale al fine di evitare eventuali rischi diretti o indiretti, immediati o differiti sulla salute, l'ambiente ed i sistemi socio economici, la percezione sociale e le dinamiche per una sua possibile futura applicazione commerciale. La valutazione delle notifiche è stata effettuata attenendosi ai principi generali riportati nell'allegato II della Direttiva 2001/18/CE del 12 marzo 2001 e nella relativa Decisione 2002/623/CE del 24 luglio 2002, nonché basandosi sui risultati ottenuti nella prima fase del progetto.

## 3. Risultati

### 3.1 Fase 1: Risultati revisione impatti OGM

Il lavoro di revisione relativo agli impatti provocati, in generale, dall'utilizzo commerciale degli OGM a livello globale, ha evidenziato che non si tratta più di effetti presunti, ma di impatti reali con effetti di rilevanza diversa.

Il caso delle Filippine, dove l'introduzione della papaya GM ha portato ad una crisi del settore dovuta ad una caduta del prezzo sul mercato interno e soprattutto delle esportazioni<sup>1</sup>, conferma gli impatti di tipo economico che possono derivare dall'utilizzo degli OGM, soprattutto in realtà agricole frammentate. Tali rischi, sono confermati anche da un recente rapporto della Commissione Europea che dimostra chiaramente che sebbene diversi OGM siano stati autorizzati per l'alimentazione umana, fino ad oggi, vista la riluttanza dei consumatori, nessuna azienda ha provveduto ad immetterli nella propria filiera produttiva per scopi alimentari<sup>2</sup>. Il caso dell'India, dove diversi agricoltori hanno portato in causa l'azienda fornitrici del cotone GM, visto che la pianta venduta come resistente agli insetti patogeni, si è dimostrata inefficiente<sup>3</sup>, conferma l'impatto sociale che può derivare dalla commercializzazione degli OGM. Il caso del mais Bt10, quello del LLrice601 e del mais Star Link, dimostrano la difficoltà di mantenere le filiere separate già a livello sperimentale, fatto che si complica ancor di più quando gli OGM sono autorizzati per la commercializzazione, come dimostrano i 142 casi di contaminazioni accidentali riportati fino ad ora<sup>4</sup>.

Anche per quanto riguarda gli effetti sulla salute e la salubrità del prodotto, i casi della soia trasformata con l'allergene della noce brasiliana<sup>5</sup> e quello del pomodoro Flavor Savor<sup>6</sup> indicano come la trasformazione genetica può causare effetti indesiderati, situazione confermata anche da uno studio australiano che evidenzia come un gene di una pianta con una specifica funzione, possa assumerne una diversa quando inserito in un diverso contesto che, nel caso specifico riguardava tra l'altro il genoma di un altro vegetale filogeneticamente

---

<sup>1</sup> Greenpeace International: The failure of GE papaya in Hawaii. Briefing may 2006 pp. 1-12. <http://www.greenpeace.org/raw/content/international/press/reports/FailureGEPapayainHawaii.pdf>

<sup>2</sup> Relazione della Commissione al Consiglio e al Parlamento Europeo sull'attuazione del regolamento (ce) n. 1830/2003 concernente la tracciabilità e l'etichettatura di organismi geneticamente modificati e la tracciabilità di alimenti e mangimi ottenuti da organismi geneticamente modificati, nonché recante modifica della direttiva 2001/18/CE. Bruxelles, 10.5.2006. COM(2006) 197 definitivo.

<sup>3</sup> Rao GS: Bt cotton farmers unlikely to get relief. The Hindu National Newspaper, 25 novembre 2004.

<sup>4</sup> Greenpeace International: GM Contamination Register report. Febbraio 2007.

<http://www.greenpeace.org/raw/content/international/press/reports/gm-contamination-register-repo.pdf>

<sup>5</sup> Nordlee JD, Tatlor SL, Townsend JA, Thomas LA, Bush RK: Identification of a Brazil nut Allergen in Transgenic Soybeans. New England Journal Medicine 1996, 334(11): 688.

<sup>6</sup> Smith JM: Seeds of Deception. Yes! Books 2003, p. 137-140.

vicino<sup>7</sup>. Il caso dell'Argentina, in cui l'estensiva monocoltura di soia GM ha portato al diradamento delle aree ad uso silvicolo<sup>8</sup>, conferma i rischi che gli OGM possono provocare sull'ambiente ed in particolare sulla biodiversità. Il caso Canadese, in cui colture di colza tollerante a principi attivi di erbicidi diversi, si sono incrociate con piante infestanti sessualmente compatibili che hanno così acquisito un fenotipo di tolleranza multipla a questi erbicidi<sup>9</sup>, conferma la possibilità per le PGM di dare origine a piante selvatiche con una maggior capacità competitiva, causando problemi per il loro controllo. Inoltre, l'assenza in molti casi di metodiche e protocolli d'analisi ufficiali non fanno altro che aumentare l'incertezza relativa all'applicazione e ai rischi derivati dall'impiego di OGM nel comparto agroalimentare ed indicano la necessità di applicare il principio di precauzione e di valutare attentamente caso per caso i possibili impatti delle colture GM prima di procedere con la loro immissione in commercio.

Per quanto riguarda il possibile utilizzo di VGM, i risultati emersi dall'indagine effettuata nella prima fase progettuale hanno evidenziato che, considerando le caratteristiche della coltura e del settore vitivinicolo italiano, gli effetti indesiderati per la salute, l'ambiente ed i sistemi socio-economici, potrebbero assumere una rilevanza maggiore rispetto a quelli causati fino ad oggi dalle altre colture transgeniche autorizzate. Da un punto di vista sociale, infatti, si passa dalla trasformazione genetica di specie come mais, soia ecc., considerate *commodities* e destinate principalmente all'alimentazione animale, ad una coltura destinata ad un settore che ha visto la sua rinascita puntando su produzioni di eccellenza, caratterizzate dalla loro diversità, contraddistinta dal legame con il territorio e simbolo delle diverse tradizioni e culture. Per questo motivo, anche la percezione e la sensibilità della società saranno sicuramente maggiori rispetto a quella dimostrata per le colture GM di cui si è dibattuto fino ad ora.

Da un punto di vista economico l'introduzione della transgenesi nel comparto vitivinicolo, vista oggi come la possibile causa dell'omologazione e della perdita d'identità delle produzioni agroalimentari, o anche la sola presenza in tracce, potrebbe avere grosse ricadute immediate sull'immagine dell'intero settore e pregiudicare gli sforzi fatti fino ad ora, con conseguenti ingenti perdite economiche. Non bisogna poi dimenticare che

---

<sup>7</sup> Prescott VE, Campbell PM, Moore A, Mattes J, Rothenberg ME, Foster PS, Higgins TJ, Hogan SP: Transgenic Expression of Bean  $\alpha$ -Amylase Inhibitor in Peas Results in Altered Structure and Immunogenicity. J. Agric. Food. Chem. 2005, 53:9023 – 9030.

<sup>8</sup> Altieri MA e Pengue WA: Roundup ready soybean in Latin America: a machine of hunger, deforestation and socio-ecological devastation. Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas de América Latina press release 2006.

<sup>9</sup> Hall L, Topinka K, Huffman J, Davis L, Good A: Pollen flow between herbicide-resistant Brassica napus is the cause of multiple-resistant B. napus volunteers. Weed Science 2000, 48: 688-694.

essendo la vite una coltura pluriennale caratterizzata da elevati costi di impianto e spesso coltivata in zone marginali, sarà necessario, prima del suo utilizzo, stimare in modo molto dettagliato il bilancio costi/benefici, analizzando in modo approfondito tutte le variabili annesse. Non sarà infatti possibile cambiare indirizzo produttivo in modo flessibile così come potrebbe invece avvenire per le colture annuali.

Per quanto riguarda la qualità e la salubrità dei prodotti derivati ed i relativi impatti sulla salute, oltre ai potenziali effetti tossici e/o allergenici che in base alla normativa vigente devono essere monitorati prima dell'autorizzazione di un qualsiasi OGM, bisognerà analizzare in modo approfondito anche i possibili effetti sulle caratteristiche peculiari del prodotto. A differenza delle *commodities*, le interazioni chimico-fisiche e microbiologiche tra la pianta e l'ambiente rivestono infatti un ruolo cruciale nella caratterizzazione delle uve che a loro volta determineranno le caratteristiche dei vini prodotti. La chimica della vite durante tutta la filiera, inoltre, è regolata da vie metaboliche complesse, come per esempio quelle per la produzione dei polifenoli, che l'introduzione casuale di uno o più transgeni potrebbe ulteriormente complicare.

Da un punto di vista ambientale, le interazioni della pianta con l'agro-ecosistema, essendo la vite una coltura caratterizzata da un ciclo produttivo di 20-30 anni, si fanno molto più complesse rispetto a quelle che si instaurano nelle colture a ciclo annuale soggette a rotazioni periodiche. Per quanto riguarda il suolo, ad esempio, gli eventuali effetti negativi del transgene sulla flora microbica (mediati da trasferimento genetico orizzontale, essudati radicali, residui della PGM), determinante nel definire la fertilità del suolo, lo sviluppo, la crescita e la caratterizzazione della pianta e delle bacche, si manifesterebbero in modo molto più marcato e protratto nel tempo rispetto a quelle prevedibili per le colture annuali. In aggiunta, la grande quantità di biomassa che cade al suolo e i lunghi periodi di siccità in cui è sottoposta la pianta, sono fattori che possono amplificare eventuali effetti indesiderati del transgene sulla flora microbica del suolo e sulle micorrize.

A livello ecologico, la possibilità della pianta di essere propagata sia per via gamica (seme) che agamica (talea) e la presenza di specie selvatiche compatibili nell'areale italiano, aumentano i rischi di trasferimento genico verticale e di contaminazione accidentale delle specie affini, rispetto a quelli previsti, ad esempio, per una coltura come il mais, priva sul nostro territorio di specie selvatiche sessualmente compatibili, la cui sola propagazione per via gamica difficilmente riuscirebbe a svernare e ad originare *volunteers* negli anni successivi alla coltivazione.

Per una descrizione dettagliata sugli impatti degli OGM e nello specifico della VGM, si rimanda alle schede di progetto scaricabili alla pagina web:

<http://www.consigliodirittigenetici.org/vitevita/Progettofin.pdf>.

### **3.2 Fase 2: Risultati della raccolta informazioni**

La raccolta dei dati relativi alle sperimentazioni in campo di VGM effettuate fino ad oggi ed attualmente in corso, è avvenuta facendo specifica richiesta della documentazione alle Autorità Competenti degli stati in cui l'analisi preliminare aveva evidenziato la presenza di rilasci di VGM nell'ambiente per fini sperimentali e riportati di seguito: Australia, Canada, Francia, Germania, Italia, Romania, Stati Uniti e Sud Africa.

A livello Comunitario, per quando riguarda le notifiche presentate ai sensi della vecchia normativa, la Direttiva 90/220/CEE, che a differenza dell'attuale normativa non prevedeva la circolazione e l'accesso pubblico alle informazioni relative alle sperimentazioni di PGM, la raccolta dei dati è stata effettuata principalmente on-line. Questo caso è riguardato solo la sperimentazione tedesca, infatti, per quanto riguarda la sperimentazione italiana, sebbene non vi fosse una normativa specifica, l'accesso alla documentazione è stato effettuato facendo riferimento alla normativa generale italiana in materia di accesso alle informazioni pubbliche, la legge 241/90. Per quanto riguarda la sperimentazione tedesca, è stata fatta una specifica richiesta all'istituto notificante e non avendo ricevuto risposte si è proceduto reperendo i materiali disponibili on-line. Mentre, per la sola sperimentazione francese presentata ai sensi della nuova normativa, la Direttiva 2001/18/CE, è stato possibile accedere alla notifica facendo specifica richiesta. Da notare che sebbene fosse stata notificata ai sensi di tale normativa anche una sperimentazione di vite in Spagna, un successivo monitoraggio più approfondito ha permesso di escluderne la sua messa in opera. Per la sperimentazione in Romania non è stato possibile individuare nessuna modalità di accesso alla documentazione. I materiali di riferimento utilizzati per l'analisi di tale sperimentazioni sono stati reperiti attraverso le pubblicazioni presentati nella bibliografia scientifica. Per quanto riguarda la sperimentazione australiana è stato possibile reperire tutti i dati on-line; infatti, la normativa in materia di OGM, il *Gene Technology Act 2000*, prevede una procedura per cui prima del rilascio commerciale di un qualsiasi OGM, sia la documentazione iniziale presentata dal notificante che le successive relazioni inerenti alla valutazioni del rischio, vengano sottoposte a consultazione pubblica.

Per gli Stati Uniti, la normativa vigente, Regulations (7 CFR 340), prevede quattro gruppi sperimentali differenti, per ognuno dei quali, in base al fattore di rischio che la PGM può avere sull'ambiente, dovrà essere effettuata da parte del notificante e delle autorità di controllo una valutazione più o meno accurata degli effetti indesiderati. Le sperimentazioni di VGM condotte fino ad ora negli Stati Uniti sono state notificate nel gruppo che prevede il livello minimo d'attenzione, assumendo che gli specifici eventi di trasformazione non presentino particolari rischi ambientali e non debbano perciò prevedere un *risk assessment*.

Questa situazione, ha reso più difficile trovare la documentazione relativa alle sperimentazioni. Infatti, dal *risk assessment*, che per obblighi legislativi deve essere pubblicato sul sito dell'autorità competente statunitense (U.S. Department of Agriculture - Animal and Plant Health Inspection Service), si possono in generale reperire numerose informazioni sulla sperimentazione specifica. Inoltre, per questo tipo di notifiche non è previsto un coinvolgimento del pubblico e la maggior parte delle informazioni sono considerate confidenziali. Per cui, non è stato possibile trovare materiale che permettesse di condurre un'accurata valutazione del rischio. Il materiale raccolto è stato reperito prevalentemente attraverso pubblicazioni scientifiche o negli atti dei convegni.

Anche la normativa canadese, *Directive dir2000-07*, così come per quella degli Stati Uniti, non prevede la possibilità per il pubblico di accedere alle informazioni riguardanti le sperimentazioni in campo, per cui, si è proceduto reperendo i materiali pubblicati sulle riviste scientifiche e negli atti dei convegni.

La normativa del Sud Africa, *The Genetically Modified Organisms Act, 1997 (Act No. 15 of 1997)*, prevede che il notificante debba rendere pubblico un riassunto della notifica in questione che dovrà essere pubblicato almeno su tre periodici nazionali. Il pubblico avrà tempo 30 giorni per inviare tutti i commenti a cui il notificante sarà obbligato a rispondere. Non essendo possibile effettuare un'approfondita analisi del rischio con le sole informazioni riportate nel riassunto della notifica, è stata effettuata un'integrazione delle informazioni sia attraverso le pubblicazioni scientifiche ed i materiali presenti negli atti di convegni specifici, oltre che attraverso le informazioni in possesso dei centri nazionali indipendenti e delle associazioni ambientaliste che hanno sollevato commenti a tale sperimentazione. Inoltre, come previsto dalla normativa vigente, è stata fatta specifica richiesta per l'accesso all'intera documentazione, escluse le parti confidenziali, al Dipartimento dell'Agricoltura del Sud Africa. Tale richiesta ha avuto esito negativo, infatti, è stato riscontrato che l'accesso alle informazioni previsto dalla normativa è previsto solo per le persone fisiche e giuridiche sudafricane e non per quelle straniere<sup>10</sup>.

Sebbene alcune pubblicazioni consultate riportassero la presenza di sperimentazioni di VGM anche in Georgia, Bulgaria, Chile, Israele e Cina<sup>11</sup>, un'accurata analisi ha permesso di evidenziare che tali ricerche sono attualmente condotte in ambiente confinato, situazione che non permette di avere informazioni approfondite sugli studi in corso. Comunque, vista l'esigenza di verificare i risultati in campo non si può escludere che verranno presto

---

<sup>10</sup> Esito della richiesta di accesso alle informazioni inoltrata al: Department of Agriculture - Senior Administrative Officer - Legal Services - Private Bag X250 – Pretoria – 0001.

<sup>11</sup> Runge F e Ryan BMS: The Global Diffusion of Plant Biotechnology: international adoption and research in 2004. University of Minnesota 2004. <http://www.apec.umn.edu/faculty/frunge/globalbiotech04.pdf>

notificate richieste per il rilascio deliberato nell'ambiente di tali viti.

In base alle evidenze riscontrate durante la fase di raccolta delle informazioni è possibile concludere che sebbene la partecipazione pubblica ai processi decisionali in fase di autorizzazione degli OGM sia diventata ormai un requisito presente nelle normative e nei trattati internazionali, l'effettiva possibilità di accedere alle informazioni necessarie per il suo compimento rimane tuttora molto limitata.

### ***3.3 Fase 3: risultati delle notifiche sperimentali***

In seguito saranno riportati i risultati ottenuti fino ad ora nelle sperimentazioni in campo di VGM suddivise per caratteri modificati.

## ***Vite geneticamente modificata per caratteri qualitativi.***

Continente: **Europa**

Nazione: **Italia**

**Tab 1:** Scheda sintetica.

<b>Istituto responsabile della sperimentazione</b>	Università Politecnica delle Marche - Dipartimento di Scienze Ambientali e delle Produzioni Vegetali. <a href="http://www.unian.it/">http://www.unian.it/</a>
<b>Titolo Progetto</b>	Prove in coltura protetta con vite ingegnerizzata per il carattere partenocarpia (costrutto pCarp-iaaM).
<b>Numero Notifica</b>	B/IT/99/26.
<b>Normativa di Riferimento</b>	Direttiva 90/220/CEE, Direttiva 2001/18/CE.
<b>Autorità competente al rilascio</b>	Ministero della Salute, Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio. <a href="http://bch.minambiente.it/">http://bch.minambiente.it/</a>
<b>Data di autorizzazione</b>	01-05-1999.
<b>Fine rilascio</b>	30-09-2004 (prorogata fino al 30-09-2006).
<b>Informazioni tecniche</b>	
<b>Cultivar</b>	Thompson seedless (Sultana) e Silcora innestate su portainnesto non transgenico.
<b>Metodo di trasformazione</b>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> .
<b>Gene inserito</b>	<i>iaaM, nptII</i> .
<b>Fenotipo</b>	Partenocarpico, tolleranza agli antibiotici.

### **Informazioni sulla notifica**

La notifica B/IT/99/26 riguarda la sperimentazione in campo di VGM per il carattere partenocarpia. La sperimentazione, che doveva essere inizialmente effettuata in Sicilia e confinata in serra, è stata successivamente condotta nella provincia di Ancona in condizioni di pieno campo.

La prova ha previsto la sperimentazione di cloni di uve da tavola della varietà Silcora (2 cloni) e Thompson seedless (1 clone) innestati su portainnesti non transgenici, allevati secondo la forma a doppio Guyot, su un'area di 500 m<sup>2</sup> e con una densità di impianto di circa 4 piante/m<sup>2</sup>.

I cloni delle due varietà sono stati trasformati, attraverso *Agrobacterium tumefaciens*, con il gene batterico *iaaM* di *Pseudomonas savastanoi*, posto sotto il controllo del promotore specifico di origine vegetale *DefH9* proveniente da *Antirrhinum majus* (Bocca di Leone) che consente di esprimere il gene negli ovuli della pianta. L'espressione del gene *iaaM* determina la conversione del triptofano in indolacetamide, precursore dell'auxina IAA, un fitormone il cui aumento determina nelle piante trasformate la capacità di allegare e di maturare i frutti in assenza di fecondazione (partenocarpia). Le VGM presentano inoltre il gene batterico *nptII*, che conferisce alle piante la tolleranza all'antibiotico Kanamicina. Il gene *nptII* è un gene marcatore grazie al quale è possibile selezionare le piante che hanno acquisito il/i geni di interesse. Infatti, le giovani piantine che non hanno subito la trasformazione genetica necrotizzano quando irrorate con l'antibiotico, mentre, quelle trasformate non subiscono alterazioni.

Lo scopo della sperimentazione è di valutare la capacità delle piante di allegare durante le coltivazioni extrastagionali senza ricorrere ai trattamenti esogeni con fitormoni alleganti e di analizzare altri caratteri quali: epoca di maturazione, dimensioni, forma e caratteristiche delle bacche.

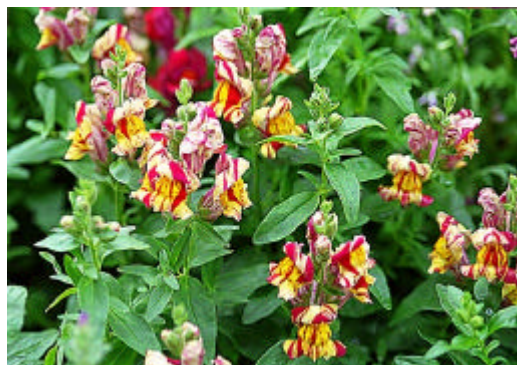
A livello commerciale le VGM trasformate con questo carattere consentirebbero:

- di evitare i trattamenti con fitormoni alleganti durante le coltivazioni extrastagionali;
- di ottenere frutti apireni;
- di evitare le perdite di produzione quando si verificano condizioni ambientali avverse che possono ostacolare o precludere la fecondazione;
- di ottenere un aumento della produttività.

**Foto 1:** *Pseudomonas savastanoi*.



**Foto 2:** Bocca di leone.



## **Riassunto della valutazione del rischio eseguita dal notificante**

### **Caratterizzazione molecolare**

#### Descrizione delle caratteristiche modificate

La modifica apportata attraverso *Agrobacterium tumefaciens* ha consentito l'inserzione nel genoma della pianta ospite di due nuovi geni che codificano per due proteine aventi funzioni diverse:

- il costrutto *defH9-iaaM-nos*, codificante per l'enzima triptofano-2-monossigenasi, che catalizza l'ossidazione del triptofano a indolacetamide, precursore dell'auxina IAA;
- il costrutto *nos-nptII-nos*, codificante per l'enzima neomicina fosfotrasferasi II, che catalizza la fosforilazione della Kanamicina.

Come conseguenza della modificazione genetica le PGM presentano i seguenti nuovi caratteri:

- fenotipo partenocarpico: capacità di allegare e completare la maturazione dei frutti in assenza di fecondazione;
- fenotipo tolleranza l'antibiotico Kanamicina: capacità di crescere *in vitro* su terreno di coltura contenente Kanamicina e di non mostrare clorosi sulle foglie quando spruzzate con una soluzione di Kanamicina.

Oltre ai due nuovi caratteri desiderati, generalmente le piante non presentano altre differenze fenotipiche significative rispetto alle piante di origine.

#### Informazioni sulle sequenze effettivamente inserite o eliminate

L'analisi fisica ottenuta mediante *mapping* di restrizione ed analisi Southern sull'*agrobacterium* usato per la trasformazione della VGM permette di escludere la presenza di sequenze incognite all'interno del T-DNA del plasmide pCarp-*iaaM* utilizzato per la trasformazione.

L'inserto è presente all'interno del DNA genomico ed è equivalente al T-DNA dei plasmidi inseriti.

Nella PGM non è stata apportata nessuna delezione.

L'analisi di *mapping* fisico condotta mediante Southern ha permesso di verificare che il T-DNA introdotto è integrato nel DNA genomico delle VGM.

Nelle linee di VGM è presente generalmente uno o due copie di T-DNA inserito all'interno del DNA genomico.

Non è stato possibile verificare la stabilità del transgene nelle piante T2.

### Informazioni sull'espressione dell'inserito

L'attività della trascrizione del gene *defH9-iaaM* è da valutare in questo esperimento mediante analisi RT-PCR e successivo Southern blotting sui trascritti mRNA di giovani fiori. Analisi quantitative saranno sviluppate per evidenziare il livello di espressione del gene *iaaM*.

Sarà valutato il profilo di espressione (solo in ovuli) e la correlazione tra espressione del transgene e la manifestazione del carattere partenocarpia.

### Informazioni su come la pianta trasformata differisce dalla pianta ricevente

La vite risulta una pianta rustica, con possibilità di colonizzare spontaneamente terreni diversi da quelli in cui viene sottoposta a coltivazione. La modificazione apportata non dovrebbe aumentare il comune tasso di riproduzione, disseminazione e sopravvivenza. La disseminazione diretta può essere ridotta per la mancanza o bassa germinabilità del seme. Il problema principale rimane la disseminazione del polline che può raggiungere vaste distanze di 8-10 Km.

### Stabilità genetica dell'inserito

Non è stato ancora possibile effettuare analisi sulla progenie, uniche verifiche sono state effettuate su piante clonate per micropropagazione.

### **Valutazione della sicurezza per l'uso alimentare umano e animale**

Nel frutto non sono presenti altri composti tossici per altri organismi che possono essere evidenziati dall'espressione di questo gene.

### **Valutazione dei rischi ambientali e piani di monitoraggio**

Viste le caratteristiche della modificazione genetica non sono prevedibili rischi per altre specie sessualmente compatibili e nemmeno per gli organismi target e non target.

Non sono stati analizzati i parametri relativi al flusso genico verticale ed orizzontale.

Al termine delle prove tutte le piante saranno trattate con erbicida sistemico e interrate. La zona sarà successivamente controllata per prevenire eventuali ricacci.

## **Relazione dei risultati ottenuti durante l'attività sperimentale**

### **Morfologia della pianta**

L'analisi relativa al numero di germogli fertili e del numero di infiorescenze per germoglio ha evidenziato la più elevata capacità di differenziare infiorescenze rispetto ai controlli del clone GM di Thompson, mentre tali differenze non sono state rilevate per i due cloni di Silcora.

Anche il numero di germogli produttivi generati da speroni alla base del tralcio risulta maggiore in Thompson, mentre non vi sono differenze per i cloni di Silcora.

E' stata rilevata una maggior produzione in peso per singolo germoglio per entrambi i cloni GM delle due varietà.

### **Morfologia del grappolo**

I parametri relativi alla morfologia del grappolo (lunghezza picciolo, lunghezza e larghezza grappolo, numero di laterali per grappolo e loro lunghezza), al peso medio dell'acino (peso relativo, peso medio del grappolo e numero acini per grappolo), al numero di grappoli per pianta e al peso totale di grappoli per pianta (peso totale della produzione per pianta) hanno evidenziato che:

- nel clone GM di Thompson è stato osservato un significativo aumento del numero di grappoli prodotti per pianta rispetto al controllo. Inoltre, i grappoli del clone GM si sono distinti per il peso più elevato e le maggiori dimensioni in lunghezza e larghezza, ciò associato ad un significativo aumento del numero di acini del clone GM rispetto al controllo. In queste condizioni, il peso dell'acino ha mostrato, invece, una riduzione significativa rispetto al controllo.
- nel clone GM della cultivar Silcora non sono state evidenziate differenze significative rispetto al controllo né per quanto riguarda il numero di grappoli prodotti per pianta, né per il peso dell'acino, ma si sono riscontrati incrementi significativi nel peso del grappolo e nel numero di acini per grappolo rispetto al controllo. A livello morfologico è stato evidenziato un minimo incremento della lunghezza del grappolo, ed un aumento significativo nella larghezza del grappolo del clone GM rispetto al controllo.

### **Analisi dei mosti**

I parametri considerati per l'analisi dei mosti sono stati: il contenuto di zuccheri, l'acidità titolabile, il pH, il contenuto di acido malico, citrico e tartarico, la capacità antiossidante ed il contenuto di polifenoli totali. Per il clone di Thompson sono state rilevate riduzioni significative per il valore di acidità totale rispetto al controllo, mentre, il valore degli

zuccheri totali, seppur lievemente superiore, non è risultato significativamente diverso dal controllo. Il clone GM di Silcora si è invece caratterizzato da un minor tenore di zuccheri totali e da un'acidità totale maggiore rispetto al controllo.

### **Interazioni con l'ambiente**

La ridotta efficienza di germinazione della varietà Silcora e la caratteristica assenza di semi della varietà Thompson non hanno permesso di studiare il flusso genico verticale intraspecifico tra le VGM e i rispettivi controlli presenti nell'appezzamento sperimentale.

Non sono stati effettuati studi sul trasferimento genico orizzontale verso i microrganismi del suolo ne tantomeno le possibili interazioni della pianta con le micorrizze (intensità della micorrizzazione, frequenza degli arbuscoli radicali ecc).

### **Considerazioni sulla notifica**

I risultati della sperimentazione<sup>12</sup> hanno confermato, come dimostrato in diversi lavori condotti su altre specie<sup>13</sup>, che l'espressione del costrutto genico *defH9-iaaM-nos* da cui ne consegue l'aumento dell'auxina IAA nell'ovario, può contribuire ad aumentare la produttività delle piante, aumentando sia il numero di infiorescenze per pianta, che il numero di fiori per infiorescenza oltre che il peso dei frutti. Per quanto riguarda il clone della varietà GM di Thompson, le differenze di produzione totale rispetto al controllo non GM sono dovute sia ad un maggior numero di grappoli e di acini per grappolo che alla maggior lunghezza e larghezza dei grappoli. Per quanto riguarda invece i due cloni GM di Silcora, l'incremento di produzione totale è stato causato da un aumento di acini per grappolo, mentre non sono state riscontrate sostanziali differenze per quanto riguarda sia il numero di grappoli che la loro lunghezza e larghezza. Anche per l'analisi dei mosti, i dati ottenuti dai cloni delle due varietà GM testate sono stati alquanto discordanti. Infatti, mentre il clone di Thompson presentava una minor acidità totale e, seppur lievemente, un maggior contenuto di zuccheri rispetto al controllo, nei dati ottenuti nel clone di Silcora GM la situazione era opposta.

I dati ottenuti non permettono di chiarire quali siano le cause di tali differenze che potrebbero essere imputabili sia a una variazione naturale dovuta al *background* genico delle

---

<sup>12</sup> Costantini E, Landi L, Silvestroni O, Pandolfini T, Spena A, Mezzetti B: Auxin synthesis-encoding transgene enhances grape fecundity. *Plant Physiology Preview*. Published on March 2, 2007, as DOI:10.1104/pp.106.095232. <http://www.plantphysiol.org/cgi/rapidpdf/pp.106.095232v1>

<sup>13</sup> Mezzetti B, Landi L, Pandolfini T, Spena A: The *defH9-iaaM* auxin-synthesizing gene increases plant fecundity and fruit production in strawberry and raspberry. *BMC Biotechnology* 2004, 4:4.

stesse cultivars, oppure a cause conseguenti ad effetti indesiderati della trasformazione genica. Infatti, oltre a non essere stato valutato il profilo di espressione del costrutto genico *defH9-iaaM-nos*, anche l'analisi molecolare condotta non è in grado di escludere la presenza di mutazioni genomiche che potrebbe avere effetti indesiderati sul fenotipo della pianta ospite. La sola analisi Southern effettuata per valutare la presenza nel genoma di sequenze indesiderate può sottostimare le possibili mutazioni, delezioni o riarrangiamenti nel sito di inserzione conseguenti alla trasformazione genetica. Al fine di evitare effetti indesiderati e potenzialmente dannosi sul fenotipo della pianta ospite, un'accurata caratterizzazione delle possibili mutazioni nel sito di inserzione dovrebbe prevedere la comparazione tra la sequenza transgenica utilizzata per la trasformazione e la sequenza target della pianta non transgenica prima dell'inserzione<sup>14</sup>. A livello molecolare non è inoltre stata valutata la stabilità del transgene, importante per verificare la possibilità per la pianta di mantenere il fenotipo desiderato nelle generazioni successive oltre che per evitare effetti indesiderati conseguenti alla modificazione genetica.

A livello ambientale non è stato monitorato il flusso genico verticale verso le varietà di vite non GM, ed, inoltre, non sono state effettuate analisi degli effetti del transgene e del prodotto transgenico sul suolo.

---

<sup>14</sup> Wilson AK, Latham JR, Steinbrecher RA: Transformation-induced mutations in transgenic plants. Analysis and biosafety implications. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews* 2006, 23:209-234.

Continente: **Oceania**

Nazione: **Australia**

**Tab 2:** scheda sintetica.

<b>Istituto responsabile della sperimentazione</b>	Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation. <a href="http://www.csiro.au/csiro/channel/pch4i.html">http://www.csiro.au/csiro/channel/pch4i.html</a>
<b>Titolo Progetto</b>	Prove di campo con vite geneticamente modificata: valutazione del colore degli acini, del contenuto zuccherino, dello sviluppo dei fiori e dei frutti e del flusso genico.
<b>Numero Notifica</b>	Notifica No. DIR 031/2002.
<b>Normativa di Riferimento</b>	Gene Technology Act 2000.
<b>Autorità competente al rilascio</b>	Australian Government - Department of Health and Ageing - Office of the Gene Technology Regulator. <a href="http://www.ogtr.gov.au/index.htm">http://www.ogtr.gov.au/index.htm</a>
<b>Data di autorizzazione</b>	20-06-2003.
<b>Fine rilascio</b>	20-06-2008.
<b>Informazioni tecniche</b>	
<b>Cultivar</b>	Shiraz, Sultana, Cabernet Sauvignon, Chardonnay.
<b>Metodo di trasformazione</b>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> .
<b>Gene inserito</b>	<i>ppo, sh4, ufgt, dfr, inv, gfp, uidA, nptII, hph</i>
<b>Fenotipo</b>	Modificazione dello sviluppo e della qualità del fiore e del frutto, resistenza agli antibiotici, geni marcatori.

### **Informazioni sulla notifica**

La notifica N. DIR 031/2002 riguarda la sperimentazione in campo di vite geneticamente modificata per diversi caratteri qualitativi tra cui: diminuzione dell'imbrunimento delle bacche, alterazione della pigmentazione, modificazione della composizione zuccherina ed alterazione dello sviluppo dei fiori e dei frutti oltre che con geni reporter per la valutazione del flusso genico verticale e geni per la resistenza agli antibiotici utilizzati per la selezione dei cloni trasformati.

La prova ha previsto la sperimentazione su una superficie pari a 0.38 ettari, di 490 piante

appartenenti a 11 cloni, principalmente di uve da vino, delle varietà Shiraz, Cabernet Sauvignon, Chardonnay e Sultana<sup>15</sup>. Gli 11 cloni sono stati così trasformati:

- 4 cloni sono stati modificati con il gene *ppo* con lo scopo di diminuire il processo di imbrunimento delle bacche;
- 2 cloni con il gene *dfr* e 1 con il gene *sh4* per l'alterazione della pigmentazione delle bacche;
- 1 clone con il gene *inv* coinvolto nella regolazione del contenuto zuccherino;
- 1 clone con il gene *ugt* per la modificazione dello sviluppo del fiore e del frutto;
- 2 cloni con i geni reporter *uidA* e *gfp* per valutare il flusso genico verticale.

Tutte le piante, trasformate per mezzo di *Agrobacterium tumefaciens*, oltre ai geni di interesse presentano anche i geni *nptII* e *hph* che conferiscono la resistenza agli antibiotici Kanamicina e Igromicina, caratteristica necessaria per la selezione delle cellule trasformate. Tutti i geni sono stati posti sotto il controllo di un promotore costitutivo (CaMV o SCSV). Lo scopo della sperimentazione è quello di valutare le *performance* agronomiche ed il comportamento dei geni inseriti. Con questa ricerca si intende infatti approfondire i meccanismi di funzionamento dei geni coinvolti nell'accumulo di antociani e tannini e, di quelli implicati nello sviluppo del fiore e del frutto. Tali modificazioni a livello commerciale consentirebbe di produrre cloni di vite in grado di esprimere un contenuto di zuccheri, antociani e tannini adattabile alle diverse tipologie di vinificazione oltre che ad avere uve da tavolo con caratteristiche organolettiche migliori. Inoltre, i dati provenienti dalla valutazione del flusso genico potranno essere utilizzati per l'attuazione di futuri piani di coesistenza tra VGM, colture tradizionali e biologiche.

## **Riassunto della valutazione del rischio eseguita dal notificante**

### **Caratterizzazione molecolare**

#### Descrizione delle caratteristiche modificate

La modificazione genetica apportata alle piante attraverso *Agrobacterium tumefaciens* ha consentito l'inserzione nel genoma di diversi geni codificanti per le seguenti caratteristiche:

---

<sup>15</sup> Varietà bianca largamente coltivata come uva da tavola, soprattutto nella versione essiccata. In parte vinificata per produrre vini da taglio anche in California, dove è chiamata Thompson Seedless, ed Australia. In Sud Africa è pure molto diffusa e viene utilizzata principalmente per la produzione di distillati e mosto concentrato.

### *Il gene ppo per la regolazione dell'imbrunimento dei frutti*

Il gene *ppo*, proveniente dalla varietà di vite Sultana, codifica per l'enzima fenol ossidasi (PPO), sostanza coinvolta nel metabolismo dei composti fenolici.

L'enzima PPO produce nella pianta l'ossidazione dei composti fenolici in composti chinonici molto reattivi che prontamente polimerizzano, formando zone di pigmentazione marrone sui frutti e sulle foglie da cui originano in seguito ferite e lacerazioni che causano la riduzione della qualità dei frutti.

L'enzima PPO viene espresso in natura principalmente nei tessuti in fase di sviluppo di radici, foglie e bacche, sebbene a maturità si riscontrino ancora quantità elevate dell'enzima nella bacca in conseguenza di uno scarso riciclo della sostanza.

Le funzioni metaboliche di tale enzima sono tuttora sconosciute sebbene si pensi sia coinvolto nei processi di sviluppo del fiore e del frutto, oltre che per la difesa dalle malattie. Infatti, in alcune colture, la variazione del livello di fenoli era responsabile di una maggior resistenza alle malattie batteriche<sup>16</sup>.

Lo scopo della modificazione genetica è quello di silenziare l'attività di questo gene al fine di diminuire la presenza dell'enzima PPO nella bacca e quindi il relativo processo di imbrunimento.

### *Il gene dfr per la regolazione della sintesi di antocianine*

Il gene *dfr*, proveniente dalla varietà Lambrusco, codifica per l'enzima diidroflavonolo-4-reduttasi (DFR), sostanza coinvolta nel metabolismo dei flavonoidi, antocianine e tannini, sostanze che nella pianta sono in gran parte responsabili della formazione dei pigmenti rossi e blu. L'enzima DFR catalizza la conversione dei diidroflavonoli a leucoantocianine e leucodelphinidine che fungono da substrato nel processo di biosintesi delle antocianine e dei tannini.

Le antocianine sono i pigmenti predominanti nella buccia delle uve rosse e determinano il colore dei vini prodotti da tali uve. Antocianine e tannini sono anche fattori importanti nei processi di fermentazione e nel determinare il livello di astringenza ed il colore dei vini rossi.

L'enzima DFR viene espresso nella maggior parte dei tessuti durante il ciclo vitale della pianta, anche se il livello aumenta particolarmente nella buccia e nella polpa dei frutti a maturazione.

---

<sup>16</sup> Li L. e Steffens JC: Overexpression of polyphenol oxidase in transgenic tomato plants results in enhanced bacterial disease resistance. *Planta* 2002, 215(2): 239-247.

Lo scopo della modificazione è quello di silenziare i geni *dfi*, come avvenuto per l'enzima PPO, in modo da diminuire la sintesi di leucoantocianine e leucodelfinidine.

#### *Il gene ufgt per la regolazione della sintesi di antocianine*

Il gene *ufgt*, proveniente dalla varietà Shiraz, codifica per l'enzima UDP glucosio-flavonoide 3-*o*-glucosiltransferasi (UFGT), enzima coinvolto in uno degli ultimi passi della via biosintetica che porta alla formazione delle antocianine. In particolare, la funzione dell'enzima è quella di convertire le cianidine e le delfinidine nei corrispondenti derivati glucosilati, le antocianine.

L'enzima UFGT viene espresso nella buccia quando inizia la maturazione nelle uve colorate, suggerendo che l'attività di tale enzima è la principale causa della colorazione delle uve.

La qualità e la quantità del colore delle bacche è un fattore cruciale nell'influenzare la qualità del vino. Alcuni studi imputano anche un coinvolgimento dell'enzima nel processo di fotoprotezione importante per il processo di sviluppo dei tessuti della pianta. La pigmentazione svolge inoltre un ruolo importante anche nei processi di impollinazione e di dispersione dei semi.

Lo scopo della modificazione genetica è quello di incrementare il contenuto di antocianine nelle bucce, fattore desiderabile per aumentare la qualità delle uve.

#### *Il gene inv per la regolazione del contenuto di zuccheri*

Il gene *inv*, proveniente dalla varietà Sultana e codifica per l'invertasi  $\beta$ -*fructofuranosidasi*, un enzima coinvolto nella regolazione della composizione zuccherina nei frutti.

Nella vite, il disaccaride saccarosio, è prodotto nei tessuti fotosintetici e trasportato nelle bacche dove viene scomposto nei monosaccaridi glucosio e fruttosio che si accumulano durante la fase di maturazione. L'enzima, la cui espressione inizia durante la formazione del fiore e continua durante il processo di maturazione, sembra essere coinvolto nella scomposizione del saccarosio negli zuccheri semplici, fruttosio e glucosio. Il silenziamento dell'enzima invertasi potrebbe migliorare il bilancio zuccherino da cui ne conseguirebbe un miglioramento dell'aroma e della qualità delle bacche. Infatti, attraverso la riduzione dell'espressione dell'enzima ci si aspetta un aumento dell'accumulo di saccarosio nelle bacche a discapito del glucosio e del fruttosio. Tale alterazione provocherebbe la modificazione del bilancio osmotico in favore di una riduzione dell'assorbimento di acqua da cui ne deriverebbero frutti più piccoli con un maggior contenuto di materia secca (zuccheri, ecc.).

Si pensa inoltre che gli zuccheri esosi, prodotti dall'enzima invertasi, siano coinvolti nella

regolazione dello sviluppo e nei meccanismi di difesa della pianta. In carota, infatti, il silenziamento dell'enzima ha provocato l'alterazione della crescita e dello sviluppo<sup>17</sup>, mentre, in tabacco ha generato piante sterili dovuto ad un'alterazione dello sviluppo del polline<sup>18</sup>. Lo scopo della modificazione è quello di produrre bacche con succo di sapore e colore più intenso.

#### *Il gene Sh4 per la regolazione dello sviluppo del fiore e del frutto*

Il gene *Sh4* viene espresso durante la fase finale dello sviluppo del fiore e continua durante la fase di sviluppo del frutto. L'analisi dell'espressione di questo gene ha evidenziato che la sua attività svolge un ruolo importante durante lo sviluppo del fiore e del frutto.

L'inserzione nella pianta di una copia addizionale del gene proveniente dalla varietà Shiraz ha lo scopo di valutare l'attività e il meccanismo di funzionamento del gene per produrre piante con fiori e frutti che si adattino alle esigenze dell'industria.

#### *Il gene gfp (green fluorescent protein)*

Il gene *gfp*, proveniente dalla medusa *Aequorea victoria* (Foto 3), è un gene marcatore che permette di identificare le piante geneticamente modificate quando esposte ai raggi ultravioletti.

Lo scopo della modificazione genetica è quello di valutare il flusso genico tra le VGM e le corrispettive non trasformate.

#### *Il gene uidA ( $\beta$ -glucuronidase)*

Il gene *uidA*, proveniente dal batterio *Escherichia coli*, codifica per l'enzima  $\beta$ -glucuronidasi (GUS). Il gene GUS è un gene marcatore utilizzato in laboratorio per identificare i tessuti della pianta nei quali la proteina è espressa. Infatti, l'enzima GUS fa assumere ad un substrato incolore una colorazione blu permettendo di identificare i tessuti che hanno espresso il gene (Foto 4).

---

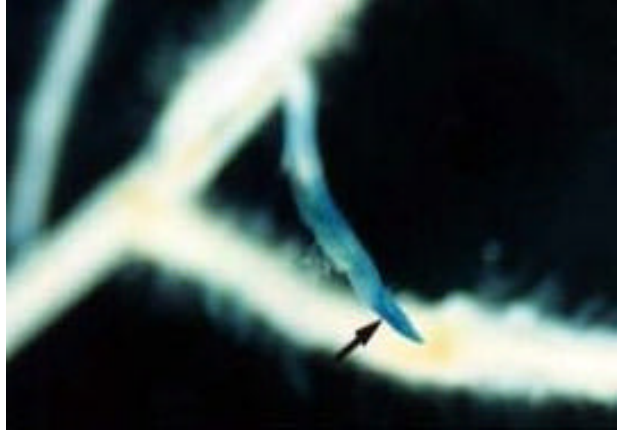
<sup>17</sup> Tang GQ, Luscher M, Sturm A: Antisense repression of vacuolar and cell wall invertase in transgenic carrot alters early plant development and sucrose partitioning. *The Plant Cell* 1999, 11: 177-189.

<sup>18</sup> Goetz M, Godt DE, Guivarc'h A, Kahmann U, Chriqui D, Roitsch T: Induction of male sterility in plants by metabolic engineering of the carbohydrate supply. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2001, 98: 6522-6527.

**Foto 3:** *Aequorea victoria*.



**Foto 4:** pianta trasformata con il gene *uidA*.



#### *Geni di resistenza agli antibiotici (nptII e hph)*

Tutti gli 11 eventi di trasformazione sono stati cotrasformati con i geni *nptII* o *hph* che conferiscono alla pianta la resistenza agli antibiotici aminoglicosidici. I geni con la resistenza agli antibiotici sono utilizzati per selezionare le piante trasformate durante le fasi iniziali di laboratorio.

Il gene *nptII*, derivante dal trasposone Tn5 di *Echerichia coli*, codifica per l'enzima neomicina fosfotransferasi II (NPTII) che conferisce la resistenza agli antibiotici aminoglicosidici come Kanamicina, Gentamicina e Neomicina. Il gene *hph*, isolato da *E. coli* codifica per l'enzima Higromicina B fosfotransferasi che conferisce la resistenza all'antibiotico Higromicina B.

**Tab. 3:** caratteristiche dei geni inseriti nei cloni trasformati.

Gene target	Geni	Promotore	Terminatore	Organismo donatore	Fenotipo
<i>ppo</i>	<i>ppo</i> (senso)	CaMV35S	ocs	<i>Vitis vinifera</i>	Silenziamento genico: diminuzione dell'imbrunimento.
	<i>nptII</i>	nos	nos o ocs	Tn5 di <i>E. coli</i>	Tolleranza antibiotici aminoglicosidici.
	<i>hph</i>	nos	nos o ocs	<i>E. coli</i>	Tolleranza antibiotico Igromicina.
<i>ppo</i>	<i>ppo</i> (antisenso)	CaMV35S	ocs	<i>Vitis vinifera</i>	Silenziamento genico: diminuzione dell'imbrunimento.
	<i>nptII</i>	nos	nos o ocs	Tn5 di <i>E. coli</i>	Tolleranza antibiotici aminoglicosidici.
	<i>hph</i>	nos	nos o ocs	<i>E. coli</i>	Tolleranza antibiotico Igromicina.
<i>ppo</i>	<i>ppo</i> (senso e antisenso)	CaMV35S, Sc4	Sc4, ocs	<i>Vitis vinifera</i>	Silenziamento genico: diminuzione dell'imbrunimento.
	<i>nptIIcat</i> modificato	Sc1	Sc3	Tn5 di <i>E. coli</i> <i>Ricinus communis</i>	Tolleranza antibiotici aminoglicosidici.
<i>ppo</i>	<i>ppo</i> (senso e antisenso)	Sc7, Sc4	Sc4, Sc5	<i>Vitis vinifera</i>	Silenziamento genico: diminuzione dell'imbrunimento.
	<i>nptIIcat</i> modificato	Sc1	Sc3	Tn5 di <i>E. coli</i> <i>Ricinus communis</i>	Tolleranza antibiotici aminoglicosidici.
<i>ufgt</i>	<i>ufgt</i> (senso)	CaMV35S	ocs	<i>Vitis vinifera</i>	Aumento dell'espressione genica: alterazione del colore della buccia.
	<i>nptII</i>	nos	nos	Tn5 di <i>E. coli</i>	Tolleranza antibiotici aminoglicosidici.
<i>dfr</i>	<i>dfr</i> (senso e antisenso con introni)	CaMV35S	ocs	<i>Vitis vinifera</i>	Silenziamento genico: alterazione della sintesi di antocianine e tannini.
	<i>nptII</i>	nos	nos	Tn5 di <i>E. coli</i>	Tolleranza antibiotici aminoglicosidici.
<i>dfr</i>	<i>dfr</i> (senso e antisenso con introni)	CaMV35S	ocs	<i>Vitis vinifera</i>	Silenziamento genico: alterazione della sintesi di antocianine e tannini.
	<i>nptIIcat</i> modificato	Sc1	Sc3	Tn5 di <i>E. coli</i> <i>Ricinus communis</i>	Tolleranza antibiotici aminoglicosidici.
<i>inv</i>	<i>inv</i> (senso e antisenso con introni)	CaMV35S	ocs	<i>Vitis vinifera</i>	Silenziamento genico: alterazione della sintesi zuccherina nei frutti.
	<i>nptII</i>	nos	nos	Tn5 di <i>E. coli</i>	Tolleranza antibiotici aminoglicosidici.
<i>sh4</i>	<i>sh4</i> (senso)	CaMV35S	ocs	<i>Vitis vinifera</i>	Aumento dell'espressione genica: alterazione sviluppo fiori e frutti.
	<i>nptII</i>	nos	nos	Tn5 di <i>E. coli</i>	Tolleranza antibiotici aminoglicosidici.
<i>uidA</i>	<i>uidA</i>	CaMV35S	ocs	<i>Vitis vinifera</i>	Gene reporter.
	<i>nptII</i>	nos	nos o ocs	Tn5 di <i>E. coli</i>	Tolleranza antibiotici aminoglicosidici.
	<i>hph</i>	nos	nos o ocs	<i>E. coli</i>	Tolleranza antibiotico Igromicina.
<i>gfp</i>	<i>gfp</i> (senso)	CaMV35S	nos	<i>Aequorea victoria</i>	Gene reporter
	<i>nptII</i>	nos	nos	Tn5 di <i>E. coli</i>	Tolleranza antibiotici aminoglicosidici.

### Caratterizzazione delle sequenze inserite e stabilità della modificazione genetica

L'analisi Southern blot effettuata su un campione di 46 piante (46/490) ha confermato la presenza dei geni nel genoma delle piante, evidenziando che sono presenti da 1 a 6 copie geniche a seconda dell'evento di trasformazione considerato. Informazioni più approfondite sul sito di inserzione e il numero di copie geniche saranno eseguite sulle linee che verranno selezionate per la sperimentazione di tali piante su larga scala.

### Informazioni sull'espressione dell'inserito

Non è ancora stato possibile valutare l'espressione dei geni inseriti nelle piante trasformate.

### Valutazione degli effetti pleiotropici che possono derivare dalla modificazione genetica

Un singolo gene può influenzare geni o tratti genetici multipli a volte non correlati e distanti dalla sequenza genica inserita. Questo fenomeno, conosciuto come pleiotropia, può essere all'origine di effetti inattesi come per esempio la modificazione delle caratteristiche agronomiche. Sebbene le analisi condotte abbiano evidenziato che le caratteristiche fenotipiche delle VGM non differiscono dalle corrispettive piante di vite isogeniche, il possibile coinvolgimento dei geni nei meccanismi di difesa della pianta, di protezione dai raggi solari e in numerosi altri processi correlati con la crescita e lo sviluppo della vite, può potenzialmente causare effetti pleiotropici non previsti. Per cui, tali effetti dovranno essere analizzati prima di procedere con l'immissione su larga scala dei cloni di vite geneticamente modificati.

## **Tossicità ed allergenicità verso l'uomo e gli altri organismi viventi**

### Potenziale tossico o allergenico dei geni introdotti

L'uomo e gli animali consumano i grappoli e altre parti della pianta da oltre 5000 anni. Da allora non ci sono evidenze che dimostrino la possibile tossicità della pianta verso questi organismi.

Sebbene alcuni autori abbiano riportato casi di reazioni allergiche o di intolleranza dovute al consumo di uva, parti di essa, oppure di vino, si pensa che la causa sia dovuta principalmente ad additivi chimici, istamine o proteine prodotte da lieviti presenti o utilizzati nel processo di trasformazione dei prodotti derivati.

Per quanto riguarda i possibili effetti di tossicità o allergenicità dovuti alla sovraespressione o al silenziamento dell'enzima PPO, non sono prevedibili effetti sull'organismo umano, visto che nei genotipi non trasformati l'espressione dell'enzima è già molto variabile. La variazione del livello di espressione del gene *ppo*, coinvolto nei meccanismi di difesa della

pianta, potrebbe invece avere effetti negativi sugli organismi fitofagi, visto il possibile coinvolgimento dell'enzima nei processi di difesa della pianta.

Non ci sono evidenze che l'attività dell'enzima SH4 possa avere effetti indesiderati sugli organismi viventi, sebbene vi siano in bibliografia poche informazioni disponibili a riguardo. I pochi dati disponibili riportano che la sovraespressione del gene in tabacco ha provocato la modificazione della morfologia del fiore<sup>19</sup>.

I geni *dfp* e *ufgt* sono coinvolti nella via biosintetica per la formazione di antociani e tannini, sostanze implicate nella determinazione di numerosi caratteri della pianta. Il silenziamento o la sovraespressione di questi geni potrebbe potenzialmente risultare nella produzione di numerosi metaboliti secondari indesiderati. Quindi, il livello di espressione di tannini e antociani ed i possibili effetti indesiderati sono fattori che dovranno essere valutati prima di procedere alla sperimentazione su larga scala delle VGM. Diversi studi dimostrano ad esempio l'effetto negativo dovuto ad un'elevata quantità di tannini sul livello di appetibilità e digeribilità dei cibi<sup>20,21,22</sup>. Altri dimostrano invece l'effetto benefico sulla salute umana di un apporto moderato di tannini. Inoltre, antociani e tannini svolgono un ruolo importante nella protezione dai raggi X e ultravioletti, oltre che come sostanze antitumorogene e nella determinazione della pigmentazione<sup>23</sup>.

Il maggior accumulo di saccarosio che può essere potenzialmente causato dal silenziamento del gene *inv* non dovrebbe produrre particolari effetti sulla salute visto il diffuso utilizzo di questo zucchero.

Per quanto riguarda la potenziale tossicità o allergenicità dei geni *nptII* e *hph* per la tolleranza agli antibiotici, diversi studi dimostrano l'innocuità del gene *nptII*, mentre, esistono poche evidenze a riguardo del gene *php*.

Gli studi condotti sul gene marcatore *uidA* hanno dimostrato l'innocuità della proteina verso gli animali testati.

---

<sup>19</sup> Boss PK, Davies C, Robinson SP: Anthocyanin composition and anthocyanin pathway gene expression in grapevine sports differing in berry skin colour. Australian Journal of Grape and Wine Research 1996, 2: 163-170.

<sup>20</sup> Reddy NR, Pierson MD, Sathe SK, Salunkhe DK: Dry bean tannins: a review of nutritional implications. J Am Oil Chem Soc 1985, 62: 541-549.

<sup>21</sup> Deshpande SS, Sathe SK, Salunkhe DK: Chemistry and safety of plant polyphenols. In M Friedman, ed "Nutritional and toxicological aspects of food safety". Plenum Press, New York 1984, pp 457-495.

<sup>22</sup> Salunkhe DK, Jadhav SJ, Kadam SS, Chavan JK: Chemical biochemical and biological significance of poly phenols in cereals and legumes. Crit Rev Food Sci Nutr 1982, 17: 277-305.

<sup>23</sup> Yamakoshi J, Kataoka S, Koga T, Ariga T: Proanthocyanidin-rich extract from grape seeds attenuates the development of aortic atherosclerosis in cholesterol fed rabbits. Atherosclerosis 1999, 142: 139-149.

### Potenziale esposizione dell'uomo, degli animali e dei microrganismi del suolo

L'esposizione all'inalazione del polline da parte delle persone che operano all'interno del campo sperimentale è probabilmente alta. Per questo, vista la mancanza di informazioni relative alla tossicità/allergenicità del polline, i fiori delle VGM saranno incappucciati prima dell'antesi per evitare la sua dispersione.

Al fine di valutare i possibili effetti di tossicità/allergenicità delle bacche e dei mosti prodotti, oltre all'analisi chimica delle bacche, si provvederà a sottoporre 12 persone al consumo di mosti derivati dalle VGM.

Per limitare l'esposizione degli animali selvatici, la prova sarà circondata da una recinzione alta 1 m ed ogni pianta sarà coperta da una rete anti uccelli (Foto 5). Inoltre, la prova sarà circondata da 4,5 m di terreno in cui saranno coltivate viti convenzionali con lo stesso periodo di fioritura delle VGM che saranno quindi più facilmente accessibili agli animali che dovessero eventualmente oltrepassare la recinzione.

L'esposizione dei microrganismi del suolo verso i geni o gli essudati radicali provenienti dalla pianta o parti di essa è alta. Comunque, vista la presenza in natura dei geni inseriti nelle VGM e la limitata superficie della prova sperimentale, i rischi derivati dovrebbero risultare contenuti. In ogni modo, al fine di ridurre ulteriormente il rischio, tutti i residui delle PGM verranno rimossi e distrutti.

In base a quanto considerato è possibile concludere che i rischi per l'uomo e gli altri organismi risultano molto bassi o improbabili. Sarà comunque importante verificare la tossicità verso gli organismi non target (uccelli e altri animali) conseguenti all'aumento del livello di tannini nelle bacche e gli effetti indesiderati sulla suscettibilità alle malattie conseguenti al silenziamento o alla sovraespressione dell'enzima PPO.

**Foto 5:** protezione dei filari con reti antiuccelli.



## **Valutazione dei rischi ambientali**

### Persistenza ed invasività della pianta nell'ambiente ricevente

Considerando che:

- la vite presenta caratteristiche in grado di promuovere la persistenza nell'ambiente come: la dormienza dei semi e la loro capacità di essere trasportati a lunghe distanze dagli uccelli ed altri agenti abiotici e biotici e, la capacità di originare piante indesiderate (*Volunteer*) tra i filari all'interno del vigneto;
- le piante trasformate differiscono dalle isogeniche per l'espressione di caratteri coinvolti in funzioni che sono potenzialmente in grado di aumentare la persistenza delle VGM nell'ambiente ricevente (resistenza agli insetti e agli organismi patogeni, biologia dell'impollinazione e della riproduzione, incremento o diminuzione dell'appetibilità delle bacche).

È possibile che le caratteristiche alterate dalla modificazione genetica possano risultare in un aumento della capacità di sopravvivenza nell'ambiente che potrebbe avere conseguenze per la biodiversità locale. Comunque, considerando la limitata superficie della sperimentazione e che l'accumulo dei semi nel suolo sarà evitato raccogliendo i grappoli manualmente, evitando la raccolta meccanica che potrebbe essere causa di dispersione dei semi, il rischio che la sperimentazione conduca agli effetti citati può considerarsi basso.

Tali effetti dovranno comunque essere analizzati prima di procedere con l'immissione su larga scala dei cloni di vite geneticamente modificati.

### Trasferimento genico verso altri organismi

Per quanto riguarda il trasferimento di geni attraverso il polline, vista l'assenza di viti selvatiche sessualmente compatibili nell'areale australiano e considerando le grandi dimensioni del polline di vite, per le quali non è in grado di raggiungere grandi distanze e la limitata dispersione da parte degli insetti, il rischio di impollinazione incrociata con specie sessualmente compatibili risulta molto basso.

Per quanto riguarda il trasferimento dei geni attraverso la disseminazione dei semi, gli uccelli, in particolare i passeriformi (*Passer domesticus*, *Sturnus vulgaris*, ecc.), rappresentano la principale causa di diffusione (Foto 6 e 7). Alcuni studi dimostrano infatti che questi

possono disseminare i semi a distanze pari a circa 25 Km<sup>24</sup>. Vi sono invece poche informazioni relative alla capacità di dispersione da parte degli altri mammiferi. Inoltre, anche pioggia e vento sono fattori che possono provocare la dispersione dei semi. Nel caso in cui la dispersione dei semi avvenga, questi sarebbero potenzialmente in grado di germinare e le piante GM originate potrebbero raggiungere la fase riproduttiva e contaminare piante sessualmente compatibili, causando potenzialmente un danno per la salute umana e per la biodiversità. In base all'elevata probabilità relativa alla dispersione dei semi e alla limitata superficie della prova sperimentale, il rischio di trasferimento genetico si considera moderato.

Al fine di evitare il trasferimento genetico che può derivare dalla rigenerazione di parti vegetative provenienti dalle VGM, tutti i resti della lavorazione del vigneto saranno rimossi e devitalizzati. In particolare, i potenziali rischi del trasferimento genico potrebbero riguardare:

- i geni di resistenza agli antibiotici, il cui trasferimento potrebbero incrementare la resistenza agli antibiotici da parte dei batteri presenti nella microflora intestinale e nel suolo. Sebbene sussista tale rischio, si considera che visto lo scarso impiego degli antibiotici aminoglicosidici nel campo clinico e veterinario, il rischio derivato sia molto basso, vista anche la limitata dimensione della prova sperimentale;
- le sequenze regolatrici dei geni (promotore) potrebbero condurre ad effetti inattesi nel caso in cui tali sequenze alterassero l'espressione dei geni endogeni da cui ne potrebbe derivare la manifestazione di caratteristiche indesiderate. L'impatto relativo dipenderà dall'intensità e della qualità delle stesse. Ad esempio, alcuni scienziati hanno affermato che la presenza del promotore CaMV 35S presente nelle VGM, potrebbe ricombinarsi con il genoma dei virus che le infettano, dando origine a nuovi ceppi virali o riattivando la virulenza di virus non patogeni<sup>25</sup>;
- il potenziale tossico dei geni sugli altri organismi che rimane tuttora un fattore da valutare. Comunque, considerando che i geni inseriti sono ampiamente presenti in natura, tale rischio si considera limitato.

---

<sup>24</sup> Fraser HW, Fisher KH, Frensch I: Bird Control on Grape and Tender Fruit Farms. Ontario Ministry of Agriculture, Food and rural affairs 1998, pp. 1-15.  
<http://www.omafra.gov.on.ca/english/engineer/facts/98-035.htm>

<sup>25</sup> Ho M, Ryan A, Cummins J: Dormant viruses can be reactivated with genetically modified organisms. Third world network press release. 17 novembre 1999.  
<http://www.twinside.org.sg/title/dormant-cn.htm>

**Foto 6:** *Passer domesticus*.



**Foto 7:** *Sturnus vulgaris*.



### **Piani di sorveglianza e monitoraggio**

Al termine della prova tutto il materiale vegetale verrà estirpato e distrutto. Alcuni campioni delle VGM verranno conservati ed utilizzati per la riproduzione delle linee prescelte per una eventuale sperimentazione su larga scala.

Nei successivi 24 mesi il campo sarà monitorato mensilmente per verificare la possibile persistenza indesiderata di VGM.

### **Considerazioni sulla notifica**

Considerando che la sperimentazione in corso rappresenta il seguito di un ciclo sperimentale iniziato nel 1999, in cui gli attuali cloni analizzati sono stati precedentemente testati in una sperimentazione autorizzata ai sensi della vecchia normativa e prima che entrasse in vigore il *gene technology act 2000*, è possibile affermare, in base ai dati ottenuti fino ad ora ed alla bibliografia scientifica relativa pubblicata, che la ricerca sul miglioramento delle caratteristiche qualitative della vite attraverso l'ingegneria genetica non ha ancora ottenuto risultati utili a tali finalità e non è in grado di confermare se tali geni potranno essere utili per il raggiungimento degli obiettivi preposti.

L'analisi del rischio - effettuata in base alla probabilità che i pericoli si verificano, alle loro possibili conseguenze (impatti) e agli strumenti disponibili per la gestione del rischio - ha dimostrato che in generale, i rischi sono risultati molto bassi o improbabili, ad esclusione del rischio di diffusione del transgene nell'ambiente attraverso il polline, i semi o parti vegetative della pianta che è risultato moderato. Per il futuro sarà importante verificare le modalità possibili per la mitigazione del rischio nel caso di coltivazione di superficie maggiore, dove l'estensione maggiore dei campi contribuirà ad aumentare la probabilità che i pericoli si verificano e l'intensità delle possibili conseguenze. Infatti, in questo caso,

l'esito dei risultati ottenuti nell'analisi del rischio è dipeso in gran parte dalla limitata superficie della prova sperimentale che ha contribuito ad abbassare la probabilità che il rischio avvenga. Per cui, viene chiaramente specificato dal notificante che prima di procedere con l'immissione dei cloni GM in prove sperimentali di più ampie dimensioni sarà importante valutare parametri che fino ad ora non sono stati analizzati e che potrebbe essere la causa di rischi per la salute umana, animale e per l'ambiente quali:

- la caratterizzazione molecolare e la stabilità genetica, compreso la presenza di sequenze indesiderate e il livello di espressione dei geni inseriti all'interno dell'organismo nelle diverse stagioni;
- i test di tossicità per verificare che le VGM non siano tossiche per l'uomo, gli animali ed i microrganismi;
- la comparazione delle caratteristiche fenotipiche e agronomiche tra le VGM e le corrispettive isogeniche, al fine di verificare la presenza di caratteristiche indesiderate che potrebbero alterare il livello di persistenza e/o invasività delle piante;
- il flusso genico del polline attraverso i risultati delle prove condotte a partire dal 2006 con le piante trasformate con il gene *gfp*;
- la presenza nell'areale australiano di specie sessualmente compatibili con la vite coltivata.

Si considera invece che i rischi di trasferimento genico orizzontale (TGO) verso i microrganismi della flora intestinale, simbionti e del suolo, non siano di rilevante importanza anche nel caso di una sperimentazione di più ampie dimensioni, motivando tale valutazione con il fatto che i geni inseriti nelle VGM provengono dalla vite e quindi sono già ampiamente presenti in natura. Anche per quanto riguarda i possibili rischi del TGO dei geni di resistenza agli antibiotici verso gli altri microrganismi, il notificante considera che il rischio per il quale attraverso il TGO si creino ceppi batterici resistenti agli antibiotici stessi, da cui ne potrebbe conseguire oltre che la perdita di efficacia di questi antibiotici anche la variazione del pool genico delle popolazioni batteriche, siano molto bassi o improbabili, visto lo scarso impiego di questi antibiotici nel campo clinico e veterinario e vista la presenza in natura di tali geni all'interno del genoma di alcuni batteri.

Va comunque considerato che nel processo di trasformazione genetica i geni non sono inseriti tal quali ma con sequenze regolatrici diverse che cambiano o possono cambiare i caratteri qualitativi e quantitativi del profilo di espressione del gene specifico. Sono infatti le sequenze regolatrici che permettono ad un gene di essere riconosciuto ed espresso in un determinato organismo e, all'interno di questo, ne regolano l'espressione nei diversi tessuti. Bisogna inoltre considerare che in seguito alla modificazione genetica il gene può subire

delezioni o riarrangiamenti che ne possono alterare la sua funzione<sup>26</sup>. Quindi, anche in questo caso, i rischi derivati dal TGO dovranno essere valutati in modo approfondito, caso per caso, tenendo conto delle analisi che deriveranno dalla caratterizzazione molecolare, prima di procedere con l'immissione su larga scala dei cloni di VGM.

Nel caso di una coltivazione commerciale o di più ampia superficie di VGM bisognerà considerare, che i valori attribuiti per valutare la probabilità che il rischio si verifichi e le sue possibili conseguenze, saranno sostanzialmente differenti da quelli attribuiti ad ogni fonte di rischio considerata nella prova sperimentale. Ad esempio, un dato importante che emerge dalla sperimentazione è quello relativo alla possibile disseminazione dei semi da parte degli uccelli, che come riportato nella bibliografia citata può raggiungere distanze variabili tra 25 e 70 Km<sup>27</sup>. Se si pensa che nello stesso lavoro viene riportato che un stormo di 5000 uccelli può consumare oltre una tonnellata di cibo ogni dieci giorni e che in generale un acino d'uva può contenere da 2 a 4 semi vitali<sup>28</sup>, si capisce come il pericolo di diffusione accidentale dei semi ed il rischio ad esso connesso risulti molto elevato considerando l'ipotetico caso di una coltivazione su larga scala di VGM. Invece, i dati riportati non sono in grado di chiarire il rischio di fecondazione incrociata tra le VGM e le specie sessualmente compatibili. In genere, si ritiene che le viti coltivate, ad eccezione di alcune specie originarie dell'America, siano principalmente autogame e caratterizzate da una spiccata cleistogamia, sebbene la bibliografia disponibile sia limitata ed in alcuni casi discordante. Infatti, alcuni studi dimostrano una correlazione positiva tra il numero di granuli pollinici presenti nell'aria e la produttività della vite<sup>29</sup>, mentre, altri, riportano una correlazione negativa tra produttività della vite e distanza del campo degli alveari, supponendo che anche gli insetti possano avere un ruolo importante sulla fecondazione dei fiori<sup>30</sup>. Quindi, considerando che nel caso di una coltivazione su larga scala le misure per la gestione del rischio di impollinazione incrociata sarebbero limitate rispetto a quelle utilizzate nella parcella sperimentale che hanno previsto l'incappucciamento dei fiori prima della loro apertura (antesi) e, considerando che:

- lo stigma di ogni fiore rimane in genere recettivo per uno o due giorni dopo la sua

---

<sup>26</sup> Wilson AK, Latham JR, Steinbrecher RA: Transformation-induced mutations in transgenic plants. Analysis and biosafety implications. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews* 2006, 23:209-234.

<sup>27</sup> Fraser HW, Fisher KH, Frensch I: Bird Control on Grape and Tender Fruit Farms. Ontario Ministry of Agriculture, Food and rural affairs 1998, pp. 1-15.

<sup>28</sup> Mark Rieger. Grapes - *Vitis* spp. The University of Georgia 2002, pp. 1-11. <http://www.uga.edu/fruit/grape.htm>

<sup>29</sup> Sedgley M: Flowering of Deciduous Perennial Fruit Crops. *Horticultural Reviews* 2003, 12:223-264.

<sup>30</sup> McGregor SE: Insect Pollination of Cultivated Crop Plants: Grape. United States Department of Agriculture (1976).

<http://gears.tucson.ars.ag.gov/book/chap7/grape.html>

- apertura con recettività che raggiunge il suo massimo livello durante l'antesi<sup>31</sup>;
- l'apertura dei fiori è scalare e la durata della fioritura varia tra gli 8 e i 10 giorni<sup>32</sup>;
  - il polline può rimanere vitale per oltre tre settimane dalla sua emissione<sup>33</sup>.

Risulterà molto importante verificare con accuratezza il flusso genico verticale prima di procedere con l'immissione su larga scala della VGM.

Relativamente all'impatto socio economico va considerato che l'associazione nazionale dei produttori di vino australiani ha affermato in un documento pubblico: "che non sarà disposta ad utilizzare OGM nelle loro produzioni fino a quando non ci saranno evidenti benefici derivati dal loro utilizzo e fino a che questi non verranno accettati dall'opinione pubblica"<sup>34</sup>.

---

<sup>31</sup> Free J: Insect pollination of crops. London. Academic. 1993. xii, 684 p. Edición ; 2nd ed.

<sup>32</sup> Winkler A, Cook J, Kliever W, Lider L: General viticulture. University of California Press 1974, London.

<sup>33</sup> Ganeshan S. e Alexander M: Fertilising ability of cryopreserved grape, *Vitis vinifera* L. pollen. *Vitis* 1993, 29: 145-150.

<sup>34</sup> Winemakers' Federation of Australia 2003: The Australian Wine Industry Position on Gene Technology. <http://www.wfa.org.au/PDF/GMO%20Statement.pdf>

## ***Vite geneticamente modificata per caratteri agronomici.***

Continente: **Nord America**

Nazione: **Canada**

**Tab. 4:** scheda sintetica.

<b>Istituto responsabile della sperimentazione</b>	University of Guelph. <a href="http://www.plant.uoguelph.ca/policy/strategic_plan.html">http://www.plant.uoguelph.ca/policy/strategic_plan.html</a> Chateau de Charmes Wines. <a href="http://www.chateaudescharmes.com/">http://www.chateaudescharmes.com/</a>
<b>Titolo Progetto</b>	Vite transgenica tollerante a stress ossidativi.
<b>Normativa di Riferimento</b>	Directive 2000-07. Assessment Criteria for Determining Environmental Safety of Plants With Novel Traits.
<b>Numero Notifica</b>	Vedi tab 9.
<b>Autorità competente al rilascio</b>	Canadian Food Inspection Agency. <a href="http://www.inspection.gc.ca/english/plaveg/bio/pntchae.shtml">http://www.inspection.gc.ca/english/plaveg/bio/pntchae.shtml</a>
<b>Informazioni tecniche</b>	
<b>Cultivar</b>	Cabernet Franc.
<b>Metodo di trasformazione</b>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> .
<b>Gene inserito</b>	Mn-SOD.
<b>Fenotipo</b>	Resistenza a gli stress ossidativi (tolleranza alle basse temperature).

### **Stato della sperimentazione in Canada**

Dal 1997 ad oggi sono state presentate all'autorità competente canadese, "The Canadian Food Inspection Agency", 25 richieste per la sperimentazione in campo di vite geneticamente modificata, attraverso *Agrobacterium tumefaciens*, con il gene codificante l'enzima Mn-superoossido dismutasi che conferisce alle piante la caratteristica di tollerare gli stress ossidativi causati dalle basse temperature. La vite transgenica, prodotta dall'Università di Guelph, è stata testata in campi sperimentali messi a dimora in Ontario, appartenenti all'azienda Chateau de Charmes Wines coinvolta nel progetto di ricerca.

Il gene Mn-SOD, codificante per l'enzima Mn-superoossido dismutasi, è stato isolato da *Arabidopsis thaliana* (Foto 8) una Brassicacea dal genoma molto semplice ampiamente utilizzata come organismo modello nelle scienze vegetali. La sovraespressione dell'enzima

Mn-SOD consente alle piante di vite di detossificare i metabolici tossici dell'ossigeno che si formano quando la pianta è sottoposta a stress fisici come le basse temperature. I radicali liberi dell'ossigeno rappresentano in queste condizioni una delle principali cause della morte cellulare. La tolleranza al freddo è quindi in parte dipendente dalla capacità delle piante di detossificare questi radicali liberi dell'ossigeno.

A livello commerciale l'utilizzo di tale tecnologia potrebbe consentire la coltivazione di varietà che oggi sopravvivono con difficoltà agli inverni rigidi del clima canadese.

**Foto 8:** pianta di *Arabidopsis thaliana*.



### **Considerazioni sulla notifica**

La normativa canadese in materia di rilasci confinati di organismi geneticamente modificati, la direttiva 2000-07, non prevede la partecipazione pubblica ai processi decisionali di autorizzazione per il rilascio confinato di un qualsiasi OGM ma si limita a pubblicare una tabella riassuntiva delle sperimentazioni sul sito dell'autorità competente: <http://www.inspection.gc.ca/english/plaveg/bio/confine.shtml#sum> (nella tab. 5 si riportano le informazioni disponibili tradotte).

Non è stato quindi possibile condurre una valutazione dettagliata sui possibili impatti che potrebbero derivare dall'utilizzo di tale tecnologia. Per quanto riguarda invece le possibili applicazioni, a livello bibliografico, non risultano evidenze riguardanti l'efficacia di tale tecnologia nel conferire alla vite la tolleranza al freddo, mentre, ve ne sono diverse che confermano tale efficacia in piante di erba medica (*Medicago sativa* L) trasformate con il gene codificante l'enzima Mn-SOD<sup>35,36,37</sup>.

---

<sup>35</sup> Atti del: 4th Canadian Plant Tissue Culture and Genetic Engineering Workshop, Saskatoon, June 4-7, 1996. <http://www.plant.uoguelph.ca/research/embryo/abstract.htm>

**Tab. 5:** sintesi delle sperimentazioni condotto in Canada dal 1997 ad oggi.

Anno	Provincia	Numero notifica*	Organization	Gene 1	Gene 2	Gene 3
2001	Ontario	01-CHA1-033-GVI01-224-ON079-01	Chateau des Charmes wines	Tolleranza agli stress ossidativi	Tolleranza antibiotici	-
	Ontario	01-CHA1-033-GVI02-458-ON079-01	Chateau des Charmes wines	Tolleranza agli stress ossidativi	Tolleranza antibiotici	Gene marcatore
	Ontario	01-CHA1-033-GVI03-456-ON079-01	Chateau des Charmes wines	Tolleranza agli stress ossidativi	Tolleranza antibiotici	-
	Ontario	01-CHA1-033-GVI04-236-ON079-01	Chateau des Charmes wines	Tolleranza agli stress ossidativi	Tolleranza antibiotici	-
	Ontario	01-CHA1-033-GVI05-468-ON079-01	Chateau des Charmes wines	Gene marcatore	Tolleranza antibiotici	-
	Ontario	01-CHA1-033-GVI06-479-ON079-01	Chateau des Charmes wines	Tolleranza agli stress ossidativi	Tolleranza antibiotici	-
2000	Ontario	00-CHA1-033-GVI01-224-ON079-01	Chateau des Charmes wines	Tolleranza agli stress ossidativi	Tolleranza antibiotici	-
	Ontario	00-CHA1-033-GVI02-458-ON079-01	Chateau des Charmes wines	Tolleranza agli stress ossidativi	Tolleranza antibiotici	Gene marcatore
	Ontario	00-CHA1-033-GVI03-456-ON079-01	Chateau des Charmes wines	Tolleranza agli stress ossidativi	Tolleranza antibiotici	-
	Ontario	00-CHA1-033-GVI04-236-ON079-01	Chateau des Charmes wines	Tolleranza agli stress ossidativi	Tolleranza antibiotici	-
	Ontario	00-CHA1-033-GVI05-468-ON079-01	Chateau des Charmes wines	Gene marcatore	Tolleranza antibiotici	-
	Ontario	00-CHA1-033-GVI06-479-ON079-01	Chateau des Charmes wines	Tolleranza agli stress ossidativi	Tolleranza antibiotici	-
1999	Ontario	99-CHA1-033-GVI01-224-ON079-01	Chateau des Charmes wines	Tolleranza agli stress ossidativi	Tolleranza antibiotici	-
	Ontario	99-CHA1-033-GVI02-458-ON079-01	Chateau des Charmes wines	Tolleranza agli stress ossidativi	Tolleranza antibiotici	Gene marcatore
	Ontario	99-CHA1-033-GVI03-456-ON079-01	Chateau des Charmes wines	Tolleranza agli stress ossidativi	Tolleranza antibiotici	-
	Ontario	99-CHA1-033-GVI04-236-ON079-01	Chateau des Charmes wines	Tolleranza agli stress ossidativi	Tolleranza antibiotici	-

<sup>36</sup> McKersie BD, Chen Y, de Beus M, Bowley SR, Bowler C, Inzé D, D'Halluin K, Botterman J: Superoxide dismutase enhances tolerance of freezing stress in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant Physiol.* 1993, 103(4): 1155–1163. <http://www.plantphysiol.org/cgi/reprint/103/4/1155>

<sup>37</sup> McKersie BD, Bowley SR, Jones KS: Winter Survival of Transgenic Alfalfa Overexpressing Superoxide Dismutase1. *Plant Physiology* 1999, 119:839–847. <http://www.plantphysiol.org/cgi/reprint/119/3/839.pdf>

	Ontario	99-CHA1-033-GVI05-468-ON079-01	Chateau des Charmes wines	Gene marcatore	Tolleranza antibiotici	-
	Ontario	99-CHA1-033-GVI06-479-ON079-01	Chateau des Charmes wines	Tolleranza agli stress ossidativi	Tolleranza antibiotici	-
1998	Ontario	98-CHA1-033-GVI01-224-ON079-01	Chateau des Charmes wines	Tolleranza agli stress ossidativi	Tolleranza antibiotici	-
	Ontario	98-CHA1-033-GVI02-458-ON079-01	Chateau des Charmes wines	Tolleranza agli stress ossidativi	Tolleranza antibiotici	Gene marcatore
	Ontario	98-CHA1-033-GVI03-456-ON079-01	Chateau des Charmes wines	Tolleranza agli stress ossidativi	Tolleranza antibiotici	-
	Ontario	98-CHA1-033-GVI04-236-ON079-01	Chateau des Charmes wines	Tolleranza agli stress ossidativi	Tolleranza antibiotici	-
	Ontario	98-CHA1-033-GVI05-468-ON079-01	Chateau des Charmes wines	Gene marcatore	Tolleranza antibiotici	-
	Ontario	98-CHA1-033-GVI06-479-ON079-01	Chateau des Charmes wines	Tolleranza agli stress ossidativi	Tolleranza antibiotici	-
1997	NR	NR	NR	NR	NR	NR

NR: non riportato

\* ogni notifica può comprendere una o più località sperimentali.

Continente: **Europa**

Nazione: **Romania**

**Tab 6:** scheda sintetica.

<b>Istituto responsabile della sperimentazione</b>	Institut National da la Recherche Agronomique - Centre de Recherche de Colmar. <a href="http://www.colmar.inra.fr">http://www.colmar.inra.fr</a>
<b>Titolo Progetto</b>	Valutazione dell'impatto ambientale della vite transgenica sulla diversità e la dinamica delle popolazioni virali.
<b>Normativa di Riferimento</b>	Legge 266/2002. Dal 1 gennaio 2007 Dir. 2001/18/CE.
<b>Autorità competente al rilascio</b>	Ministerul Agriculturii si Dezvoltarii Rurale. <a href="http://mapam.ro/pages/view_presa.php?id=1238&amp;lang=2">http://mapam.ro/pages/view_presa.php?id=1238&amp;lang=2</a>
<b>Data di autorizzazione</b>	2003
<b>Fine rilascio</b>	2006
<b>Informazioni tecniche</b>	
<b>Cultivar</b>	cv. Russalka e portinnesto 41 B ( <i>Vitis vinifera</i> x <i>Vitis berlandieri</i> ).
<b>Metodo di trasformazione</b>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>
<b>Gene inserito</b>	Geni CP dei virus GVA, GVB, GFLV e gene <i>nptII</i>
<b>Fenotipo</b>	Resistenza a virus e tolleranza antibiotici.

### Informazioni sulla notifica

Il campo sperimentale di vite geneticamente modificata condotto in Romania è uno dei siti sperimentali, assieme a quello francese, costituiti all'interno del progetto europeo TRANSVIR (*Environmental impact assessment of transgenic grapevines and plums on the diversity and dynamics of virus populations*) il cui obiettivo è quello di valutare i possibili impatti ambientali della vite modificata con il gene virale della proteina del capsido che già testata su altre colture, ha dimostrato di conferire alle piante la resistenza ai virus<sup>38</sup>. Una delle questioni relative a tale tipo di modificazione genetica è infatti la possibilità che il gene inserito o il trascritto genico delle piante transgeni possa ricombinarsi con il genoma delle popolazioni virali dando origine a nuovi ceppi virali, oppure, possa aumentare o alterare la patogenicità

---

<sup>38</sup> Vigne E, Komar V, Fuchs M: Field safety assessment of recombination in transgenic grapevines expressing the coat protein gene of Grapevine fanleaf virus. *Transgenic Res.* 2004, 13(2):165-79.

di quelli già virulenti.

In particolare gli obiettivi del progetto riguardano:

- la comparazione della variabilità delle popolazioni virali nelle piante transgeniche a confronto con le corrispettive isogeniche;
- la valutazione del tasso di ricombinazione virale imputabile alle piante transgeniche;
- la valutazione delle proprietà biologiche dei virus ricombinanti;
- il monitoraggio della stabilità del transgene e l'efficacia della modificazione genetica nel proteggere le piante dalle infezioni virali;
- la possibile traslocazione del prodotto genico dal portinnesto transgenico all'innesto non transgenico.

Per quanto riguarda la sperimentazione in Romania, il progetto, avviato nel 2003 e della durata di tre anni, ha previsto la coltivazione di portinnesti modificati attraverso *Agrobacterium tumefaciens* con il gene della proteina del capsido del virus GFLV (*Grapevine fanleaf virus*) e di piante della cultivar Russalka, modificati sempre attraverso *Agrobacterium tumefaciens* con i geni della proteina del capsido dei virus GVA (*Grapevine virus A*) e GVB (*Grapevine virus B*)<sup>39,40</sup>.

## **Risultati della valutazione del rischio**

I principali aspetti ambientali riguardanti l'utilizzo di piante transgeniche modificate con geni virali provenienti dal virus stesso riguardano principalmente la possibilità di ricombinazione tra il trascritto del transgene ed il genoma dei virus che infettano le piante transgeniche. I virus ricombinanti potrebbe infatti acquisire proprietà biologiche differenti come ad esempio cambiamenti nella specificità del vettore, nello spettro d'azione o nel tasso di virulenza.

La ricombinazione è un fenomeno naturale alla base dell'evoluzione delle popolazioni virali la cui probabilità di avvento dipende da numerosi fattori e differisce a seconda dei virus<sup>41</sup>. Uno dei problemi delle piante geneticamente modificate con geni virali è quello relativo all'espressione costitutiva (in tutti i tessuti della pianta durante l'intero ciclo vitale) del transgene che potrebbe causare l'incremento del tasso di ricombinazione. Diverse

---

<sup>39</sup> Fuchs M, Cambra M, Capote N, Jelkmann W, Laval V, Martelli GP, Minafra A, Petrovic N, Pfeiffer P, Pompe-Novak M, Ravelonandro M, Saldarelli P, Stussi-Garaud C, Vigne E, Zagari I: Safety assessment of transgenic plums and grapevines expressing viral coat protein genes: New insights into real environmental impact of perennial plant engineered for virus resistance. *Journal of Plant Pathology*, 2007, 89:5-12.

<sup>40</sup> Minafra A: Flexiviruses of the grapevine: a report to resistivir. In press.

<sup>41</sup> Chare ER, Holmes EC: A phylogenetic survey of recombination frequency in plant RNA viruses. *Archives of Virology* 2006, 151: 933-946.

evidenze<sup>42</sup>, di laboratorio e di serra, dimostrano la possibilità che il DNA transgenico presente nelle piante trasformate possa ricombinarsi con il genoma virale, mentre, le informazioni riguardanti la possibilità che tale fenomeno possa avvenire anche nelle normali situazione di campo sono tuttora limitate.

Il primo passo della sperimentazione è stato quello di stabilire la base della variabilità genetica delle popolazioni virali, al fine di individuare se quelle isolate dalle piante transgeniche presentavano una variabilità al di sopra di quella naturale, riscontrata nelle popolazioni di virus isolate dalle piante convenzionali.

Per stabilire la base della variabilità genetica delle popolazioni virali presenti in Europa, oltre ai siti sperimentali di Romania e Francia, in cui sono state impiantate le viti transgeniche, sono state analizzate anche le popolazioni virali riscontrate in alcuni vigneti di vite convenzionale impiantati in Germania, Italia e Slovenia. L'approccio sperimentale è stato basato sulla caratterizzazione delle proprietà biologiche, sierologiche e molecolari dei virus infettanti le piante transgeniche in comparazione con quelli individuati nelle corrispettive isogeniche.

Nei virus isolati dalle piante transgeniche non sono state riscontrate caratteristiche imputabili a ricombinazione con il trascritto transgenico. Inoltre, non sono state evidenziate differenze significative nella variabilità genetica dei ceppi virali isolati dalle VGM in comparazione con quelli delle corrispettive isogeniche. I dati indicano perciò che durante i tre anni di studio le viti transgeniche non hanno condotto ad un aumento della ricombinazione e nemmeno ad un aumento della variabilità delle popolazioni virali.

Anche i dati relativi alla possibile traslocazione dei prodotti del transgene, come ad esempio proteine e piccoli RNA interferenza, dal portinnesto GM all'innesto non GM, hanno dato esito negativo, confermando che non vi è trasferimento di materiale genetico dal portinnesto al nesto.

I risultati ottenuti, al contrario di molte evidenze di laboratorio e di serra, indicano che l'utilizzo di vite transgenica modificata con il gene della proteina del capsido del virus GFLV non presenta effetti avversi sulla diversità e la dinamica delle popolazioni virali<sup>43</sup>. Le differenze tra le evidenze ottenute nelle ricerche condotte in laboratorio ed in serra, rispetto

---

<sup>42</sup> Latham JR: Transcomplementation by viral proteins as a biosafety hazard. 8th International Symposium on the Biosafety of Genetically Modified Organisms September 26 - 30, 2004, Montpellier, France. <http://www.inra.fr/gmobiosafety/upload/8ISBGMOProceedings.pdf?PHPSESSID=3bde443eb3c166ca027aa7eb42c8619c>

<sup>43</sup> Sciancalepore A, Pio Ribeiro G, Minafra A, Saldarelli P, Martelli GP: Molecular variability in the coat protein genes of Grapevine viruses A and B populations. (in preparazione).  
Vigne E, Komar V, Fuchs M: Field safety assessment of recombination in transgenic grapevines expressing the coat protein gene of Grapevine fanleaf virus. *Transgenic Res.* 2004, 13(2):165-79.

a quelle ottenute in campo, potrebbero essere imputabili ad una diversa pressione selettiva tra le condizioni di laboratorio e quelle di campo. In condizioni di laboratorio, infatti, vengono comunemente utilizzati protocolli che prevedono una elevata pressione selettiva, condizione necessaria per aumentare la probabilità di ricombinazione. Al contrario, in condizioni naturali in cui è presente una bassa pressione selettiva, il fenomeno di ricombinazione avviene con probabilità molto bassa.

Dai dati ottenuti durante i tre anni di studio è possibile concludere che il rischio ambientale derivato dall'utilizzo di piante transgeniche resistenti ai virus è basso o addirittura improbabile.

### **Considerazioni sulla notifica**

I virus sono parassiti endocellulari obbligati che modificano il genoma delle cellule ospiti per indurle a produrre nuove particelle virali o virioni che a loro volta possono infettare nuove cellule. Gli elementi essenziali di un virus sono il capsido che ha la funzione di proteggere l'acido nucleico del virus (DNA o RNA) nel quale sono registrate le informazioni per condizionare il metabolismo della cellula ospite a favore della replicazione virale. Il capsido svolge inoltre un ruolo importante anche nel determinare la specificità del vettore virale, nel consentire la replicazione del virus e nella sua mobilità.

I recenti progressi sulle conoscenze relative ai meccanismi molecolari che caratterizzano l'interazione tra virus e pianta, hanno portato allo sviluppo di approcci per la difesa delle piante dagli attacchi dei virus patogeni che comprendono l'introduzione di sequenze virali nel genoma delle piante stesse. L'espressione di queste sequenze interferisce con uno o più funzioni virali conferendo alla pianta la protezione contro i virus stessi. Tra questi metodi, uno dei più studiati è quello relativo all'introduzione nel genoma delle piante dei geni della proteina del capsido. Tale tecnologia è già stata applicata su diverse colture tra cui la zucca, la papaya e il pomodoro attualmente commercializzate negli Stati Uniti<sup>44</sup> e in Cina<sup>45</sup>.

Uno degli aspetti che desta maggior preoccupazione relativamente all'utilizzo di queste piante riguarda il rischio potenziale di interazione tra il transgene di origine virale e i virus che infettano la pianta, da cui ne potrebbe scaturire la neoformazione di ceppi virali superinfettanti. In base a questo rischio possono essere ipotizzati tre scenari diversi:

---

<sup>44</sup> Sankula S, Marmon G, Blumenthal E, 2005: Biotechnology-derived crops plants in 2004. Impacts on US Agriculture. [http://www.monsanto.de/biotechnologie/publikationen/NCFAP\\_Report\\_Dezember\\_2005.pdf](http://www.monsanto.de/biotechnologie/publikationen/NCFAP_Report_Dezember_2005.pdf)

<sup>45</sup> Huang J, Rozelle S, Pray C, Wang Q: Plant biotechnology in China. Science 2002, 295: 674-677.

## Eteroincapsidazione

Per eteroincapsidazione si intende il meccanismo per il quale il genoma di un virus B che infetta una pianta transgenica modificata con la proteina del capsido del virus A, può subire l'incapsidazione da parte della proteina del capsido del virus A espressa dalla pianta. Esistono diverse evidenze relative all'eteroincapsidazione in piante transgeniche, sia con virus dello stesso gruppo<sup>46</sup> che tra virus diversi<sup>47</sup>. Le principali questioni relative all'eteroincapsidazione riguardano la specificità del vettore<sup>48</sup> e la mobilità dei virus, fattori che se modificati potrebbero alterare la capacità di infezione virale anche verso piante in cui il virus non mostrava patogenicità.

## Sinergismo

Gli effetti sinergici correlati all'espressione del transgene di origine virale possono avere due manifestazioni differenti. Nella prima, l'espressione del transgene può aumentare i sintomi dell'infezione virale, effetto ben conosciuto evidenziato per esempio in piante di tabacco transgenico<sup>49</sup>. Nel secondo caso l'effetto sinergico può aumentare la mobilità del virus.

## Ricombinazione

I possibili casi di ricombinazione possibili tra virus e pianta sono:

- omologa, tra RNA in specifici siti di ricombinazione;
- aberrante, tra RNA omologhi in siti casuali di ricombinazione;
- eterologa, tra RNA non correlati in siti casuali di ricombinazione.

Entrambe i tipi di ricombinazione si ritiene possano causare un aumento della capacità di sopravvivenza<sup>50</sup> dei virus (Fitness) o una variazione nella specificità del vettore virale<sup>51</sup>.

Uno studio condotto nel 2001 nel quale è stata analizzata la bibliografia relativa ai casi di transcomplementazione, ovvero la possibilità che l'espressione di proteine virali in una

---

<sup>46</sup> Farinelli L, Malnoe P, Collet GF: Heterologous encapsidation of potato virus Y strain O (PVYO) with transgenic coat protein of PVY strain N (PVYN) in *Solanum tuberosum* cv Bintje. *Bio/Technology* 1992, 10:1020-1025.

<sup>47</sup> Candelier-Harvey P, Hull R: Cucumber mosaic virus genome is encapsidated in alfalfa mosaic virus coat protein expressed in transgenic plants. *Transgenic Res.* 1993, 2:277-285.

<sup>48</sup> Lecoq H, Ravelonandro M, Wopf-Scheibel C, Monsion M, Raccach B, Dunez J: Aphid transmission of a non-aphid-transmissible strain of zucchini yellow mosaic potyvirus from transgenic plants expressing the capsid protein of plum pox potyvirus. *Molec. Plant Microbe Interns.* 1993, 6:403-406.

<sup>49</sup> Vance VB, Berger PH, Carrington JC, Hunt AG, Shi XM: 5' proximal potyviral sequences mediate potato virus X/potyviral synergistic disease in transgenic tobacco. *Virology* 1995, 206:583-590.

<sup>50</sup> Fernández-Cuartero B, Burguán J, Aranda MA, Salánki K, Moriones E, Garcia-Arenal F: Increase in the relative fitness of a plant virus RNA associated with its recombinant nature. *Virology* 1994, 203:373-377.

<sup>51</sup> Wen F, Lister RM: Heterologous encapsidation in mixed infections among four isolates of barley yellow dwarf virus. *J. Gen. Virol.* 1991, 72:2217-2223.

pianta transgenica possa dar origine a variazioni nella specificità dell'ospite e quindi rendere le piante trasformate suscettibili a virus di cui non lo erano prima, ha evidenziato che su 144 studi analizzati, 105 di questi hanno dato esiti positivi, confermando che il fenomeno può avvenire con frequenza molto alta anche tra virus di specie diverse<sup>52</sup>. La causa di questo elevato tasso di ricombinazione è stata imputata al fatto che mentre il fenomeno di ricombinazione del materiale genetico tra virus co-infettanti la pianta necessita che gli acidi nucleici si vengano a trovare strettamente ravvicinati tra loro - ovvero devono essere presenti entrambi nella stessa cellula - nelle piante transgeniche, vista l'espressione costitutiva del transgene di origine virale, non vi è mai una separazione spaziale e, ipoteticamente, il virus può in qualsiasi momento ricombinarsi con il trascritto transgenico. Tale fattore contribuirebbe ad aumentare la probabilità di ricombinazione<sup>53</sup>.

Quindi, sebbene i risultati del progetto indicano che nelle normali condizioni di campo le piante transgeniche non hanno evidenziato un tasso di ricombinazione più elevato rispetto a quello riscontrato nelle colture tradizionali, l'elevata probabilità del fenomeno di ricombinazione e i cambiamenti di pressione selettiva che possono originarsi nelle diverse condizioni ambientali rendono indispensabili ulteriori studi prolungati nel tempo in grado di confermare le evidenze riscontrate fino ad ora.

I dati relativi alle piante transgeniche della cultivar Russalka trasformate con il gene CP dei virus GVA e GVB, indicano che non vi sono differenze di suscettibilità alla malattia tra le VGM rispetto alle corrispettive isogeniche, anche in quei cloni transgenici dove la proteina era espressa ad alti livelli<sup>54</sup>. L'espressione del transgene non sembra quindi produrre effetti positivi nell'autodifendere le piante dagli attacchi di questi virus.

I risultati preliminari delle analisi relative al trasferimento del prodotto del transgene dal portinnesto transgenico al nesto convenzionale mostrano che non vi sarebbe nessun passaggio di materiale genetico tra i due comparti<sup>55</sup>.

---

<sup>52</sup> Latham JR: Transcomplementation by viral proteins as a biosafety hazard. 8th International Symposium on the Biosafety of Genetically Modified Organisms September 26 - 30, 2004, Montpellier, France. <http://www.inra.fr/gmobiosafety/upload/8ISBGMOproceedings.pdf?PHPSESSID=3bde443eb3c166ca027aa7eb42c8619c>

<sup>53</sup> Maiss E: Recombination and spatial separation of potyviruses in transgenic plants and in mixed infections. 8th International Symposium on the Biosafety of Genetically Modified Organisms September 26 - 30, 2004, Montpellier, France. <http://www.inra.fr/gmobiosafety/upload/8ISBGMOproceedings.pdf?PHPSESSID=3bde443eb3c166ca027aa7eb42c8619c>

<sup>54</sup> Minafra A: Flexiviruses of the grapevine: a report to resistivir. In press.

<sup>55</sup> Fuchs, M, Cambra M, Capote N, Jelkmann W, Laval V, Martelli GP, Minafra A, Petrovic N, Pfeiffer P, Pompe-Novak M, Ravelonandro M, Saldarelli P, Stussi-Garaud C, Vigne E, Zagari I: Safety assessment of transgenic plums and grapevines expressing viral coat protein genes: New insights into real environmental impact of perennial plant engineered for virus resistance. *Journal of Plant Pathology*, 2007, 89:5-12.

Continente: **Europa**

Nazione: **Francia**

**Tab 7:** scheda sintetica.

<b>Istituto responsabile della sperimentazione</b>	Institut national de la recherche agronomique - Centre de Recherche de Colmar. <a href="http://www.colmar.inra.fr">http://www.colmar.inra.fr</a>
<b>Titolo Progetto</b>	Valutazione dell'impatto ambientale della vite transgenica sulla diversità e la dinamica delle popolazioni virali.
<b>Normativa di Riferimento</b>	Dir. 2001/18/CE.
<b>Numero Notifica</b>	B/FR/04/05/01.
<b>Autorità competente al rilascio</b>	Ministere de l'Agriculture et de la Peche. <a href="http://www.ogm.gouv.fr/">http://www.ogm.gouv.fr/</a>
<b>Data di autorizzazione</b>	28-06-2005.
<b>Fine rilascio</b>	31-10-2009.
<b>Informazioni tecniche</b>	
<b>Portinnesto</b>	41 B ( <i>Vitis vinifera</i> x <i>Vitis berlandieri</i> ).
<b>Metodo di trasformazione</b>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> .
<b>Gene inserito</b>	35S-CP-nos, nos-nptII-nos.
<b>Fenotipo</b>	Resistenza ai virus e tolleranza antibiotici.

### **Informazioni sulla notifica**

La notifica B/FR/04/05/01 riguarda la sperimentazione in campo di vite geneticamente modificata con il gene della proteina del capsido (CP) del virus dell'ariccamento (*Grapevine fanleaf virus* – GFLV) e con il gene *nptII*.

Il gene CP, attraverso un meccanismo di silenziamento genico post-trascrizionale conferisce alla pianta la resistenza al virus dell'ariccamento (di seguito GFLV), mentre, il gene *nptII* conferisce la tolleranza agli antibiotici aminoglicosidici, fenotipo utilizzato per selezionare le giovani piantine durante le prime fasi di laboratorio su terreno di coltura contenente l'antibiotico.

La prova, predisposta presso la stazione sperimentale dell'INRA di Colmar in Alsazia, è stata allestita su una superficie pari a 1000 m<sup>2</sup> in cui è stata prevista la messa a dimora di un totale di 1604 piante non transgeniche delle varietà Cabernet Sauvignon (clone 15) e

Chardonnay (clone 96) di cui 70 impiantate su portinnesti transgenici (Schema 1 e foto 9). Le piante, coltivate con un sesto di impianto a doppio Guyot, saranno trattate con le normali tecniche colturali.

I principali obiettivi della sperimentazione sono:

- confermare gli studi preliminari relativi all'efficacia delle piante transgeniche verso l'infezione del virus GFLV;
- valutare gli effetti del portinnesto transgenico sulla dinamica e la variabilità genetica delle popolazioni virali;
- valutare la mobilità dei vettori virali;
- analizzare l'eventuale flusso genico dei trascritti transgenici dal portinnesto geneticamente modificato all'innesto convenzionale.

A livello commerciale l'utilizzo di portinnesti resistenti al virus GFLV permetterebbe di ottenere un miglioramento della qualità e della produttività oltre che ad evitare trattamenti inquinanti per il suolo. Infatti, il *Grapevine Fanleaf Virus* (GFLV), il cui vettore di trasmissione è il nematode *Xiphinema index*, è considerato uno dei virus più dannosi della vite. La sintomatologia si manifesta attraverso malformazioni verso tutti gli organi della pianta che compromettono il rendimento e la longevità della coltura. Ad oggi, non è ancora stato possibile individuare nel germoplasma viticolo geni in grado di conferire la resistenza a questa malattia. Le attuali pratiche agronomiche per la difesa dalla malattia si basano essenzialmente sull'utilizzo di nematocidi per la lotta al vettore di trasmissione e mediante l'estirpazione delle piante infettate e la devitalizzazione del suolo.



## **Riassunto della valutazione del rischio eseguita dal notificante**

### **Caratterizzazione molecolare**

#### Descrizione delle caratteristiche modificate

Cellule embriogenetiche del portainnesto 41 B sono state modificate attraverso *Agrobacterium tumefaciens*. La modificazione ha permesso di inserire nel genoma della pianta ospite i seguenti costrutti genici:

- il costrutto 35S-CP-nos che conferisce alla pianta il fenotipo resistente a virus;
- il costrutto nos-nptII-nos che conferisce alla pianta il fenotipo resistente agli antibiotici aminoglicosidici tipo Kanamicina.

Il funzionamento del gene CP nel conferire la resistenza al virus GFLV si esplica attraverso un meccanismo di interferenza attraverso il quale viene inibita la traduzione dell' mRNA nella proteina del capsido, necessaria per la replicazione del virus nell'organismo ospite. Il virus, sprovvisto della proteina del capsido, non essendo più in grado di portare a termine il proprio processo di replicazione viene così bloccato.

In totale saranno analizzati 5 eventi di trasformazione diversi, trasformati con il gene della proteina del capsido (CP) proveniente dal ceppo F13 del virus GFLV. Tre di questi sono già stati testati in prove di campo iniziate nel 1994 e terminate nel 1999 (Notifica B/FR/94.11.04, Notifica B/FR/96.03.11). Durante queste prove sono stati identificati tre eventi di trasformazione resistenti all'infezione naturale del virus GFLV<sup>56</sup>.

#### Caratterizzazione delle sequenze inserite e stabilità della modificazione genetica

Il DNA inserito si limita alle sequenze presenti tra il braccio destro (RB) e il braccio sinistro (LB) del genoma plasmidico utilizzato per la trasformazione. L'analisi Southern blot condotta con sonde costruite sul gene CP e sul braccio destro del T-DNA ha evidenziato l'assenza di riarrangiamenti dell'inserito genico e la presenza di uno o due copie del gene (Tab.8).

La presenza di eventuali frammenti indesiderati è stata verificata mediante analisi PCR utilizzando oligonucleotidi costruiti sia all'interno del T-DNA che sulle sequenze genomiche poste a 80 nucleotidi di distanza dal braccio destro (Tab.8). Tale analisi ha evidenziato che non sono presenti frammenti indesiderati provenienti dal vettore di trasformazione all'interno del genoma ospite.

La stabilità genetica dell'inserito è stata verificata durante 5 anni di studio in pieno campo su

---

<sup>56</sup> Vigne E, Komar V, Fuchs M: Field safety assessment of recombination in transgenic grapevines expressing the coat protein gene of Grapevine fanleaf virus. *Transgenic Res.* 2004, 13(2):165-79.

materiale vegetativo ottenuto da portinnesti modificati (Notifica B/FR/94.11.04). Le analisi Southern blot e PCR hanno mostrato che i geni sono espressi stabilmente nei tessuti modificati.

#### Informazioni sull'espressione dell'inserto

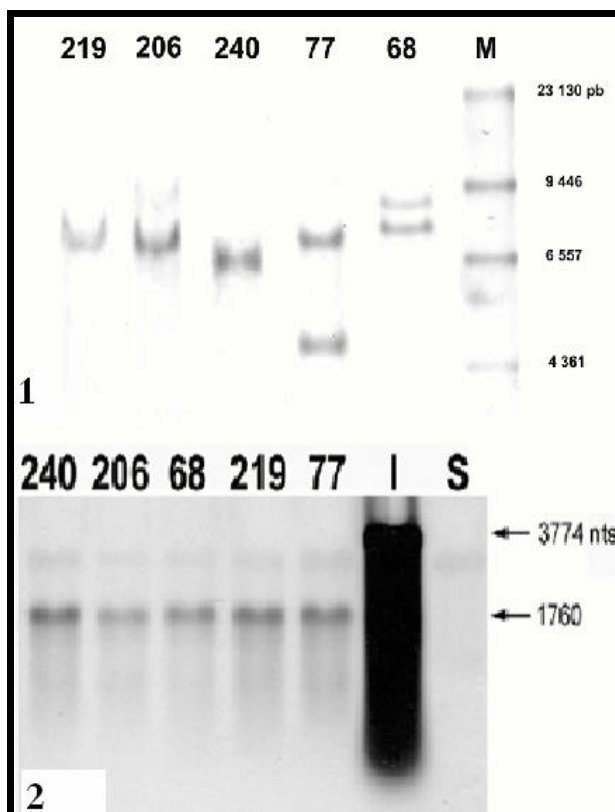
L'accumulo e l'espressione del gene CP e del gene *nptII* sono stati verificati mediante analisi Northern blot e ELISA (Tab. 8 e foto 10).

**Tab 8:** risultati dell'analisi molecolare.

Evento di trasformazione	Numero di copie inserite del gene CP (Southern blot)	Presenza di frammenti indesiderati (PCR)	Espressione CP-mRNA (Northern blot)	Espressione del gene CP (ELISA)
68	2	0	+	+
77	2	0	+	+
206	1	0	+	-
219	1	0	+	-
240	1	0	+	+

0: nessun frammento identificato; +: espressione detectabile; -: espressione non detectabile; tra parentesi: metodo di analisi.

**Foto 10:** risultati dell'analisi Southern (1) e Northern (2).



### Analisi morfologiche

I risultati provenienti da 5 anni di prove in campo (Notifica B/FR/94.11.04) hanno evidenziato che non vi sono differenze morfologiche tra i portinnesti transgenici e i corrispettivi isogenici, sia ad uno stadio giovanile che dopo 5 anni di studio.

### **Tossicità ed allergicità verso l'uomo e gli altri organismi viventi**

Non sono finora stati riportati effetti nocivi sull'uomo e sugli organismi non target<sup>57</sup> attribuibili alla presenza del gene CP e *nptII*. Inoltre, in seguito ad infezione virale, il gene CP può essere naturalmente presente nella pianta.

### **Valutazione dei rischi ambientali**

#### Disseminazione del transgene

Visto che sui portinnesti transgenici saranno innestate piante non transgeniche, la disseminazione del transgene attraverso il polline risulta molto improbabile. Inoltre, i vigneti commerciali più vicini si trovano ad una distanza pari a 1 Km dalla superficie di rilascio, mentre, a 50 m sono presenti due prove sperimentali di vite non transgenica.

Vista l'origine virale del gene CP, il rischio di trasferimento del transgene verso i batteri del suolo è molto improbabile, tenuto anche conto che l'analisi molecolare ha evidenziato l'assenza di sequenze derivate dal plasmide utilizzato per la trasformazione (pRPCI). Il plasmide, infatti, essendo di origine batterica potrebbe favorire il trasferimento genetico orizzontale verso i microrganismi del suolo.

Invece, esiste la possibilità che la sequenza parziale o integra dell' mRNA transgenico di origine virale possa ricombinarsi con quella di un RNA virale che infetta la pianta. Sebbene tale fenomeno sia stato evidenziato in piante erbacee come il tabacco, allo stato attuale non esistono evidenze che il fenomeno di ricombinazione possa avvenire in piante di vite coltivate in pieno campo, evidenze confermate anche durante i cinque anni di studio condotti in Francia con gli stessi cloni<sup>58</sup>.

I rischi di disseminazione del transgene attraverso i semi sono molto improbabili visto che le piante innestate sui portinnesti GM non sono transgeniche ed, inoltre, i fiori delle stesse saranno recisi prima della fioritura. Bisogna poi considerare che la possibile formazione dei semi si ha solo a partire dal terzo anno di età.

---

<sup>57</sup> Fuchs RL, Ream JE, Hammond BG, Maylor MW, Leimbürger RM, Berberich S.A: Safety assessment of the neomycin phosphotransferase II (NPT II) protein. *Bio Technology* 1993, 11: 1543-1547.

<sup>58</sup> Vigne E, Komar V, Fuchs M: Field safety assessment of recombination in transgenic grapevines expressing the coat protein gene of Grapevine fanleaf virus. *Transgenic Res.* 2004, 13(2):165-79.

In base alle caratteristiche modificate non sono prevedibili interazioni significative con altri organismi non target.

### **Piani di sorveglianza e monitoraggio**

Al fine di evitare eventuali rischi dovuti alla disseminazione del transgene saranno monitorati gli eventuali ricacci derivanti dal portinnesto transgenico, inoltre, i fiori verranno eliminati prima della fioritura e i residui della potatura, non essendo ancora stato possibile valutare la possibilità che vi sia flusso di materiale transgenico dal portinnesto all'innesto non transgenico, saranno inceneriti.

Al termine della sperimentazione le piante verranno devitalizzate con trattamento a base di glifosato ed incenerite. Il terreno sarà devitalizzato con dicloropropene al fine di distruggere i nematodi vettori. Nessuna vigna verrà impiantata sul terreno sperimentale per un periodo di 10 anni. In caso si manifestassero rischi impreveduti non considerati, le viti saranno immediatamente estirpate e distrutte.

### **Considerazioni sulla notifica**

L'istituto notificante dal 1994 ad oggi ha presentato presso l'autorità competente francese tre richieste di autorizzazione (B/FR/94.11.04 – B/FR/96.03.14 – B/FR/99.03.10) per il rilascio in campo di vite geneticamente modificate con il gene CP del virus GFLV. Gli obiettivi delle sperimentazioni sono stati i seguenti:

- valutare le caratteristiche agronomiche del portinnesto transgenico in un suolo non infettato dai nematodi vettori del virus GFLV (notifica n. B/FR/94.11.04). La sperimentazione iniziata nel 1995 sarebbe dovuta terminare nel 2003 ma è stata interrotta nel 1999;
- valutare la resistenza dei portinnesti transgenici verso il virus GFLV (notifica n. B/FR/96.03.14). Anche questa sperimentazione è stata interrotta nel 1999 prima della scadenza prevista.
- valutare i rischi ambientali derivanti dalla possibile ricombinazione tra il gene CP contenuto nel genoma delle piante transgeniche e i virus che naturalmente infettano la pianta (notifica n. B/FR/99.03.10). Non autorizzata dall'autorità competente.

Durante il 1999 in seguito alle preoccupazioni relative ai possibili rischi per la salute, per l'ambiente e per l'immagine del vino francese sollevate da diverse istituzioni e organizzazioni francesi in merito alla sperimentazione in campo di portinnesti transgenici, l'impresa privata Moët et Chandon Recherche, che fino ad allora aveva collaborato nella sperimentazione, ha abbandonato il partenariato con l'INRA. Nello stesso anno anche l'INRA ha ritirato la notifica n. B/FR/99.03.10 al fine di permettere la messa in opera di

un'esperienza pilota per la co-costruzione di un programma di ricerca sulla partecipazione pubblica relativa alla sperimentazione in campo di vite transgenica<sup>59</sup>. Il programma, promosso dalla direzione generale dell'INRA e attualmente in corso, ha l'obiettivo principale di organizzare un dibattito trasparente e partecipato con tutti gli attori della filiera vitivinicola relativamente agli orientamenti e ai risultati della ricerca volta alla produzione di vite transgenica. A partire dal 2001, secondo il progetto proposto dall'INRA, è cominciata una discussione pubblica che ha portato nel 2005 all'autorizzazione della notifica n. B/FR/04/05/01, predisposta secondo le indicazioni previste dal gruppo di lavoro costituito all'interno del progetto. In particolare, il gruppo di lavoro è stato formato da 14 persone di cui: 4 ricercatori, 6 rappresentanti del settore vitivinicolo e 4 rappresentanti dei cittadini. In base alle raccomandazioni fornite dal gruppo di lavoro, l'INRA ha presentato all'autorità competente francese la richiesta di notifica n. B/FR/04/05/01 per la sperimentazione presso il centro di ricerca dell'INRA di Colmar in Alsazia, di portinnesti transgenici modificati con il gene CP del virus GFLV. Il programma, inoltre, prevede che la sperimentazione sia monitorata da un comitato formato *ad hoc* costituito da 15 persone, tra cui: 2 rappresentanti della filiera vitivinicola, 2 viticoltori, due rappresentanti dei sindacati agricoli, 2 rappresentanti delle associazioni ambientaliste e dei consumatori, 2 rappresentanti della regione Alsazia, un rappresentante provinciale, 1 ricercatore e 2 rappresentanti dell'INRA di Colmar.

Il progetto francese rappresenta nel suo genere il primo caso al mondo di partecipazione pubblica ai processi decisionali per l'autorizzazione e la gestione di una sperimentazione in campo di una coltura GM. L'esigenza di partecipazione sociale a tali processi, nata proprio in seguito alla richiesta di sperimentazione in campo di VGM, conferma, come supposto nella prima fase progettuale, una maggior sensibilità sociale relativa ai possibili impatti derivati dall'utilizzo dell'ingegneria genetica nel settore vitivinicolo.

Come per la sperimentazione sudafricana, i rischi per l'immagine del prodotto nazionale sembrano essere una delle principali preoccupazioni sollevate. Rischi che per la vite, a differenza delle altre colture geneticamente modificate, si presentano già a livello sperimentale.

Per quanto riguarda invece gli impatti ambientali, i principali rischi provenienti dall'utilizzo di vite modificata con geni di origine virale sono relativi alla possibilità di ricombinazione tra il transgene inserito nel genoma della pianta ospite e i virus che naturalmente infettano la pianta. I risultati delle sperimentazioni precedenti (notifiche n. B/FR/94.11.04 e

---

<sup>59</sup> <http://www.inra.fr/internet/Directions/SED/science-gouvernance/>

B/FR/96.03.11)<sup>60</sup> non hanno comunque evidenziato tale fenomeno. Per una spiegazione più dettagliata di tali rischi si vedano le considerazioni riportate nella sperimentazione condotta in Romania.

Come per tutte le altre sperimentazioni considerate fino ad ora, anche in quella francese, non viene considerato il possibile rischio di trasferimento genico orizzontale dei transgeni verso i micorganismi del suolo.

Per quanto riguarda i risultati ottenuti fino ad ora e relativi alla prova di campo riguardante la notifica n. B/FR/04/05/01, non ci sono evidenze scientifiche in grado di confermare i dati relativi alla notifica n. B/FR/94.11.04, in cui si indica una maggior resistenza delle VGM verso il virus GFLV rispetto alle corrispettive isogeniche.

---

<sup>60</sup> Vigne E, Komar V, Fuchs M: Field safety assessment of recombination in transgenic grapevines expressing the coat protein gene of Grapevine fanleaf virus. *Transgenic Res.* 2004, 13(2):165-79.

Continente: **Europa**

Nazione: **Germania**

**Tab 9:** scheda sintetica.

<b>Istituto responsabile della sperimentazione</b>	Institute of Grapevine Breeding Geilweilerhof. <a href="http://www.bafz.de/baz2006V4/index.php?id=319">http://www.bafz.de/baz2006V4/index.php?id=319</a> .
<b>Titolo Progetto</b>	Valutazione in campo di vite transgenica resistente ai patogeni fungini.
<b>Normativa di Riferimento</b>	Direttiva 90/220/CEE.
<b>Autorità competente al rilascio</b>	Robert Koch-Institut. <a href="http://www.rki.de/">http://www.rki.de/</a>
<b>Data di autorizzazione</b>	15-07-1999.
<b>Fine rilascio</b>	31-10-2009.
<b>Informazioni tecniche</b>	
<b>Cultivar</b>	Dornfelder, Riesling, Seyval Blanc.
<b>Metodo di trasformazione</b>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> .
<b>Gene inserito</b>	<i>chi26, bgl32, rip-30, gus, nptII</i> .
<b>Fenotipo</b>	Resistenza ai funghi, gene marcatore, tolleranza antibiotici.

### Informazioni sulla notifica

La prova ha previsto la sperimentazione di uve da vino, varietà Dornfelder, Riesling, Seyval Blanc, geneticamente modificate attraverso *Agrobacterium tumefaciens* con i geni *chi26*, *bgl32*, *rip-30*, provenienti dall'orzo (*Hordeum vulgare*) che conferiscono alla pianta la resistenza contro i funghi patogeni. I geni *chi26*, *bgl32*, *rip-30* codificano rispettivamente per l'enzima chitinasi (CHI), glucanasi (GLU) e per una proteina RIP (Ribosome-inhibiting protein) che sono in grado di rompere la parete cellulare dei funghi prevenendo così la loro penetrazione nei tessuti della pianta. Alcuni studi, inoltre, riportano che l'enzima chitinasi è in grado di conferire alla pianta la resistenza agli insetti patogeni verso i quali la sua attività si esplicherebbe attraverso la degradazione della membrana peritrofica, contenente chitina, dell'intestino medio degli insetti. Effetto che sembra maggiore in presenza di trattamenti con soluzioni a base di spore di *Bacillus thuringiensis* (Bt). Al fine di valutare il flusso genico verticale, alcuni cloni della varietà Dornfelder, sono stati modificati con il gene marcatore *uidA* proveniente dal batterio *Echerichia coli* e codificante per l'enzima beta-glucuronidasi

(GUS). Questo enzima, consente in un semplice saggio di laboratorio di convertire un substrato incolore in un composto blu, ed è utilizzato come marcatore per caratterizzare l'espressione dei geni nei tessuti in cui la trasformazione genetica ha avuto successo, ovvero, in cui il transgene si è integrato nel genoma cellulare. Oltre ai geni di interesse le piante presentano il gene *nptII* che conferisce la tolleranza agli antibiotici aminoglicosidici (Kanamicina, Gentamicina, Streptomina ecc.), caratteristica utile per selezionare le piante trasformate nelle prime fasi di laboratorio. Infatti, irrorando sulle giovani piantine una soluzione contenente l'antibiotico, le piante che non hanno subito la trasformazione ingialliscono, mentre quelle che hanno integrato il gene rimangono verdi.

Tutti i geni sono stati posti sotto il controllo del promotore costitutivo di origine virale CaMV 35S.

In totale, la sperimentazione ha previsto la messa a dimora di circa 600 cloni di VGM distribuiti in due località (Tab. 10). La prima prova è stata allestita nella stazione sperimentale dell'Istituto per il Miglioramento Genetico della Vite di Geilweilerhof (Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof), mentre, la seconda, è stata effettuata all'Istituto Agricolo Bavarese per la Viticoltura e l'Orticoltura di Würzburg (Bayerischer Landesanstalt für Weinbau und Gartenbau in Würzburg).

Lo scopo della sperimentazione è quello di valutare la resistenza ai funghi patogeni delle VGM. Inoltre, durante la sperimentazione saranno valutate: la stabilità del transgene, la diffusione del polline e il tasso di trasferimento genetico verticale e le possibili alterazioni provocate dalla modificazione genetica sul vino prodotto dalle VGM.

I funghi patogeni, in particolare Oidio (*Uncinula necator*), Peronospora (*Plasmopara viticola*) e Botrytis (*Botrytis cinerea*), rappresentano uno dei principali problemi della viticoltura europea. A livello commerciale, la produzione di VGM resistente ai funghi permetterebbe oltre che ad aumentare la produttività e la qualità delle viti, anche di ridurre l'uso di fungicidi ed evitare alcuni inconvenienti che le sostanze prodotte dai funghi patogeni possono causare durante il processo di vinificazione.

**Tab. 10:** principali caratteristiche della prova sperimentale.

<b>Varietà trasformata</b>	<b>Gene inserito</b>	<b>Prodotto genico</b>	<b>Organismo donatore</b>	<b>Fenotipo</b>	<b>Località</b>
Dornfelder	<i>uidA</i>	beta-glucoronidasi (GUS)	<i>Echerichia coli</i>	Gene marcatore (colorazione blu)	Geilweilerhof
Seyval Blanc	<i>chi26</i>	chitinasi	<i>Hordeum vulgare</i>	Resistenza a funghi	Geilweilerhof
	<i>rip-30</i>	Ribosome-inhibing protein	<i>Hordeum vulgare</i>		
Riesling	<i>chi26</i>	chitinasi	<i>Hordeum vulgare</i>	Resistenza a funghi	Geilweilerhof e Würzburg
	<i>rip-30</i>	Ribosome-inhibing protein			
Riesling	<i>chi26</i>	chitinasi	<i>Hordeum vulgare</i>	Resistenza a funghi	Geilweilerhof
	<i>bgl32</i>	glucanasi			

### **Riassunto della valutazione del rischio eseguita dal notificante**

Visto che la sperimentazione è stata notificata ai sensi della vecchia normativa, Dir. (CE) 90/220, che non prevedeva l'accesso e la divulgazione delle informazioni relative alle richieste di sperimentazione degli OGM, non è stato possibile reperire la valutazione del rischio fornita dall'istituto notificante all'autorità competente tedesca. In seguito saranno riportate le principali informazioni reperite in rete o pubblicate su riviste scientifiche.

Gli scopi della valutazione del rischio, condotta attraverso prove di laboratorio, di serra e di campo hanno riguardato i seguenti aspetti:

- gli effetti diretti e indiretti sugli della modificazione genetica sugli insetti;
- gli effetti sinergici dell'enzima chitinasi combinato con un preparato di tossina Bt sugli insetti;
- la diffusione del polline e il tasso di trasferimento genico verticale;
- gli effetti sui funghi patogeni;
- la stabilità del transgene;
- le alterazioni provocate dalla modificazione genetica sui mosti prodotti dalle VGM.

Per la valutazione degli effetti diretti e indiretti sugli insetti sono state considerate le seguenti specie infestanti: la tignoletta dell'uva (*Lobesia botrana*), la Carpocapsa (*Cydia pomonella*), la nottua (*Maestra brassicae*) e la specie parassitoide *Typhlodromus pyri*. Per ogni specie, nutrita a base di preparati contenenti l'enzima chitinasi, sono stati valutati il vigore ed il tasso di crescita e di mortalità. I risultati delle analisi hanno evidenziato che non ci sono differenze tra gli animali nutriti con cibo contenete l'enzima e i rispettivi controlli,

confermando che l'enzima chitinasi non ha effetti negativi sugli insetti target e non target, sia parassiti che parassitoidi.

Le analisi condotte per valutare gli effetti sinergici dell'enzima chitinasi combinato con un preparato a base di tossina Bt, hanno mostrato che non sono presenti effetti che possono aumentare l'effetto di degradazione dell'enzima sulla membrana peritrofica dell'intestino medio degli insetti, ovvero di aumentare la resistenza della pianta verso gli insetti infestanti<sup>61,62</sup>.

Le prove per la valutazione della diffusione del polline e del tasso di trasferimento genico verticale verso le piante di vite convenzionali, sono state allestite presso la stazione sperimentale di Geilweilerhof. Queste hanno previsto la disposizione di trappole polliniche ad una distanza rispettivamente di 5, 10, 20 e 50 m dalla fonte pollinica costituita da 36 piante di VGM trasformate con il gene GUS, la cui espressione determina una colorazione blu nei tessuti che hanno integrato il transgene (Fig. 11). Allo stesso tempo alcuni semi provenienti dalle VGM sono stati piantati ad una distanza di 5, 10 e 20 m dalle piante di VGM. Questo secondo test è stato effettuato per monitorare il possibile rischio di diffusione del transgene attraverso i semi. I risultati di tali prove non sono ancora stati resi disponibili.

La valutazione della resistenza delle VGM verso i funghi patogeni, obiettivo principale della sperimentazione, ha evidenziato che le viti modificate con i geni per la resistenza ai funghi mostravano la stessa suscettibilità delle viti non trasformate. Il risultato di tale sperimentazione ha quindi confermato che tali geni non sono in grado di contribuire ad aumentare la resistenza della vite verso i funghi patogeni<sup>63</sup>. Visto che lo scopo principale della trasformazione genetica era proprio quello di produrre VGM adatte a risolvere o limitare i numerosi problemi che le patologie fungine provocano al settore vitivinicolo, la sperimentazione è stata interrotta preventivamente in quanto le VGM non hanno prodotto risultati utili a tale scopo.

I risultati delle analisi sensoriali condotte per valutare la qualità del vino ottenuto dalle VGM, non hanno evidenziato differenze nei parametri analizzati rispetto al controllo, ovvero dal mosto ottenuto dalle stesse viti non trasformate<sup>64</sup>.

---

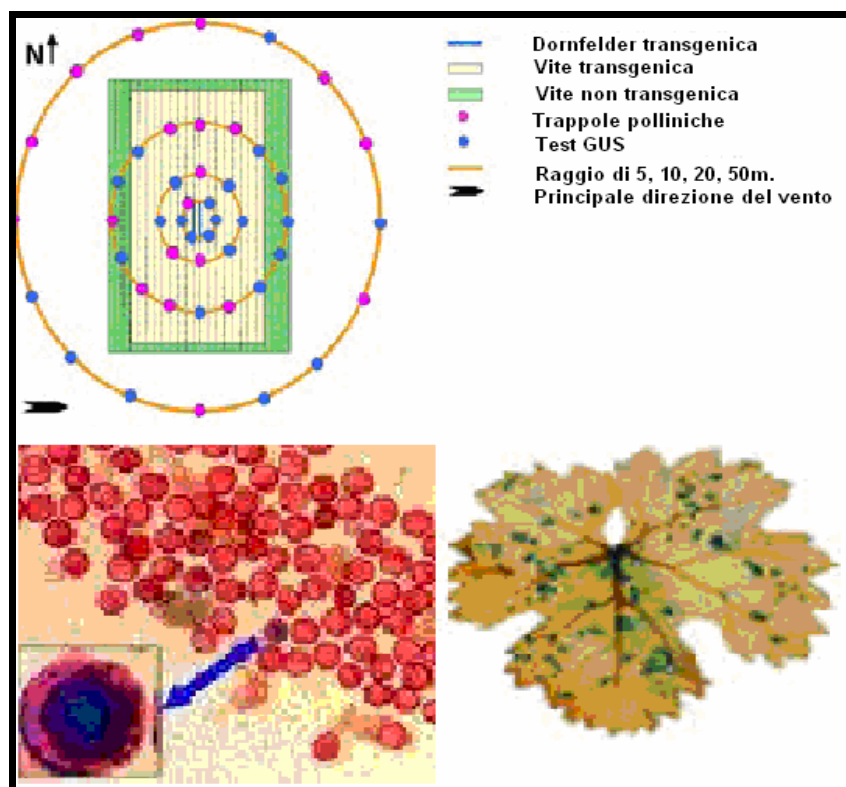
<sup>61</sup> GMO-Safety 2005: Genetically modified fungus-resistant grapevines – possible consequences for non-target organisms? [http://www.gmo-safety.eu/en/safety\\_science/30.docu.html](http://www.gmo-safety.eu/en/safety_science/30.docu.html)

<sup>62</sup> GMO-Safety 2005: Riesling for the predatory mites. <http://www.gmo-safety.eu/en/wood/grapevine/180.docu.html>

<sup>63</sup> Bornhoff BA, Harst M, Zyprian E, Töpfer R: Transgenic plants of *Vitis vinifera* cv. Seyval blanc. *Plant Cell Reports* 2005, 24(7):433-438.

<sup>64</sup> GMO-Safety 2005: Vine trials abandoned. <http://www.gmo-safety.eu/features/printversion.php?id=315&lang=en>

**Fig. 11:** schema del disegno sperimentale per la valutazione del flusso pollinico ed espressione dell'enzima GUS in pollini e foglie.



## Considerazioni sulla notifica

I risultati ottenuti nella sperimentazione tedesca hanno evidenziato che i geni *chi26*, *bgl32*, *rip-30* codificanti rispettivamente per l'enzima chitinasi, glucanasi e per un inibitore delle proteasi (RIP-Ribosome-inhibing protein) non sono in grado di autoproteggere le piante di vite contro l'attacco dei funghi patogeni. In base ai dati analizzati non è comunque stato possibile accertare la causa di tale insuccesso, i cui motivi potrebbero dipendere da numerosi fattori. In particolare, alcuni di questi, potrebbero essere imputabili sia ad un basso profilo di espressione degli enzimi all'interno dei tessuti trasformati che all'inefficienza del meccanismo d'azione dei geni stessi o alla capacità di alcuni ceppi fungini di resistere all'azione litica degli enzimi prodotti dalla modificazione genetica.

Visto l'insuccesso della trasformazione genetica e le pressioni provenienti da alcune organizzazioni ambientaliste e del settore vitivinicolo tedesco relativamente ai rischi posti dalla sperimentazione<sup>65</sup>, che avrebbe dovuto avere una durata di 10 anni, la ricerca è stata

<sup>65</sup> GMO-Safety 2002: An attack on the winegrowing industry?  
<http://www.gmo-safety.eu/features/printversion.php?id=56&lang=en>

interrotta prematuramente. Durante il periodo di studio è stato comunque possibile analizzare alcuni parametri molto importanti per la valutazione del rischio quali gli effetti sugli insetti target e non target, gli effetti della modificazione genetica sulla qualità del vino e la diffusione del transgene. Per quanto riguarda le prime due variabili analizzate, i pochi dati pubblicati, riportano che la modificazione genetica non ha prodotto effetti indesiderati, sebbene non risultino in bibliografia studi adeguati a supporto di tali affermazioni, così come per quanto riguarda le prove condotte per valutare la diffusione del transgene attraverso i pollini e la vitalità dei semi. A livello molecolare non sono stati riportati dati relativamente alla stabilità del transgene, mentre, a livello fenotipico non sono state analizzate le caratteristiche ampelografiche delle VGM rispetto alle corrispettive isogeniche, o per lo meno non risultano dati nella bibliografia scientifica. Inoltre, non è stato considerato il flusso genico orizzontale ed i possibili effetti della modificazione genetica sui microrganismi simbiotici e del suolo.

Continente: **Nord America**

Nazione: **Stati Uniti d'America**

**Tab. 12:** sintesi delle sperimentazioni in corso negli Stati Uniti<sup>66</sup>.

<b>Istituto responsabile della sperimentazione</b>	Cornell University. <a href="http://www.nysaes.cornell.edu/">http://www.nysaes.cornell.edu/</a>
<b>Numero Notifica</b>	Permit 07-060-105N.
<b>Normativa di Riferimento</b>	Regulations (7 CFR 340).
<b>Autorità competente al rilascio</b>	U.S. Department of Agriculture's (USDA) - Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS). <a href="http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml">http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml</a>
<b>Ubicazione del sito sperimentale</b>	New York.
<b>Data di autorizzazione</b>	02-04-2007.
<b>Fine rilascio</b>	01-04-2008
<b>Gene inserito</b>	<i>En42, nptII.</i>
<b>Fenotipo</b>	Resistenza a funghi (Botrytis), tolleranza antibiotici.
<b>Istituto responsabile della sperimentazione</b>	Cornell University. <a href="http://www.nysaes.cornell.edu/">http://www.nysaes.cornell.edu/</a>
<b>Numero Notifica</b>	Permit 07-060-104N.
<b>Normativa di Riferimento</b>	Regulations (7 CFR 340).
<b>Autorità competente al rilascio</b>	U.S. Department of Agriculture's (USDA) - Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS). <a href="http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml">http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml</a>
<b>Ubicazione del sito sperimentale</b>	New York.
<b>Data di autorizzazione</b>	02-04-2007.
<b>Fine rilascio</b>	01-04-2008.
<b>Gene inserito</b>	<i>UidA, nptII.</i>

<sup>66</sup>Fonte: [http://www.nysaes.cornell.edu/pubs/wine\\_grape\\_found/](http://www.nysaes.cornell.edu/pubs/wine_grape_found/);  
<http://www.isb.vt.edu/cfdocs/fieldtests1.cfm>.

<b>Fenotipo</b>	Marcatore visuale, tolleranza antibiotici.
<b>Istituto responsabile della sperimentazione</b>	Cornell University. <a href="http://www.nysaes.cornell.edu/">http://www.nysaes.cornell.edu/</a>
<b>Numero Notifica</b>	Permit 07-060-103N.
<b>Normativa di Riferimento</b>	Regulations (7 CFR 340).
<b>Autorità competente al rilascio</b>	U.S. Department of Agriculture's (USDA) - Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS). <a href="http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml">http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml</a>
<b>Ubicazione del sito sperimentale</b>	New York.
<b>Data di autorizzazione</b>	02-04-2007.
<b>Fine rilascio</b>	01-04-2008.
<b>Gene inserito</b>	<i>Peptidi antimicrobici provenienti da Amaranthus caudatus, Xenopus leavis e di origine sintetica, nptII.</i>
<b>Fenotipo</b>	Marcatore visuale, tolleranza antibiotici.
<b>Istituto responsabile della sperimentazione</b>	Cornell University. <a href="http://www.nysaes.cornell.edu/">http://www.nysaes.cornell.edu/</a>
<b>Numero Notifica</b>	Permit 07-059-111N.
<b>Normativa di Riferimento</b>	Regulations (7 CFR 340).
<b>Autorità competente al rilascio</b>	U.S. Department of Agriculture's (USDA) - Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS). <a href="http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml">http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml</a>
<b>Ubicazione del sito sperimentale</b>	Texas.
<b>Data di autorizzazione</b>	04-04-2007.
<b>Fine rilascio</b>	04-03-2008.
<b>Gene inserito</b>	<i>MSI-99, peptide antimicrobico di origine sintetica, MagII, PGL, UidA e nptII.</i>
<b>Fenotipo</b>	Resistenza a batteri, tolleranza antibiotici.
<b>Istituto responsabile della sperimentazione</b>	Cornell University. <a href="http://www.nysaes.cornell.edu/">http://www.nysaes.cornell.edu/</a>
<b>Numero Notifica</b>	Permit 06-165-01N.
<b>Normativa di Riferimento</b>	Regulations (7 CFR 340).

<b>Autorità competente al rilascio</b>	U.S. Department of Agriculture's (USDA) - Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS). <a href="http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml">http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml</a>
<b>Ubicazione del sito sperimentale</b>	California.
<b>Data di autorizzazione</b>	15-07-2006.
<b>Fine rilascio</b>	14-07-2007.
<b>Gene inserito</b>	Informazioni confidenziali, <i>nptII</i> .
<b>Fenotipo</b>	Resistenza a virus (GFLV), tolleranza antibiotici.
<b>Istituto responsabile della sperimentazione</b>	Cornell University. <a href="http://www.nysaes.cornell.edu/">http://www.nysaes.cornell.edu/</a>
<b>Numero Notifica</b>	Permit 06-053-08N.
<b>Normativa di Riferimento</b>	Regulations (7 CFR 340).
<b>Autorità competente al rilascio</b>	U.S. Department of Agriculture's (USDA) - Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS). <a href="http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml">http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml</a>
<b>Ubicazione del sito sperimentale</b>	Texas.
<b>Data di autorizzazione</b>	20-03-2006.
<b>Fine rilascio</b>	31-12-2011.
<b>Metodo di trasformazione</b>	Biolistico.
<b>Gene inserito</b>	Informazioni confidenziali.
<b>Fenotipo</b>	Resistenza a batteri (Morbo di Pierce).
<b>Istituto responsabile della sperimentazione</b>	Cornell University. <a href="http://www.nysaes.cornell.edu/">http://www.nysaes.cornell.edu/</a>
<b>Numero Notifica</b>	Permit 06-062-07N.
<b>Normativa di Riferimento</b>	Regulations (7 CFR 340).
<b>Autorità competente al rilascio</b>	U.S. Department of Agriculture's (USDA) - Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS). <a href="http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml">http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml</a>
<b>Ubicazione del sito sperimentale</b>	Texas.
<b>Data di autorizzazione</b>	04-04-2006.

<b>Fine rilascio</b>	04-06-2007.
<b>Cultivar</b>	Chardonnay and Merlot.
<b>Metodo di trasformazione</b>	Biolistico.
<b>Gene inserito</b>	Antimicrobial peptide PGL, Magainin, <i>nptII</i> .
<b>Fenotipo</b>	Resistenza a batteri (Morbo di Pierce), tolleranza antibiotici.
<b>Istituto responsabile della sperimentazione</b>	Cornell University. <a href="http://www.nysaes.cornell.edu/">http://www.nysaes.cornell.edu/</a>
<b>Numero Notifica</b>	Permit 02-129-04N.
<b>Normativa di Riferimento</b>	Regulations (7 CFR 340).
<b>Autorità competente al rilascio</b>	U.S. Department of Agriculture's (USDA) - Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS). <a href="http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml">http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml</a>
<b>Ubicazione del sito sperimentale</b>	New York.
<b>Data di autorizzazione</b>	10-06-2002.
<b>Fine rilascio</b>	10-06-2007.
<b>Gene inserito</b>	Informazioni confidenziali, <i>nptII</i> .
<b>Fenotipo</b>	Resistenza a funghi, tolleranza antibiotici.
<b>Istituto responsabile della sperimentazione</b>	Cornell University. <a href="http://www.nysaes.cornell.edu/">http://www.nysaes.cornell.edu/</a>
<b>Numero Notifica</b>	Permit 00-063-06N.
<b>Normativa di Riferimento</b>	Regulations (7 CFR 340).
<b>Autorità competente al rilascio</b>	U.S. Department of Agriculture's (USDA) - Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS). <a href="http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml">http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml</a>
<b>Ubicazione del sito sperimentale</b>	New York e California.
<b>Data di autorizzazione</b>	01-04-2000.
<b>Fine rilascio</b>	01-04-2010.
<b>Cultivar</b>	Chardonnay and Merlot.
<b>Metodo di trasformazione</b>	Biolistico

<b>Gene inserito</b>	Chitinasi, <i>nptII</i> .
<b>Fenotipo</b>	Resistenza a funghi (Oidio, Botrytis), tolleranza antibiotici.
<b>Istituto responsabile della sperimentazione</b>	Cornell University. <a href="http://www.nysaes.cornell.edu/">http://www.nysaes.cornell.edu/</a>
<b>Numero Notifica</b>	Permit 98-133-06N, 98-090-04N.
<b>Normativa di Riferimento</b>	Regulations (7 CFR 340).
<b>Autorità competente al rilascio</b>	U.S. Department of Agriculture's (USDA) - Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS). <a href="http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml">http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml</a>
<b>Ubicazione del sito sperimentale</b>	New York e California.
<b>Data di autorizzazione</b>	01-05-1998.
<b>Fine rilascio</b>	30-11-2008.
<b>Cultivar</b>	Chardonnay and Merlot.
<b>Metodo di trasformazione</b>	Biolistico.
<b>Gene inserito</b>	Chitinase, <i>nptII</i> .
<b>Fenotipo</b>	Resistenza a funghi (Oidio, Botrytis), tolleranza antibiotici.
<b>Istituto responsabile della sperimentazione</b>	The State University of New York- Department of biology. <a href="http://www.geneseo.edu/~bio/">http://www.geneseo.edu/~bio/</a>
<b>Numero Notifica</b>	Permit 06-214-109N.
<b>Normativa di Riferimento</b>	Regulations (7 CFR 340).
<b>Autorità competente al rilascio</b>	U.S. Department of Agriculture's (USDA) - Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS). <a href="http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml">http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml</a>
<b>Ubicazione del sito sperimentale</b>	New York.
<b>Data di autorizzazione</b>	08-06-2006.
<b>Fine rilascio</b>	08-06-2007.
<b>Cultivar</b>	Niagara e Concord ( <i>Vitis labrusca</i> L.).
<b>Metodo di trasformazione</b>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> .
<b>Gene inserito</b>	<i>Drr206</i> (Lignan biosynthesis protein), <i>nptII</i> .

<b>Fenotipo</b>	Resistenza a funghi (Oidio), tolleranza antibiotici.
<b>Istituto responsabile della sperimentazione</b>	The State University of New York - Department of biology. <a href="http://www.geneseo.edu/~bio/">http://www.geneseo.edu/~bio/</a>
<b>Numero Notifica</b>	Permit 05-101-06N.
<b>Normativa di Riferimento</b>	Regulations (7 CFR 340).
<b>Autorità competente al rilascio</b>	U.S. Department of Agriculture's (USDA) - Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS). <a href="http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml">http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml</a>
<b>Ubicazione del sito sperimentale</b>	New York.
<b>Data di autorizzazione</b>	26-05-2005.
<b>Fine rilascio</b>	26-05-2009.
<b>Cultivar</b>	Niagara ( <i>Vitis labrusca</i> L.).
<b>Metodo di trasformazione</b>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> .
<b>Gene inserito</b>	<i>Drr206</i> (Lignan biosynthesis protein), <i>nptII</i> .
<b>Fenotipo</b>	Resistenza a funghi (Oidio), tolleranza antibiotici.
<b>Istituto responsabile della sperimentazione</b>	University of California, Davis - Department of Viticulture and Enology. <a href="http://wineserver.ucdavis.edu/">http://wineserver.ucdavis.edu/</a>
<b>Numero Notifica</b>	Permit 04-170-09N, Permit 04-170-10N.
<b>Normativa di Riferimento</b>	Regulations (7 CFR 340).
<b>Autorità competente al rilascio</b>	U.S. Department of Agriculture's (USDA) - Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS). <a href="http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml">http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml</a>
<b>Ubicazione del sito sperimentale</b>	California.
<b>Data di autorizzazione</b>	20-06-2004.
<b>Fine rilascio</b>	20-06-2014.
<b>Cultivars</b>	Chardonnay, Thompson Seedless, Saint George (portinnesto).
<b>Metodo di trasformazione</b>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> .
<b>Gene inserito</b>	Pear Polygalacturonase Inhibitor Protein (PGIP), Green Fluorescence Protein (GFP), Ribosome-Inactivating Protein (RIP), <i>nptII</i> .

<b>Fenotipo</b>	Resistenza a batteri, marcatore visuale, tolleranza antibiotici.
<b>Istituto responsabile della sperimentazione</b>	University of Florida. <a href="http://www.ifas.ufl.edu/">http://www.ifas.ufl.edu/</a>
<b>Numero Notifica</b>	06-256-101N, 06-256-102n, 06-256-103N.
<b>Normativa di Riferimento</b>	Regulations (7 CFR 340).
<b>Autorità competente al rilascio</b>	U.S. Department of Agriculture's (USDA) - Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS). <a href="http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml">http://www.aphis.usda.gov/brs/regulatory_activities.shtml</a>
<b>Ubicazione del sito sperimentale</b>	Isole vergini.
<b>Data di autorizzazione</b>	01-11-2006.
<b>Fine rilascio</b>	30-10-2007.
<b>Gene inserito</b>	<i>Vitis vinifera</i> thaumatin-like protein gene (VVTL-1), synthetic lytic peptide gene A, green fluorescent protein (gfp), neomycin phosphotransferase II ( <i>nptII</i> ).
<b>Fenotipo</b>	Resistenza a funghi, resistenza a batteri, tolleranza antibiotici.

## Stato della sperimentazione negli Stati Uniti

Dal 1997 ad oggi sono state presentate all'autorità competente statunitense, "U.S. Department of Agriculture's (USDA) - Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS)", 55 richieste per la sperimentazione in campo di vite geneticamente modificata, di cui 47 autorizzate e 17 attualmente in corso<sup>67</sup>. I centri di ricerca coinvolti nelle 17 sperimentazioni in corso sono 4:

### *Cornell University*

Le principali linee di ricerca condotte dall'Università di Cornell di New York riguardano la trasformazione di vite geneticamente modificata per conferire alle piante la resistenza ai funghi ed ai batteri patogeni. In particolare, i target della modificazione genetica sono i funghi patogeni *Uncinula necator* (Oidio o mal bianco) e *Botrytis cinerea* (Botrytis o muffa grigia) e il batterio *Xylella fastidiosa* causa della malattia di Pierce.

Il mal bianco e la muffa grigia sono tra le più diffuse patologie fungine della vite. La prima colpisce i tessuti verdi della vite e si presenta sotto forma di muffa biancastra. L'attacco

<sup>67</sup> <http://www.isb.vt.edu/cfdocs/fieldtests1.cfm>

sugli acini porta alla loro spaccatura. Attualmente la difesa della pianta avviene attraverso preparati a base di zolfo e diversi altri principi attivi.

La seconda patologia si manifesta sulle parti verdi e sui grappoli come una muffa grigiastra. Oltre ai danni sulla produttività, l'attacco fungino porta nella massa ammostata sostanze chimiche (laccasi e glucani) che alterano le attitudini tecnologiche delle uve durante i processi di vinificazione. In particolare, la laccasi provoca l'alterazione dei composti fenolici causando intorbidimenti, mentre, i glucani aumentano il tasso di combinazione dell'anidride solforosa provocando difficoltà nel processo di chiarificazione dei vini. La difesa della pianta si effettua attraverso l'utilizzo di prodotti rameici e numerosi altri principi attivi. Oltre alle cure dirette, sia per il mal bianco che per la muffa grigia, molto importanti risultano anche le pratiche indirette volte all'utilizzo di buone prassi agronomiche come ad esempio: controllo delle concimazioni (evitare eccessive concimazioni azotate), controllo del vigore vegetativo, controllo dell'irrigazioni ove presente, ecc.

L'agente patogeno della malattia di Pierce è il batterio *Xylella fastidiosa*. La patologia si manifesta con irregolare ed incompleta maturazione del legno e, a livello anatomico, con l'occlusione dei vasi xilematici da cui ne consegue un progressivo deterioramento della pianta e la morte entro 4 o 5 anni nelle piante adulte, mentre, sulle piante giovani la morte avviene molto rapidamente entro i primi anni dall'infezione, così come nelle piante adulte suscettibili. La malattia, trasmessa da Cicadellidi (cicaline), viene combattuta attraverso la lotta contro i vettori con l'utilizzo di insetticidi e mediante l'estirpazione delle piante infestanti che ospitano le cicaline. Non esistono metodi diretti per la lotta al batterio, le piante infette devono essere estirpate e distrutte.

Delle 17 sperimentazioni in campo attualmente in corso, la Cornell University è responsabile di 10 di queste.

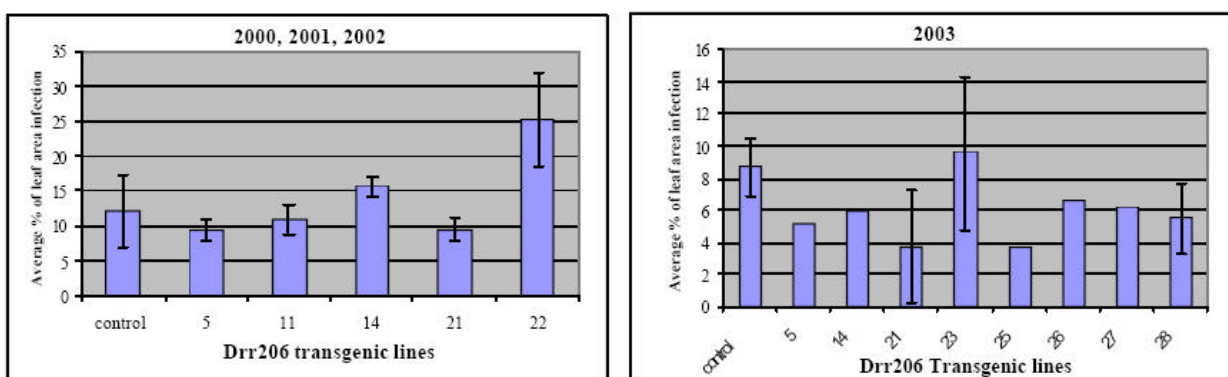
Le viti geneticamente modificate, sia attraverso *Agrobacterium tumefaciens* che con metodo biolistico, appartengono principalmente a cultivars di Chardonnay, Merlot, Pinot noir, Chancellor, Concord e Niagara. Sebbene diversi geni, sia di origine biologica che sintetica, siano finora stati testati (Tab. 12), la loro efficacia è ancora al vaglio dei gruppi di ricerca coinvolti nelle sperimentazioni.

#### *The State University of New York at Geneseo*

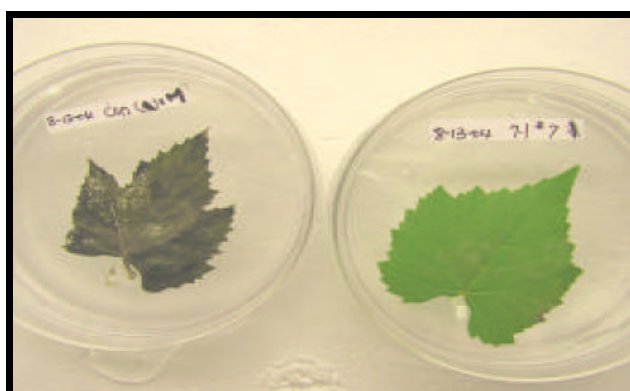
Le linee di ricerca in corso presso l'università di New York sono volte principalmente alla produzione di viti resistenti ai funghi patogeni. Particolare attenzione è rivolta verso la malattia dell'Oidio. Attualmente, l'Università ha in corso due campi sperimentali per la valutazione di vite geneticamente modificata attraverso *Agrobacterium tumefaciens*, cultivars Niagara e Concord, con il gene *Drr206* proveniente dal pisello (*Pisum sativum*) per conferire

alle piante la resistenza a *Uncinula necator* (Oidio). I risultati preliminari delle prove di campo relative agli anni 2000, 2001, 2002 e 2003 sembrano indicare una tendenziale diminuzione della percentuale fogliare infetta nelle piante transgeniche rispetto alle corrispettive isogeniche (Grafico 1). Tali differenze non risultano comunque statisticamente significative ed, in alcuni casi, i cloni transgenici mostrano una suscettibilità maggiore alla malattia. Inoltre, i risultati preliminari hanno evidenziato differenze significative nelle dimensioni delle piante, fenotipo derivato da cause ancora da verificare. Purtroppo, questi dati non sono stati ulteriormente approfonditi visto che improvvisamente la maggior parte delle piante sono state uccise da un trattamento erbicida applicato ad un vigneto commerciale adiacente<sup>68</sup>. Risultati positivi sono stati ottenuti anche in viti transgeniche modificate con il gene *Fshp* di *Fusarium* codificante per una DNAsi. I dati ottenuti in laboratorio saranno approfonditi in successivi studi di campo (Foto 12).

**Grafico 1:** percentuale fogliare infettata da *Uncinula necator* in cloni di Concord transgenici (5, 11, 14, 21, 22) e rispettivi controlli (colonna 1).



**Foto 12:** infezione di *Uncinula necator* su foglie di Niagara transgeniche (a destra) e corrispettive isogeniche (a sinistra).



<sup>68</sup> Chang MM: Molecular Characterization and Disease Resistance Analysis of Niagara Grapes Containing a Pea Drr206 and Fusarium DNase genes. Cornell University publications, annual report. <http://www.nysaes.cornell.edu/pubs/vitcon/pdf/chang01.pdf>

Le principali linee di ricerca in corso presso il Dipartimento di Viticoltura ed Enologia dell'Università californiana di Davis, riguardano l'ingegnerizzazione di piante di vite resistenti alla malattia di Pierce (Foto 13), causata dal batterio *Xylella fastidiosa*. Nella parte sud occidentale degli Stati Uniti la malattia è endemica. Le prime grandi epidemie sono state riscontrate già nel tardo 1800, dove vennero distrutti oltre 14.000 ettari di vigneto nella zona di Los Angeles. Durante il corso degli anni sono stati identificati diversi vettori della malattia appartenenti alla famiglia dei Cicadellidi (cicaline). Attualmente, il principale vettore risulta essere l'emittero *Homalodisca coagulata* (Glassy-Winged Sharoshooter – foto 14) che attaccando le foglie della vite trasmette il batterio alle piante. Questo insetto è caratterizzato da tassi di sopravvivenza e riproduzione molto elevati.

E' stato stimato che in California, la produzione di viti transgeniche resistenti alla malattia di Pierce potrebbe far risparmiare circa 78 milioni di euro all'anno che si spendono per i trattamenti insetticidi contro l'insetto vettore *Homalodisca coagulata*<sup>69</sup>.

Allo stato attuale non risultano evidenze scientifiche sull'efficacia delle viti transgeniche testate nei campi sperimentali californiani nell'autodifendere la pianta dalla malattia di Pierce.

**Foto 13:** sintomi della malattia di Pierce.



**Foto 14:** *Homalodisca coagulata*.



---

<sup>69</sup> Giacessi LP, Silvers CS, Sankula S, Carpenter JE: Plant biotechnology: current and potential impact for improving pest management In U.S. agriculture. An analysis of 40 case studies. Bacterial Resistant Grape. National Center for Food and Agricultural Policy, giugno 2002. <http://www.ncfap.org/40CaseStudies/CaseStudies/grapebr.pdf>

*University of Florida*

Come per gli altri istituti statunitensi, i ricercatori dell'Università della Florida, sono impegnati in linee di ricerca volte alla produzione di vite resistenti sia agli attacchi fungini (Oidio e Botrytis) che batterici (Morbo di Pierce). Anche per quanto riguarda queste linee di ricerca, in cui da diversi anni sono al vaglio dei ricercatori diversi geni potenzialmente in grado di conferire alla pinta le caratteristiche desiderate<sup>70</sup>, non risultano fino ad ora studi scientifici a conferma di tali evidenze.

### **Considerazioni sulla notifica**

La normativa statunitense in materia di rilasci confinati di OGM (Regulations 7 CFR 340), non prevede la partecipazione pubblica ai processi decisionali di autorizzazione per il rilascio confinato di un qualsiasi OGM ma si limita a pubblicare una tabella riassuntiva delle sperimentazioni sul sito dell'autorità competente: <http://www.isb.vt.edu/cfdocs/fieldtests1.cfm>. Non è stato quindi possibile condurre una valutazione dettagliata sui possibili impatti che potrebbero derivare dall'utilizzo di tali tecnologie. Per quanto riguarda invece le possibili applicazioni, a livello bibliografico, non risultano evidenze riguardanti l'efficacia di tale tecnologia nel conferire alla vite la resistenza ai funghi e ai batteri patogeni considerati. Va comunque segnalato che è già stato depositato presso l'ufficio brevetti degli Stati Uniti un brevetto per la produzione di piante resistenti ai patogeni da parte dell'Università della Florida<sup>71</sup>.

---

<sup>70</sup> <http://www.isb.vt.edu/cfdocs/fieldtests1.cfm>.

<sup>71</sup> <http://www.google.com/patents?hl=it&lr=&vid=USPAT6232528&id=G8MIAAAAEBAJ&oi=fnd&dq=Scorza++Disease+Resistance+in+Vitis+US+Patent+2001>.

## ***Vite geneticamente modificata per ricerche di base.***

Continente: **Africa**

Nazione: **Sud Africa**

**Tab 13:** scheda sintetica.

<b>Istituto responsabile della sperimentazione</b>	Institute for Wine Biotechnology - Stellenbosch University <a href="http://academic.sun.ac.za/wine_biotechnology/">http://academic.sun.ac.za/wine_biotechnology/</a> .
<b>Titolo Progetto</b>	Valutazione della stabilità a lungo termine e dell'espressione del transgene in piante di vite coltivate nelle normali condizioni di pieno campo.
<b>Normativa di Riferimento</b>	Genetically Modified Organisms Act [No. 15 of 1997] del 23 maggio 1997.
<b>Autorità competente al rilascio</b>	Department of Agriculture. <a href="http://www.nda.agric.za/">http://www.nda.agric.za/</a>
<b>Data di autorizzazione</b>	In fase di autorizzazione
<b>Informazioni tecniche</b>	
<b>Cultivar</b>	Sultana e Chardonnay
<b>Metodo di trasformazione</b>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>
<b>Gene inserito</b>	SC4-uidA-ocs, nos-nptII-nos
<b>Fenotipo</b>	Gene marcatore e tolleranza antibiotici.

### **Informazioni sulla notifica**

La notifica riguarda la sperimentazione, su una superficie pari a 930 m<sup>2</sup>, di vite geneticamente modificata (VGM), varietà Sultana e Chardonnay, con il gene marcatore *uidA* proveniente dal batterio *Echerichia coli* e codificante per l'enzima beta-glucoronidasi (GUS), posto sotto il controllo del promotore virale Sc4 che consente di esprimere il gene in tutti i tessuti della pianta. Oltre al gene di interesse le piante presentano il gene *nptII* che conferisce la resistenza agli antibiotici aminoglicosidici (Kanamicina, Gentamicina, Streptomina ecc.). Le viti, modificate attraverso *Agrobacterium tumefaciens*, saranno innestate su portinnesti USVIT 8-7 non transgenici messi precedentemente a dimora.

Lo scopo della notifica è quello di valutare la stabilità a lungo termine e l'espressione del transgene in piante di vite coltivate nelle normali condizioni di pieno campo. L'enzima

GUS, infatti, consente in un semplice saggio di laboratorio di convertire un substrato incolore in un composto blu ed è utilizzato come marcatore per caratterizzare l'espressione dei geni nei tessuti in cui la trasformazione genetica ha avuto successo, ovvero, in cui il transgene si è integrato nel genoma cellulare.

Oltre alla stabilità genetica del transgene sarà valutata la sostanziale equivalenza tra le VGM e le corrispettive isogeniche sia per quanto riguarda le caratteristiche ampelografiche che, quelle dei vini ottenuti dalla varietà Chardonnay.

### **Riassunto della valutazione del rischio eseguita dal notificante**

Il sito sperimentale sarà messo a dimora nella stazione di ricerca di Welgevallen dell'Università di Stellenbosch. Nelle vicinanze di tale zona, tranne un appezzamento in cui è presente della canna da zucchero, non si rileva né la presenza di vegetazione spontanea né quella di animali selvatici. La più vicina area abitata dista a 350 m a sud-ovest dalla zona di rilascio, mentre, il vigneto più vicino riguarda una prova sperimentale di vite non GM posta a 260 m di distanza. La fonte di acqua naturale più vicina è costituita dal fiume Eerste, posto a circa 500 m dal sito di rilascio, mentre a circa 180 e 280 m di distanza sono presenti due canali irrigui artificiali.

Il campo sperimentale sarà recintato con una rete metallica alta 2,2 m per evitare l'ingresso di persone non autorizzate, mentre per evitare la dispersione del transgene nell'ambiente, tutti i fiori saranno incappucciati e le piante saranno coperte da una rete anti uccelli posta a dimora prima della formazione dei frutti. Tutto il materiale residuo proveniente dalla VGM sarà rimosso e incenerito.

### **Considerazioni sulla notifica**

Il campo sperimentale proposto sarà il primo nel suo genere; infatti, attualmente non esistono campi sperimentali di vite transgenica in Sud Africa. Questa sarà il primo di una serie di prove sperimentali in campo di diversi cloni di VGM che sono stati finora testati solo in serra all'interno del "Grapevine Biotechnology Program"<sup>72</sup> condotto dall'istituto notificante.

Tale decisione, secondo il sondaggio telefonico condotto da Biowatch Sud Africa<sup>73</sup>, ha destato la preoccupazione della maggior parte dei soggetti coinvolti nella filiera vitivinicola. Infatti, circa il 74% dei soggetti intervistati non era d'accordo con la sperimentazione di

---

<sup>72</sup> [http://academic.sun.ac.za/wine\\_biotechnology/](http://academic.sun.ac.za/wine_biotechnology/)

<sup>73</sup> Biowatch South Africa press releases, 16 oct 2006: Serious flaws in application for genetically modified grapevine field trial. <http://www.biowatch.org.za/main.asp?show=40>

VGM, affermando che tale tecnologia non risulta appropriata alle caratteristiche del settore vitivinicolo sudafricano e, contribuirebbe a metterlo in serio pericolo considerando anche la diffidenza dei mercati europei, principali acquirenti del vino sudafricano, all'utilizzo di OGM. In una dichiarazione pubblica essi affermano che: "In un settore competitivo come quello vitivinicolo, dove l'immagine riveste una grande importanza, i produttori sudafricani non vogliono essere coloro che per primi si troveranno a produrre quello che su diversi giornali<sup>74</sup> viene già descritto come *Frankenwine*. Non saranno quindi disposti ad utilizzare OGM per la produzione di vino fino a quando gli OGM non saranno accettati a livello internazionale<sup>75</sup>". Alcune notizie di stampa, inoltre, hanno riportato che il solo dibattito relativo alla sperimentazione di VGM in corso ha fatto sì che diminuisse la domanda di importazione del vino sudafricano da parte dei principali acquirenti europei, Inghilterra e Germania<sup>76</sup>. Anche diverse organizzazioni ambientaliste ed alcuni istituti hanno sollevato grande preoccupazione relativamente ai rischi per l'ambiente che potrebbe derivare da tale sperimentazione<sup>77,78</sup>.

In seguito si riportano le principali obiezioni sollevate dalle associazioni e organizzazioni sudafricane.

### **Obiezioni sollevate dal dottor Stafford, ricercatore dell' Advanced Research Centre for Applied Microbiology, University of the Western Cape per conto di Biowatch Sud Africa<sup>79</sup>.**

#### **Osservazioni generali**

Le informazioni rese pubbliche dal notificante differiscono in molti punti rispetto a quelle riportate nella documentazione fornita all'autorità competente. Infatti, nella documentazione resa pubblica si omette di dire che le piante transgeniche sono state

---

<sup>74</sup> Goering L: Will Frankenwine be lurking in your cellar? Starttribune.com press releases, 12 dicembre 2006.

<http://www.startribune.com/789/story/869993.html>

<sup>75</sup> Jonker K: Cape Winemakers Guild Members Reject Commercial Use of GM Yeast and Vines. South African WINE.CO.ZA press releases, 01 gennaio 2007.

<http://www.wine.co.za/news/news.aspx?NEWSID=9537>

<sup>76</sup> Chicago Tribune press releases, 12 agosto 2006: Lab-altered grapes uncork fears of 'frankenwine'.

<http://www.gene.ch/genet/2006/Dec/msg00049.html>

<sup>77</sup> Fresh Plaza press releases 17 ottobre 2006: South Africa: protests at Stellenbosch transgenic grapevine experiment. [http://www.freshplaza.com/2006/17oct/2\\_za\\_grape\\_experiment.htm](http://www.freshplaza.com/2006/17oct/2_za_grape_experiment.htm)

<sup>78</sup> African Centre for Biosafety and Earthlife Africa press releases 15 ottobre 2006: South Africa's wine industry threatened by gm grapevine trials.

<http://www.munlochygmvigil.org.uk/southafrica.htm#Anchor-South-3800>

<sup>79</sup> Biowatch South Africa 2006: Objection to intentional trial release of genetically modified grapevine plants into the environment at Welgevallen, Stellenbosch, submitted by the Institute of Wine Biotechnology, Department of Viticulture and Oenology, Stellenbosch University. [http://www.biowatch.org.za/docs/grapevine\\_objection.pdf](http://www.biowatch.org.za/docs/grapevine_objection.pdf)

trasformate con il gene *nptII* per la tolleranza agli antibiotici ed inoltre si indica che la trasformazione genetica è avvenuta utilizzando il promotore CaMV 35S, mentre, nella documentazione fornita all'autorità competente risulta un promotore virale diverso (sc4).

Le informazioni rese pubbliche dal notificante sono poco comprensibili ad un pubblico non esperto e non permettono quindi una partecipazione attiva al processo decisionale di autorizzazione.

Lo scopo della notifica è quello di valutare la stabilità a lungo termine e l'espressione del transgene in piante di vite coltivate nelle normali condizioni di pieno campo. La stabilità a lungo termine implica l'eredità stabile (oltre diverse generazioni) del transgene, ma sembra che in questo studio si voglia considerare la stabilità di una sola generazione. Dovrebbe quindi essere specificato il termine "stabilità a lungo termine" e il numero di anni in cui si intende valutarla.

### **Osservazioni specifiche**

#### Rischi connessi all'utilizzo e alla possibile diffusione nell'ambiente del promotore CaMV 35S e del gene *uidA* e *nptII*.

Visto i rischi derivati dall'utilizzo del promotore virale CaMV 35S sarebbe stato più idoneo utilizzare un promotore diverso. Infatti, esistono evidenze di laboratorio<sup>80</sup> e di campo<sup>81,82,83,84</sup> che indicano come l'utilizzo del promotore CaMV 35S sia causa dell'incremento della ricombinazione genetica, fenomeno che potrebbe condurre ad effetti pleiotropici indesiderati oltre che essere la causa della formazione di nuovi ceppi virali.

Anche i possibili rischi connessi alla diffusione nell'ambiente del gene *uidA* sono molto rilevanti. Alcuni studi dimostrano che l'espressione dell'enzima GUS nelle piante causa l'incremento del numero e della vitalità degli afidi fitofagi<sup>85</sup>, fenomeno che può quindi

---

80 Kohli A, Griffiths S, Palacios N, Twyman R, Vain P, Laurie D, Christou P: Molecular characterization of transforming plasmid rearrangements in transgenic rice reveals a recombination hot spot in the CaMV 35S promoter and confirms the predominance of microhomology mediated recombination. *Plant J.* 1999, 17:591-601. <http://www.blackwell-synergy.com/links/doi/10.1046/j.1365-313X.1999.00399.x/full/?cookieSet=1>

81 Collonier C, Berthier G, Boyer F, Duplan M-N, Fernandez S, Kebdani N, Kobilinsky A, Romanuk M, Bertheau Y: Characterization of commercial GMO inserts: a source of useful material to study genome fluidity. Poster courtesy of Pr. Gilles-Eric Seralini, Président du Conseil Scientifique du CRII-GEN, [www.crii-gen.org](http://www.crii-gen.org)

82 Ho MW, Ryan A, Cummins J: CaMV35S promoter fragmentation hotspot confirmed and it is active in animals. *Microbial Ecology in Health and Disease* 2002, 12:189.

83 Ho MW, Ryan A, Cummins J: Hazards of transgenic plants with the cauliflower mosaic viral promoter. *Microbial Ecology in Health and Disease* 2000, 12:6-11.

84 Ho MW, Cummins J, Ryan A: *Transgenic Instability*. ISIS publications, London 2002.

<http://www.i-sis.org.uk/full/pdf/ISIS%20REPRINTS%20-%20transgenic%20instability.pdf>

85 Cherqui A, Alla S, Saguez J, Doury G, Sangwan-Norreel BS, Giordanengo P: Probiotic effects of beta-glucuronidase on the peach-potato aphid *Myzus persicae* (Aphididae). *Journal of Insect Physiology* 2003, 49(12):1199-209.

aumentare i danni alla pianta con conseguenti perdita di produttività. Inoltre, considerando che il gene *uidA* è associato al promotore virale CaMV 35S e che gli afidi possono fungere da vettori delle malattie virali, la presenza nella pianta del costrutto genico CaMV 35S-*uidA* aumenta il rischio di ricombinazione con ceppi virali da cui ne potrebbe scaturire l'aumento della virulenza o la formazione di nuovi ceppi virali<sup>86</sup>.

Il gene *uidA* proviene dal batterio *Escherichia coli* che come è nota, si trova naturalmente presente nell'intestino umano. L'ingestione del DNA transgenico introdotto nell'organismo con gli alimenti (Acini ecc.) può causare attraverso flusso genico orizzontale il trasferimento del transgene alla flora batterica intestinale<sup>87</sup>. Considerando che il promotore CaMV 35S è attivo in *E. coli*<sup>88,89</sup>, questo può provocare alti livelli di espressione dell'enzima B-glucuronidasi (GUS) nell'intestino umano. Gli effetti dell'aumento di questo enzima nell'organismo umano non sono chiari, anche se si pensa che elevati livelli dell'enzima GUS nel latte materno possono contribuire all'innalzamento della bilirubina totale nei neonati, causa dell'ingiallimento della congiuntiva oculare.

Il trasferimento genico orizzontale del gene *nptII*, che conferisce la resistenza agli antibiotici aminoglicosidici come la Streptomina, verso i microrganismi della flora intestinale, simbiotici e del suolo, potrebbe diminuire l'efficacia dei trattamenti a base di questi antibiotici che in Sud Africa sono tuttora utilizzati in campo medico e veterinario.

### Inadeguatezza delle analisi

#### *Caratterizzazione molecolare*

I metodi utilizzati per valutare la stabilità del transgene non sono sufficienti per confermare l'integrità e la stabilità del costrutto genico. Una corretta valutazione avrebbe dovuto essere condotta effettuando le seguenti analisi:

- analisi PCR del DNA genomico condotta su almeno 20 piante con *primers* costruiti sulle sequenze fiancheggianti le cassette transgeniche inserite, al fine di valutare la presenza di mutazioni puntiformi;

---

<http://www.u-picardie.fr/PCP/data/pub/2003-Cherqui%20et%20al.J%20Insect%20Physiol.pdf>

<sup>86</sup> Greene AE, Allison RF: Recombination between viral RNA and transgenic plant transcripts. *Science* 1994, 263:1423-5.

<sup>87</sup> Faber F, van Elsas JD: Transfer of DNA from genetically modified plants to bacteria. COGEM research reports, 15 April 2005. Number: CGM 2005-02. <http://www.cogem.net/pdfdb/rapport/CGM2005-02.pdf>

<sup>88</sup> Assaad FF, Signer ER: Cauliflower mosaic-virus p35S promoter activity in *Escherichia coli*. *Molecular and General Genetics* 1990, 223(3):517-520.

<sup>89</sup> Gaffney PT, Buttenshaw RL, Ward M, Diplock RD: Breast milk beta-glucuronidase and neonatal jaundice. *Lancet* 1986, May 17;1(8490):1161-2.

- analisi RT-PCR per determinare la stabilità dell'inserito genico in una determinata regione;
- analisi real-time PCR o Southern blot per quantificare il numero di copie geniche inserite;
- analisi genomiche per verificare la stabilità del transgene attraverso repPCR, RAPD e CGH. Queste analisi risultano utili per verificare l'integrità del transgene. Infatti, in seguito alla trasformazione si può verificare la frammentazione della cassetta genica che può causare la perdita dei *primers* associati al transgene e la loro dislocazione a distanza dal sito di inserzione (> 10 KBp), dando origine a falsi negativi quando l'analisi è condotta utilizzando una semplice PCR.

#### *Rischi per l'ambiente e la biodiversità*

In base ai dati forniti dal notificante non è chiaro se saranno condotte analisi per la valutazione del rischio ambientale e i relativi piani di monitoraggio (valutazione del trasferimento genico orizzontale e verticale, trattamento dei residui della lavorazione, ecc.). Inoltre, sia i metodi utilizzati per contenere la dispersione del polline che quelli previsti per evitare gli eventuali effetti sugli organismi che possono venire a contatto con la pianta risultano inadeguati. A tale scopo si dovrebbe indicare la dimensione delle maglie delle reti che verranno utilizzate per proteggere la pianta da eventuali organismi ospiti, fitofagi o parassiti che popolano il vigneto al fine di evitare la diffusione del transgene e i rischi connessi.

### **Osservazioni effettuate da Biowatch South Africa<sup>90</sup> alle risposte fornite dal notificante<sup>91</sup> relative alle obiezioni sollevate dal dottor Stafford.**

#### **Osservazioni generali**

Il notificante ha messo a disposizione del pubblico informazioni che risultano poco chiare e di difficile comprensione.

Ci sono grandi discrepanze tra le informazioni diffuse al pubblico e quelle realmente riportate sulla notifica fornita all'autorità competente.

---

<sup>90</sup> Biowatch South 2006: Africa replies to comments from the University of Stellenbosch's Institute for Wine Biotechnology on objections lodged to the Institute's application for field trials with genetically modified grapevines. <http://www.biowatch.org.za/docs/grapevine1110-06.pdf>

<sup>91</sup> Institute for Wine Biotechnology 2006: In reply to the Objection of Biowatch and ACB to the intentional trial release of genetically modified grapevine plants into the environment at Welgevallen, Stellenbosch, the IWBT compiled the following document: [http://academic.sun.ac.za/wine\\_biotechnology/](http://academic.sun.ac.za/wine_biotechnology/)

La valutazione del rischio fornita dal notificante è inadeguata.

La notifica è in contraddizione con le politiche che il settore vitivinicolo sudafricano sta adottando per condurre un'agricoltura sostenibile rispettosa dell'ambiente.

## **Osservazioni specifiche**

### Valutazione del rischio ambientale

#### *Trasferimento genico verticale*

Le misure di precauzione prese per evitare il rischio di trasferimento genico verticale del polline verso le altre colture di vite non sono sufficienti. Infatti, l'incappucciamento dei fiori non offre una protezione del 100% e si consiglia quindi che le infiorescenze vengano recise.

Dovrebbe essere specificato il diametro delle maglie delle reti che verranno utilizzate per isolare la pianta dagli altri organismi e riportare evidenze sull'effettiva efficienza di protezione offerta da tali reti.

#### *Trasferimento genico orizzontale (TGO)*

Il notificante considera che il rischio di TGO verso i microrganismi del suolo o dell'intestino umano sia, in base alle evidenze scientifiche riportate<sup>92</sup>, molto improbabile. Le attuali evidenze dimostrano però che il TGO può avvenire con frequenza elevata quando sono presenti sequenze omologhe. I batteri del suolo presentano nel loro genoma molte sequenze omologhe a quelle del gene *nptIII*, fatto che contribuisce ad aumentare la frequenza di ricombinazione. Inoltre, uno studio condotto dalla British Food Standards Agency ha confermato il TGO tra il DNA ingerito con gli alimenti e i batteri della flora microbica gastro-intestinale<sup>93</sup>. Se questo avvenisse verso quei microrganismi che causano malattie all'organismo umano si avrebbe una perdita di efficacia degli antibiotici aminoglicosidici (verso i quali il gene *nptIII* conferisce la resistenza) che, a differenza dei paesi industrializzati, sono ampiamente utilizzati in Sud Africa per la cura di diverse malattie come la Tubercolosi<sup>94</sup>.

---

<sup>92</sup> Jelenic S: Controversy Associated With the Common Component of Most Transgenic Plants – Kanamycin Resistance Marker Gene. Food Technol. Biotechnol. 2003, 41(2):183–190.

<sup>93</sup> Netherwood T, Martín -Orúe SM, O'Donnell AG, Gockling S, Graham J, Mathers JC, Gilbert HJ. Assessing the survival of transgenic plant DNA in the human gastrointestinal tract. Nature Biotechnol 2004, 22:204-209.

<sup>94</sup> World Health Organization 2006. Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis. WF 310. [http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241546956\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241546956_eng.pdf)

### *Effetti sugli organismi non target*

Alcuni studi dimostrano che l'espressione dell'enzima GUS è causa nelle piante dell'incremento del numero e della vitalità degli afidi fitofagi<sup>95</sup>. Sebbene questi studi prendano in considerazione un afide che non attacca le piante di vite, esistono in natura numerose altre specie di afidi, come la Fillossera, che potrebbero subire effetti simili a quelli riscontrati nello studio citato, fatto che si aggrava se si considera che la vite è infettata da numerosi virus i cui vettori non sono stati ancora studiati. Quindi, essendo noto che gli afidi possono fungere da vettori virali<sup>96</sup>, la presenza del costrutto genico Sc4-uidA aumenta il rischio che si creino nuovi virus patogeni per la pianta, rischio che aumenta considerando che non esistono studi relativi alla stabilità del promotore Sc4.

---

<sup>95</sup> Cherqui A, Alla S, Saguez J, Doury G, Sangwan-Norreel BS, Giordanengo P: Probiotic effects of beta-glucuronidase on the peach-potato aphid *Myzus persicae* (Aphididae). *Journal of Insect Physiology* 2003, 49(12):1199-209.

<http://www.u-picardie.fr/PCP/data/pub/2003-Cherqui%20et%20al.J%20Insect%20Physiol.pdf>

<sup>96</sup> Martelli GP: Graft-transmissible diseases of grapevines - Handbook for detection and diagnosis. Food and Agriculture Organization of the United Nations 1993. <http://www.fao.org/docrep/T0675E/T0675E00.htm>

## ***Altri stati impegnati in ricerche sulla trasformazione genetica della vite***

Oltre ai gruppi di ricerca responsabili delle sperimentazioni citate, ve ne sono diversi altri che a livello mondiale stanno sviluppando ricerche volte alla trasformazione genetica della vite attraverso le tecniche del DNA ricombinante, tra cui: Chile<sup>97</sup>, Bulgaria<sup>98</sup>, Georgia, Israele<sup>99</sup>, Slovenia, Estonia<sup>100</sup>, Spagna, Svizzera<sup>101</sup>, Tunisia<sup>102</sup> e Giappone<sup>103</sup>. Sebbene diversi di questi stanno già collaborando con gruppi di lavoro coinvolti in alcune sperimentazioni attualmente in campo, non è da escludere che anche in questi stati potranno essere a breve presentate richieste di sperimentazione in pieno campo.

---

<sup>97</sup> Reyes F, Reyes MA, Castro A, Araya S, Dell'Orto P, Moynihan MR, Muñoz C, Prieto H, Hinrichsen P: A mid-scale platform for genetic transformation of different grapevine varieties: use of Thompson seedless as a model.

International Symposium on Biotechnology of Temperate Fruit Crops and Tropical Species, October 10-14, 2005 - Daytona Beach, FL, USA.

<http://conference.ifas.ufl.edu/ishscrops/ISHS%20Abstract%20Book.pdf>

<sup>98</sup> Gutoranov GP, Tsvetkov II, V. Colova-Tsolova VM, Atanassov AI: Genetically engineered grapevines carrying GFLV coat protein and antifreeze genes. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 2001, 66(1): 71-76.

<sup>99</sup> Ford Runge R, Barry Ryan MS: The Global Diffusion of Plant Biotechnology: international adoption and research in 2004. University of Minnesota.

<http://www.apec.umn.edu/faculty/frunge/globalbiotech04.pdf>

<sup>100</sup> Atti del: 8th International Symposium on the Biosafety of Genetically Modified Organisms September 26 - 30, 2004, Montpellier, France.

<http://www.inra.fr/gmobiosafety/upload/8ISBGMProceedings.pdf?PHPSESSID=3bde443eb3c166ca027aa7eb42c8619c>

<sup>101</sup> Spielmann A, Krastanova S, Douet-Orhant VV, Gugerli P. Analysis of transgenic grapevine (*Vitis rupestris*) and *Nicotiana benthamiana* plants expressing an Arabis mosaic virus coat protein gene. *Plant Sci.* 2000 Jul 28;156(2):235-244.

<sup>102</sup> Jardak-Jamoussi R, Bouamama B, Wetzel T, Mliki A, Reustle GM, Ghorbel A: Evaluation of different gene constructs for production of resistant grapevines against grapevine fanleaf and arabis mosaic viruses. *Acta Hort. (ISHS)* 2003, 603:315-323.

<sup>103</sup> Yamamoto T, Iketani H, Ieki H, Nishizawa Y, Notsuka K, Hibi T, Hayashi T, Matsuta N: Transgenic grapevine plants expressing a rice chitinase with enhanced resistance to fungal pathogens. *Plant Cell Reports* 2000, 19(7):639-646.

#### **4. Stato dell'arte: applicazione ed impatti**

Fino ai primi anni novanta la vite è stata considerata una specie recalcitrante alla rigenerazione in vitro e alla trasformazione genetica. Grazie al miglioramento delle tecniche di rigenerazione in vitro, in particolare delle conoscenze relative all'utilizzo di colture di cellule embriogenetiche, le pubblicazioni inerenti alla trasformazione genetica di piante di vite sono diventate sempre più numerose. Se fino a quel momento hanno riguardato principalmente ricerche di base per la validazione di protocolli di rigenerazione e trasformazione genetica, a partire dai primi anni del 2000, la bibliografia scientifica è andata via via pubblicando sempre più lavori volti alla valutazione delle caratteristiche agronomiche necessarie per una futura applicazione commerciale della vite geneticamente modificata, così come dimostrano anche le sperimentazioni attualmente in corso. Sebbene alcuni ricercatori affermino che la commercializzazione di VGM potrebbe avvenire entro 5 o 10 anni<sup>104</sup>, e nonostante le prime sperimentazioni in campo abbiano avuto luogo già a partire dal 1994, in generale i dati presenti in bibliografia non sembrano dimostrare che l'applicazione di VGM possa avere rispetto alle attuali piante non transgeniche, vantaggi tali da poterne giustificare un'imminente introduzione sul mercato. Anche gli studi relativi ai possibili impatti, che risultano fondamentali per una possibile accettazione futura della vite transgenica, nonché per adempiere ai requisiti normativi, risultano attualmente molto limitati (Tab. 14).

---

<sup>104</sup> Thomas MR, Iocco P: Transgenic grapevine: Status and future. *Acta Hort* 2000, 528:279–287.

Tab. 14	Sud Africa		Stati Uniti		Germania	Francia	Romania	Canada	Australia			Italia	
	Gene	uidA	MST-99- Mag1- PGL- PGIP- RIP- VVTL-1	En42- chi- Drr206	ch26- bg32- rip- 30	CP	CP	Mn-SOD	Sh4	inv	Dfr e ufgt	ppo	
Fenotipo	Gene marcatore	Resistenza a batteri	Resistenza a funghi	Resistenza a funghi	Resistenza a funghi	Resistenza a virus	Resistenza a virus	Tolleranza stress abiotici	Regolazione sviluppo fiore e frutto	Aumento sintesi zuccheri	Aumento/ diminuzione e sintesi antocianine	Rallentamento imbrunimento	Partenocarpico
Impatto su microrganismi e TGO	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
Impatto su organismi non target	No	No	No	No	Si	No	No	No	No	No	No	No	No
TGV	No	No	No	No	Si	No	No	No	Si	Si	Si	No	No
Analisi Mosti	Si	No	No	No	Si	No	No	No	Si	Si	Si	Si	Si
Analisi Bacche	Si	No	No	No	Si	No	No	No	Si	Si	Si	Si+	Si+
Caratterizzazione molecolare	Si	No	No	No	Si	Si+	Si	No	Si+	Si+	Si+	Si+	Si+
Stabilità del transgene	Si	No	No	No	Si	Si+	Si	No	No	No	No	No	No
Analisi fenotipiche	Si	No	No	No	No	No	No	No	Si	Si	Si	Si	Si+
Analisi di tossicità/allergenicità	Si	No	No	No	No	No	No	No	Si	Si	Si	Si	No
Efficacia	Si	No	No	No	No	Si	No	No	No	No	No	No	Si

**No:** parametro non considerato o informazione non disponibile. **Si:** parametro considerato, ma nessun dato relativo pubblicato. **Si+:** parametro considerato i cui risultati non hanno evidenziato differenze significative tra la vite transgenica e il controllo. **Si-:** parametro considerato i cui risultati hanno evidenziato differenze significative tra la vite transgenica e il controllo.

- 1- Costantini E, Landi L, Silvestroni O, Pandolfini T, Spina A, Mezzetti B: Auxin synthesis-encoding transgene enhances grape fecundity. Plant Physiology Preview. Published on March 2, 2007, as DOI:10.1104/pp.106.095232. <http://www.plantphysiol.org/cgi/rapidpdf/pp.106.095232v1>
- 2- Vigne E, Komar V, Fuchs M: Field safety assessment of recombination in transgenic grapevines expressing the coat protein gene of Grapevine fanleaf virus. Transgenic Res. 2004, 13(2):165-79.

## **4.1 Stato della modificazione delle caratteristiche qualitative**

Italia e Australia sono gli unici due stati che hanno finora sperimentato in campo viti geneticamente modificate per caratteri qualitativi. La ricerca italiana ha evidenziato che il gene *iaaM* proveniente dal batterio *Pseudomonas savastanoi* è in grado di conferire alla vite il fenotipo partenocarpico ed aumentare la produttività delle piante, così come dimostrato anche su altre colture. A livello commerciale, le VGM trasformate per il carattere partenocarpico potrebbe trovare applicazione nel settore delle uve da tavola. Comunque, vista l'attuale riluttanza del consumatore all'utilizzo di OGM e gli attuali problemi di eccedenze produttive, sarà molto difficile che tale tecnologia possa trovare una collocazione sul mercato, visti anche i limitati benefici che apporterebbe al settore.

Per quanto riguarda invece le ricerche australiane, volte alla sperimentazione di viti transgeniche modificate per caratteri quali il contenuto zuccherino, la pigmentazione delle bacche, il ritardo dell'imbrunimento e lo sviluppo dei fiori e dei frutti, allo stato attuale non vi sono evidenze che dimostrino l'efficacia di tali geni nel conferire le proprietà desiderate. Inoltre, non è ancora stato possibile verificare se l'interazione dei geni inseriti con il genotipo ospite possa interagire con vie metaboliche diverse, producendo effetti pleiotropici indesiderati sulle altre caratteristiche qualitative quali il contenuto zuccherino, l'acidità totale, il contenuto di fenoli ecc. Ad esempio, nei risultati della sperimentazione italiana sono state rilevate differenze significative per il valore di acidità totale nel clone di Thompson GM rispetto al controllo, mentre il clone di Silcora è stato caratterizzato da un minor tenore di zuccheri totali e da un'acidità totale maggiore rispetto al controllo.

## **4.2 Stato della resistenza agli stress abiotici**

Il Canada è l'unico stato in cui si stanno conducendo prove sperimentali di campo con viti geneticamente modificate per resistere agli stress abiotici ed in particolare agli stress ossidativi causati dalle basse temperature. Sebbene tali sperimentazioni siano iniziate nel 1997, ad oggi non ci sono evidenze bibliografiche che dimostrino la maggior tolleranza alle basse temperature delle viti transgeniche modificate con il gene codificante per l'enzima Mn-superossido dismutasi, così come è stato invece evidenziato in colture di erba medica. Oltre al Canada, anche gruppi di ricerca bulgari e dell'Università della Florida stanno portando avanti ricerche relative alla resistenza verso gli stress ossidativi che sono però ancora confinate in studi di laboratorio.

### **4.3 Stato della resistenza ai virus**

La resistenza ai virus è uno dei principali traguardi del miglioramento genetico della vite, e tanti sono i gruppi di ricerca impegnati per ottenere tale carattere. Primi tra questi, i ricercatori francesi dell' *Institut National de la Recherche Agronomique* (INRA) che per primi hanno sperimentato in pieno campo portinnesti transgenici modificati con geni virali per conferire alle piante la resistenza al virus dell'arriccamento.

Sebbene gran parte della comunità scientifica sia oggi d'accordo che la trasformazione della vite con geni virali possa costituire un valido approccio per il raggiungimento di tale scopo, i dati disponibili, riferiti principalmente all'utilizzo della proteina del capsido isolata da virus diversi (principalmente GFLV), sembrano confermare solo parzialmente tale successo. Ad esempio, nel lavoro più citato nel fare riferimento all'efficacia di tale tecnologia (Vigne *et al.*, 2004) su un totale di 18 cloni transgenici testati (16 di 41B e 2 di SO4), solo 3 hanno dimostrato resistenza verso il virus GFLV rispetto ai controlli non transgenici. Negli altri lavori presenti in bibliografia, invece, non vengono riportati dati specifici sul grado di resistenza ai virus delle VGM testate, sebbene si concluda che in generale la tecnologia possa essere un valido rimedio per conferire alla vite la resistenza contro i virus stessi<sup>105, 106</sup>. Va comunque sottolineato che attraverso queste metodiche è già stato possibile conferire la resistenza a virus ad alcune colture, quali zucca, pomodoro e papaya.

Il miglioramento delle conoscenze relative ai meccanismi di silenziamento genico e di RNA interferenza e quelle riguardanti l'interazione tra virus e pianta, permetteranno in futuro di chiarire meglio la possibile efficacia di tale tecnologia nell'autodifendere la vite dagli attacchi virali. Inoltre, essendo la vite una coltura con ciclo produttivo di circa 20/30 anni, il numero limitato e la breve durata delle sperimentazioni condotte fino ad ora, non ha permesso di valutare in modo approfondito e pienamente rappresentativo elementi utili per la valutazione dell'impatto ambientale e delle caratteristiche agronomiche, quali ad esempio la stabilità del transgene e quindi la persistenza del fenotipo negli anni o la probabilità di ricombinazione virale. I pochi studi di campo condotti non hanno comunque evidenziato, come mostrato invece in diverse evidenze di laboratorio, un aumento del tasso di ricombinazione tra il prodotto transgenico e l'RNA virale. Anche gli studi preliminari per verificare il trasferimento del prodotto del transgene dal portinnesto GM al nesto non GM hanno dato esito negativo, rilevando l'assenza del prodotto transgenico nei tessuti dei nesti

---

<sup>105</sup> Atti del: 15th Meeting of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine (ICVG). 3-7 April 2006, Stellenbosch, South Africa, pp 54-66. <http://www.icvg.ch/archive.htm>

<sup>106</sup> Atti del: 14th Meeting of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine. September 12 – 17, 2003. Locorotondo, Bari. <http://www.agr.uniba.it/ICVG2003/>

non GM. Ulteriori studi dovranno essere condotti per verificare se tale trasferimento possa essere mediato dai virus che infettano la pianta<sup>107</sup>.

#### **4.4 Stato della resistenza ai funghi**

La resistenza ai patogeni fungini, così come quella verso i virus, è uno dei maggiori traguardi dell'ingegneria genetica applicata alla vite. Particolare attenzione è stata rivolta fino ad ora verso Oidio e Botrytis, due tra le principali patologie fungine. Numerosi geni con proprietà antimicrobica sono stati isolati e testati su varietà commerciali. Tra questi, quello che sembrava aver dato risposte migliori era il gene *chi26* proveniente dall'orzo e codificante per l'enzima chitinasi. Tale enzima, in grado di rompere la parete cellulare dei funghi prevenendone così la penetrazione nei tessuti della pianta, avrebbe potuto svolgere una funzione a largo spettro d'azione verso le diverse patologie fungine. Viti modificate con il gene *chi26* sono state testate in Germania e sono attualmente in campo in diverse prove negli Stati Uniti. La sperimentazione tedesca, che doveva durare fino al 2010, è terminata prematuramente con esiti negativi, evidenziando che le piante trasformate con il gene *chi26* mostravano la stessa suscettibilità ai patogeni fungini delle piante non trasformate.

Relativamente alle prove statunitensi, al momento non ci sono dati in grado di confermare o meno le evidenze riscontrate nelle sperimentazioni condotte in Germania. Per quanto riguarda gli altri geni con proprietà antifungine al vaglio dei ricercatori, ad oggi non ci sono evidenze bibliografiche relative alla loro possibile efficacia di campo, sebbene alcuni di questi sembrano avere dato risposte interessanti. Si tratta in particolare del gene *Drr206* proveniente da *Pisum sativum* e coinvolto nella biosintesi della lignina e del gene *Fshp* di *Fusarium* Sp. codificante per una DNAsi.

---

<sup>107</sup> Laval V, Komar V, Loudes AM, Fuchs M: Assessment of the translocation of Grapevine fanleaf virus coat protein transgene-derived products from transgenic grapevine rootstocks to nontransgenic grapevine scions. 8th International Symposium on the Biosafety of Genetically Modified Organisms September 26 - 30, 2004, Montpellier, France.

<http://www.inra.fr/gmobiosafety/upload/8ISBGMOProceedings.pdf?PHPSESSID=3bde443eb3c166ca027aa7eb42c8619c>

- Vigne E, Komar V, Fuchs M: Field safety assessment of recombination in transgenic grapevines expressing the coat protein gene of Grapevine fanleaf virus. *Transgenic Res.* 2004, 13(2):165-79.

- Fuchs, M, Cambra M, Capote N, Jelkmann W, Laval V, Martelli GP, Minafra A, Petrovic N, Pfeiffer P, Pompe-Novak M, Ravelonandro M, Saldarelli P, Stussi-Garaud C, Vigne E, Zagari I: Safety assessment of transgenic plums and grapevines expressing viral coat protein genes: New insights into real environmental impact of perennial plant engineered for virus resistance. *Journal of Plant Pathology*, 2007, 89:5-12.

## **4.5 Stato della resistenza ai batteri**

In questo settore di studio le linee di ricerca che si trovano ad uno stadio più avanzato riguardano quelle condotte negli Stati Uniti relative al morbo di Pierce il cui agente patogeno è il batterio *Xylella fastidiosa*. Sebbene da diversi anni, sia in California che in Florida e nello stato di New York, siano al vaglio dei ricercatori piante di vite trasformate con geni aventi attività antimicrobica provenienti da specie diverse, oltre che di origine sintetica, allo stato attuale non vi sono evidenze che dimostrino l'efficacia di tali geni nel conferire alle piante la resistenza alla malattia.

## **4.6 Stato della valutazione degli Impatti**

La valutazione degli impatti che possono derivare dall'utilizzo della vite geneticamente modificata sulla salute, sull'ambiente e sul sistema socio-economico, risulta una questione cruciale per una possibile futura accettazione di tale tecnologia. Tale valutazione dovrà essere condotta caso per caso considerando il tipo di modificazione apportata. In particolare, incrociando le modalità di propagazione della vite con i possibili bersagli della modificazione genetica è possibile riconoscere quattro casi differenti che meritano ognuno una valutazione del rischio specifica:

- **VGM innestata su portinnesto GM;**
- **VGM autoradicata;**
- **VGM innestata su portinnesto non GM;**
- **VGM da utilizzare come portinnesto per vite non GM.**

Per una rassegna dettagliata dei possibili impatti della VGM vedere le schede di progetto scaricabili alla pagina web: <http://www.consigliodirittigenetici.org/vitevita>

### **4.6.1 Impatti sul suolo e i cicli biogeochimici**

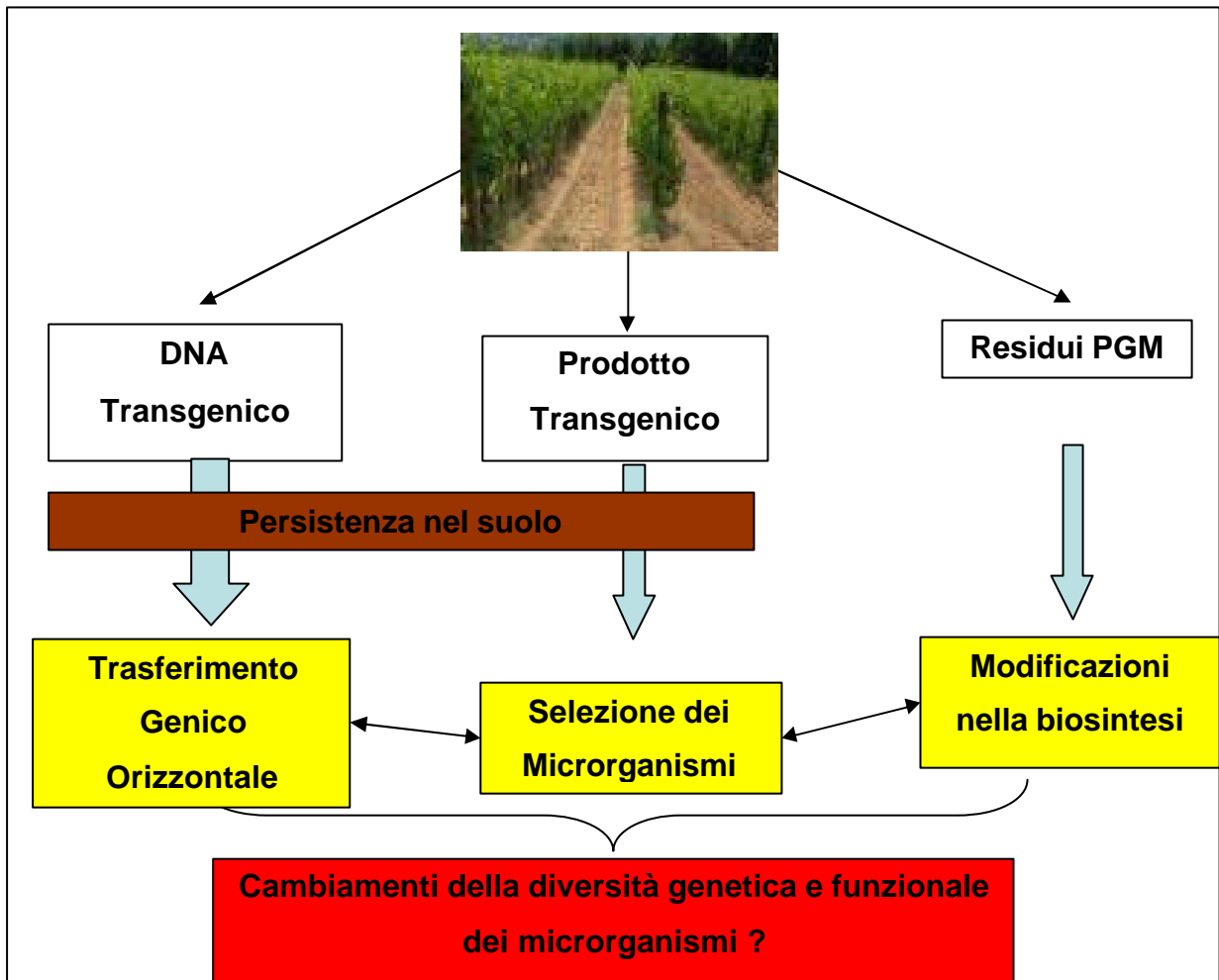
I principali effetti sul suolo e i cicli biogeochimici conseguenti al rilascio di vite geneticamente modificata riguardano:

- gli effetti diretti sugli organismi non target del suolo e della rizosfera (nematodi, batteri, funghi, ecc);
- gli effetti indiretti sulla biodiversità delle comunità microbiche, sui cicli biogeochimici, sulla fertilità del suolo e quindi sulla produttività delle piante.

A livello sperimentale risulta perciò importante analizzare le fonti che potrebbero condurre a tali rischi, quali: il trasferimento genico orizzontale del transgene e la tossicità del prodotto del transgene stesso che può essere rilasciato attraverso gli essudati radicali o residui della vite geneticamente modificata (Schema 2).

L'analisi delle sperimentazioni condotte finora ha evidenziato che in nessuna di queste sono stati considerati tali rischi, così come previsto anche dalla normativa europea vigente.

**Schema 2:** possibili interazioni tra vite geneticamente modificata e suolo.



#### 4.6.2 Impatti sull'ambiente

I principali effetti sull'ambiente conseguenti al rilascio di vite geneticamente modificata riguardano:

- diminuzione della biodiversità;
- effetti negativi sugli organismi target e non-target;
- sviluppo di resistenza ai pesticidi e agli erbicidi;
- possibilità che la pianta GM divenga infestante e/o invasiva;
- inquinamento genetico di *cultivars* della stessa specie;
- inquinamento genetico di piante selvatiche sessualmente compatibili.

A livello sperimentale risulta perciò importante verificare le fonti che potrebbero condurre a tali rischi, in particolare:

- la disseminazione del transgene attraverso trasferimento genetico verticale (TGV) o mediante propagazione sessuata e asessuata delle VGM, attraverso i semi o parti vegetative;
- la tossicità delle piante;
- il tasso di ricombinazione genetica nel caso di piante trasformate con geni virali;

La valutazione del trasferimento genetico verticale e quindi delle distanze di impollinazione, risulta una variabile determinante per la stima dei possibili rischi derivanti dall'inquinamento genetico delle piante sessualmente compatibili, necessaria tra l'altro per la stesura di eventuali piani di coesistenza tra viti transgeniche, convenzionali e biologiche. Sebbene si ritenga in generale che la vite sia una pianta autogama caratterizzata da una spiccata cleistogamia, allo stato attuale delle conoscenze risulta molto difficile stimare quale sia la distanza effettiva per la messa in sicurezza di una possibile coltura di vite transgenica. I dati riportati nella bibliografia scientifica e nella documentazione relativa alle notifiche, infatti, sono molto limitati e alquanto discordanti. Malgrado questo, solo la sperimentazione tedesca e quella australiana hanno previsto l'analisi del flusso genico verticale. Nella maggior parte delle notifiche si ritiene invece che il rischio di TGV sia limitato, anche se nella documentazione relativa alla notifica italiana si fa riferimento al fatto che il polline può essere riscontrato anche a distanze pari a 8-10 km. Inoltre, alcuni studi dimostrano una correlazione positiva tra il numero di granuli pollinici presenti nell'aria e la produttività della vite<sup>108</sup>, mentre altri riportano una correlazione negativa tra produttività della vite e distanza del campo degli alveari, supponendo che anche gli insetti impollinatori come le api possano avere un ruolo importante nella fecondazione dei fiori<sup>109</sup>. Va infine considerato che anche gli specifici eventi di trasformazione potrebbero interagire con i processi di fecondazione ed impollinazione alterandone le normali caratteristiche.

Uno dei rischi maggiori relativi alla diffusione del transgene nel caso di utilizzo di VGM riguarda la possibile disseminazione dei semi da parte degli uccelli, che può raggiungere distanze variabili tra 25 e 70 Km. Se si pensa che un stormo di 5000 uccelli può consumare oltre una tonnellata di cibo ogni dieci giorni, e che in generale un acino d'uva può contenere da 2 a 4 semi vitali<sup>110</sup>, si comprende come il pericolo di diffusione accidentale dei semi ed il rischio ad esso connesso risulti molto elevato, considerando anche l'ipotetico caso di una coltivazione su larga scala di VGM. Per limitare questi rischi, tutte le

---

<sup>108</sup> Sedgley M: Flowering of Deciduous Perennial Fruit Crops. Horticultural Reviews 2003, 12:223-264.

<sup>109</sup> McGregor SE: Insect Pollination of Cultivated Crop Plants: Grape. United States Department of Agriculture (1976).

<http://gears.tucson.ars.ag.gov/book/chap7/grape.html>

<sup>110</sup> Mark Rieger. Grapes - Vitis spp. The University of Georgia 2002, pp. 1-11. (<http://www.uga.edu/fruit/grape.htm>).

sperimentazioni hanno finora previsto l'incappucciamento dei fiori prima della fioritura e/o l'utilizzo di reti antiuccelli. Bisogna allora chiedersi come sarà possibile limitarli nel caso ipotetico di future colture commerciali. I dati ottenuti fino ad ora non permettono comunque di fare una valutazione approfondita degli impatti derivati. Infatti, solo nella sperimentazione tedesca è stato considerato il tasso di germinabilità dei semi provenienti dalle VGM, i cui dati non sono ancora stati pubblicati.

I rischi di tossicità e di ricombinazione genetica dovranno essere valutati caso per caso tenendo conto del tipo di modificazione apportata alle piante. Tali rischi sono stati presi in considerazione solo nella sperimentazione condotta in Germania relativamente agli artropodi non target e in quelle condotte in Francia e Romania relativamente al rischio di ricombinazione virale tra il trascritto transgenico e il genoma virale. I risultati di queste analisi non hanno evidenziato effetti negativi imputabili alla modificazione genetica.

### **4.6.3 Impatti sulla salute e le caratteristiche organolettiche**

I principali impatti sulla salute conseguenti all'utilizzo di vite transgenica riguardano i rischi di allergicità e tossicità, inoltre, l'introduzione del transgene nel genoma ospite può causare effetti indesiderati sulle caratteristiche peculiari del prodotto come ad esempio il contenuto di polifenoli totali, l'acidità, il contenuto zuccherino ecc.

In fase sperimentale uno dei fattori per la prevenzione di questi rischi riguarda la caratterizzazione molecolare dell'evento di trasformazione, ovvero in che modo il gene si inserisce nel genoma ospite (numero di copie, presenza di frammenti di DNA indesiderati, assenza di delezioni o riarrangiamenti), fattori che possono causare l'espressione e/o la sovraespressione di proteine potenzialmente tossiche o allergiche per la salute. Un recente lavoro di revisione relativo alla caratterizzazione molecolare degli eventi di trasformazione autorizzati fino ad oggi, in effetti, ha evidenziato la presenza di sequenze indesiderate nella maggior parte di questi, confermando l'imprecisione delle tecniche di trasformazione nonché di quelle utilizzate per la caratterizzazione molecolare<sup>111</sup>. Per quanto riguarda i cloni di vite testati nelle diverse sperimentazioni, la documentazione relativa alla caratterizzazione molecolare ha evidenziato la presenza nel genoma delle piante ospiti di più copie del transgene. In particolare, in alcuni cloni di vite trasformati nella sperimentazione australiana, sono state individuate fino a 6 copie del transgene, mentre in quelli francesi fino a due copie, fatto che conferma la casualità e l'imprecisione delle

---

<sup>111</sup> Wilson AK, Latham JR, Steinbrecher RA: Transformation-induced mutations in transgenic plants. Analysis and biosafety implications. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews* 2006, 23:209-234.

tecniche di trasformazione attualmente utilizzate.

Le analisi per la rilevazione di sequenze genomiche indesiderate sono state condotte nella maggior parte dei lavori utilizzando la tecnica Southern blot, che in generale non ha evidenziato la presenza di delezioni, riarrangiamenti o di sequenze indesiderate. Comunque tale tecnica, utilizzata come unico strumento per la caratterizzazione molecolare, come riportato nel lavoro citato in precedenza, può sottostimare la presenza di eventuali mutazioni nel sito di inserzione. Le successive analisi composizionali dell'alimento risultano perciò fondamentali per caratterizzare l'innocuità del prodotto. Nel caso della vite dovranno poi essere valutati i principali parametri delle bacche e dei mosti, quali: il contenuto di zuccheri, l'acidità titolabile, il pH, il contenuto di acido malico, citrico e tartarico, la capacità antiossidante ed il contenuto di polifenoli totali. I risultati relativi a tali analisi sono stati finora descritti relativamente alla sperimentazione italiana, a quella tedesca, e in un lavoro condotto in Slovenia<sup>112</sup>. I dati preliminari, seppure molto limitati, non sembrano comunque riportare differenze statisticamente significative per i parametri analizzati tra i mosti ottenuti da uve transgeniche rispetto ai controlli isogenici, tranne che nella sperimentazione italiana, dove sono state rilevate differenze significative per il valore di acidità totale nel clone di Thompson GM rispetto al controllo, mentre il clone di Silcora GM è stato caratterizzato da un minor tenore di zuccheri totali e da un'acidità totale maggiore.

Anche per quanto riguarda gli attuali metodi per la valutazione della tossicità/allergenicità degli alimenti GM, diversi scienziati sostengono che le prove che tuttora vengono eseguite prima della loro immissione sul mercato non sono sufficienti a garantire la non allergenicità del prodotto del transgene. Esse si basano quasi esclusivamente sull'assenza di omologie con le proteine conosciute come allergeniche. Questo tipo di approccio non è sufficiente per assicurare l'innocuità degli alimenti GM; infatti le proteine transgeniche sono spesso diverse da quelle normalmente presenti nella dieta umana e, come tali, non possono essere state ancora studiate né classificate come allergeniche o non allergeniche, oltre al fatto che è sufficiente l'avvicendamento di pochi amminoacidi per trasformare una proteina innocua in una allergenica<sup>113</sup>. Per quanto riguarda la tossicità vi è carenza di modelli universalmente approvati soprattutto per le analisi sulla tossicità sub-cronica, ovvero per gli effetti a medio

---

<sup>112</sup> Plahuta P e Raspor P: Comparison of hazards: Current vs. GMO wine.

<http://209.85.135.104/search?q=cache:VTfyg4lkuWsl:www.aseanfood.info/scripts/>

<sup>113</sup> Wal JM: Strategies for assessment and identification of allergenicity in novel food. Int. Dairy Journal 1994, 8:413-423.

e lungo termine<sup>114</sup>. Per questo motivo non si può arrivare a conclusioni certe sulla salubrità o meno di un determinato prodotto GM.

La predisposizione di specifici piani di monitoraggio al fine di individuare eventuali effetti indesiderati non considerati nella valutazione del rischio è l'unico mezzo attualmente disponibile per assicurare l'assenza di tali rischi in fase commerciale.

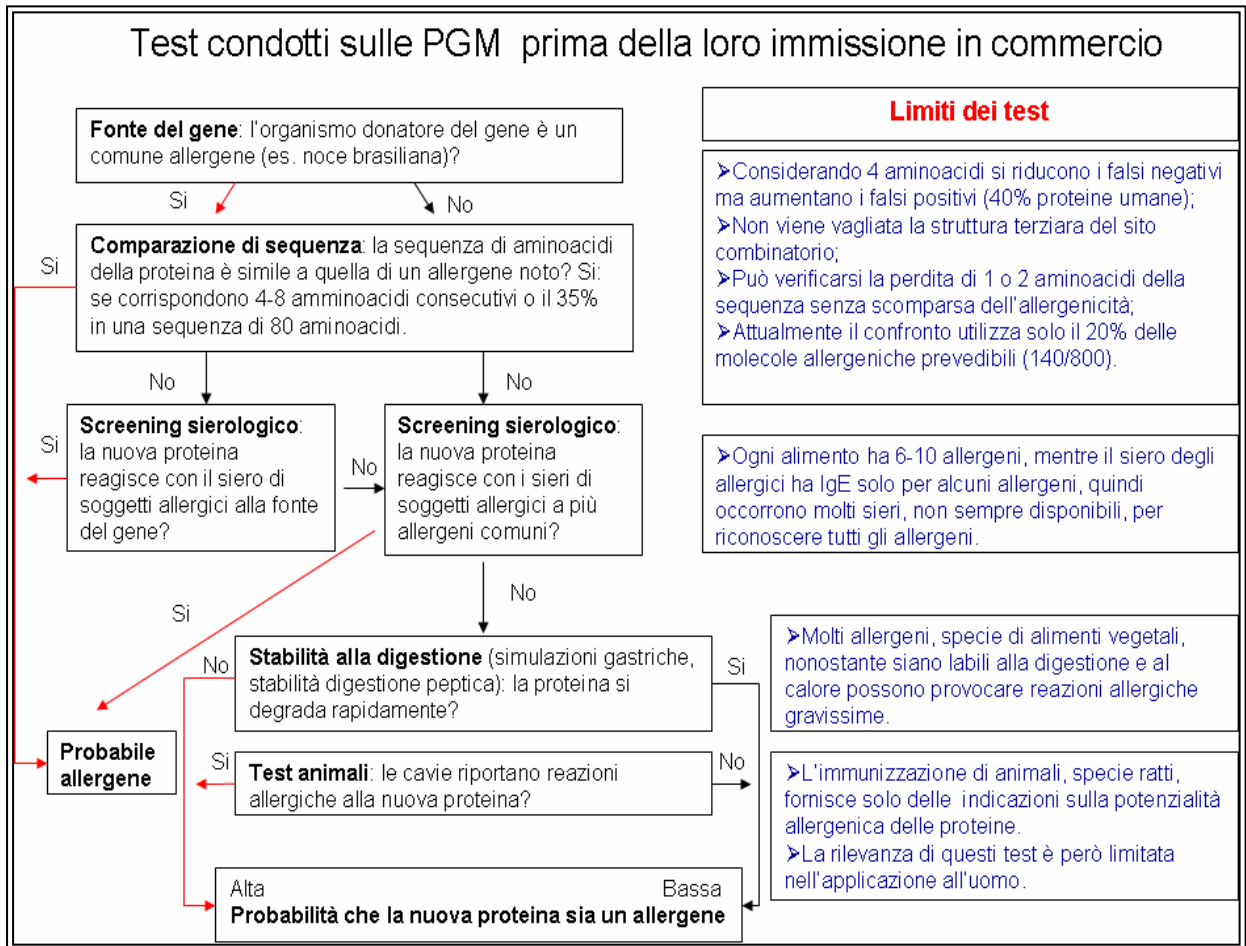
I dati attualmente disponibili relativi al potenziale tossico o allergenico delle VGM testate fino ad ora, sono molto limitati. Infatti, solo nella sperimentazione australiana e in quella sudafricana, che deve ancora essere autorizzata, è stato previsto di condurre analisi di tossicità e allergenicità su un gruppo di persone a cui verranno somministrati per via orale i mosti ed i vini prodotti a partire dalle VGM. Al momento, i dati a riguardo non sono ancora stati pubblicati.

Un altro fattore molto importante da verificare in fase sperimentale riguarda la stabilità del transgene, ovvero l'integrazione e l'espressione stabile nel cromosoma della pianta ospite del gene inserito. La perdita di funzione o la mobilità del transgene all'interno del genoma ospite, infatti, potrebbero causare effetti indesiderati, quali ad esempio la produzione di sostanze tossiche o allergeniche o l'alterazione delle caratteristiche agronomiche e organolettiche della pianta. Nei fruttiferi, caratterizzati da un lungo ciclo produttivo, tali analisi risultano di maggiore importanza, visto che l'instabilità del transgene potrebbe causare la perdita delle caratteristiche per le quali la pianta era stata trasformata. Inoltre la valutazione della stabilità del transgene e dell'assenza d'eventuali effetti pleiotropici costituiscono la base di partenza per una corretta valutazione ampelografica della VGM. Uno dei limiti sperimentali nella valutazione di tale parametro riguarda la durata limitata delle sperimentazioni, che fino ad ora non ha permesso di stimare in modo pienamente rappresentativo la stabilità dei geni specifici nel tempo. Il dato più significativo è stato ottenuto nella sperimentazione francese, dove i cloni transgenici testati per 5 anni consecutivi hanno espresso i geni e mantenuto il fenotipo desiderato. Nella maggior parte delle altre sperimentazioni, o per l'inefficienza della trasformazione o per il limitato periodo di sperimentazione, oppure perché tale parametro non è stato considerato, non è possibile arrivare a conclusioni definitive sulla stabilità o meno dei diversi eventi di trasformazione testati.

---

<sup>114</sup> Ortolani C. 2004. Efficacia dei test per valutare l'allergenicità degli OGM. Atti del convegno OGM in agricoltura: lavori in corso. INRAN, Roma - 5 ottobre 2004.  
Ortolani C. e Scibilia S. 2006: OGM e allergenicità. Cap 3.3, pp 195-240. In: Agrobiotecnologie nel contesto italiano. A.A. V.V., Roma, INRAN, 2006.

**Schema 3** test condotti sulle PGM prima della loro immissione in commercio.



## 5. Il futuro della vite transgenica: dove, come e quando.

Il dibattito relativo all'utilizzo di OGM, che in un primo momento è stato focalizzato principalmente sui rischi per la salute e l'ambiente, assume oggi una valenza sempre più di carattere socio-economico relativa agli impatti che questi possono avere sulle diverse economie agrarie. In particolare è possibile distinguere due modelli agricoli opposti che hanno influenzato in diverso modo lo sviluppo degli OGM. Da una parte ci sono paesi come Stati Uniti, Argentina, Brasile e Canada, caratterizzati da aziende agricole di grandi dimensioni e bassi costi di produzione, in cui il modello di sviluppo agricolo è incentrato principalmente sulla produzione e l'esportazione di materie prime. Grazie a questo modello di sviluppo, in cui le specificità agricole, geografiche, culturali e sociali rivestono fattori di secondo piano, è stato possibile lo sviluppo e la diffusione degli OGM. In questi quattro paesi, *leader* nell'esportazione di soia, mais e colza, infatti, si concentra infatti il 92% delle coltivazioni OGM. Opposto a questo, si trova invece il modello italiano e quello dei numerosi paesi europei con caratteristiche simili, contraddistinto da sistemi agricoli frammentati con aziende di piccole e medie dimensioni e costi di produzione elevati, dove la diversificazione delle produzioni agroalimentari è l'elemento caratterizzante. In questo contesto risulta evidente che l'Italia potrà competere con queste grandi economie solo se sarà in grado di fornire prodotti innovativi di elevata qualità.

Al fine di valutare il potenziale della vite transgenica nell'areale italiano bisogna quindi contestualizzare cosa s'intende oggi per innovazione e qualità. Una innovazione si ritiene infatti tale se è condivisa e se si adatta alle esigenze e alle risorse di un determinato momento storico. Definire cosa s'intende per qualità spetta invece al consumatore. Sostenibilità ambientale, tradizione e legame con il territorio sono i fattori che più di altri caratterizzano in questo momento il concetto di innovazione agroalimentare. Sicurezza e tracciabilità alimentare sono invece i requisiti richiesti dal consumatore affinché un prodotto possa essere considerato di qualità. Gli OGM proposti fino ad ora non possono certo considerarsi prodotti innovativi e di qualità, in grado di soddisfare sia le esigenze del consumatore sia quelle di competitività del settore agricolo italiano ed europeo, essendo visti oggi come causa di perdita di biodiversità agroalimentare, di omologazione delle produzioni, di rischi per la salute e di inquinamento delle altre tipologie produttive. Non è quindi un caso se la maggioranza dei consumatori italiani<sup>115</sup> ed europei<sup>116</sup> siano avversi al

---

<sup>115</sup> INRAN, 2005. Le biotecnologie applicate al sistema agroalimentare: il punto di vista del consumatore in Italia. Rapporto conclusivo, progetto quadro OGM in agricoltura.

consumo di prodotti composti o ottenuti a partire da OGM, e se il loro utilizzo da parte dell'industria agroalimentare sia rimasto fino ad ora confinato principalmente al settore zootecnico<sup>117</sup>, grazie anche al fatto che gli animali nutriti con mangimi GM non necessitano di specifica etichettatura. Un recente sondaggio ha infatti evidenziato che i consumatori italiani sarebbero disposti a pagare 9,60 euro in più al Kg per il filetto di manzo e 4,20 euro in più per il pollo se gli venisse assicurato che la carne che consumano fosse ottenuta da animali alimentati con mangimi privi di OGM<sup>118</sup>. Tutto questo sebbene non esistano evidenze scientifiche che mostrino particolari rischi per la salute dei consumatori che si nutrono con carne proveniente da animali alimentati con OGM. Questo dimostra che l'accettazione degli organismi transgenici non dipende soltanto da fattori di pertinenza agronomica, ambientale e sanitaria, unici ad essere oggi considerati nella valutazione del rischio, ma che è strettamente connessa anche a implicazioni culturali, etiche e sociali. Anche l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), in un rapporto pubblicato il 23 giugno 2005 intitolato "Modern food biotechnology, human health and development", affermava che per condurre una valutazione olistica del rischio, tali fattori dovrebbero essere considerati in fase di approvazione degli OGM, con lo scopo di evitare che le contrapposizioni emerse fra i vari paesi in merito agli organismi transgenici possano provocare "Genetic Divide" a livello internazionale<sup>119</sup>. In questo contesto è evidente che l'introduzione di VGM nel comparto vitivinicolo italiano ed europeo avrebbe forti ripercussioni negative sull'economia dell'intero settore e su quella di tutto l'indotto economico.

Molto probabilmente, come accaduto per le altre colture, i primi ad introdurre coltivazioni di vite transgenica saranno gli Stati Uniti o il Canada, paesi dove le numerose sperimentazioni condotte sino ad ora non hanno suscitato particolare attenzione da parte dell'opinione pubblica e dell'industria di trasformazione, al contrario di quanto accaduto per le poche sperimentazioni condotte negli altri continenti. Considerando comunque che tra le varietà trasformate in queste linee di ricerca sono presenti vitigni coltivati pressoché a

---

<sup>116</sup> Europeans and Biotechnology in 2005: Patterns and trends, Eurobarometer 64.3, May 2006. [http://www.consigliodirittigenetici.org/new/sondaggio\\_eurobarometro\\_2006.pdf](http://www.consigliodirittigenetici.org/new/sondaggio_eurobarometro_2006.pdf)

<sup>117</sup> Relazione della Commissione al Consiglio e al Parlamento Europeo sull'attuazione del regolamento (ce) n. 1830/2003 concernente la tracciabilità e l'etichettatura di organismi geneticamente modificati e la tracciabilità di alimenti e mangimi ottenuti da organismi geneticamente modificati, nonché recante modifica della direttiva 2001/18/CE. Bruxelles, 10.5.2006. COM(2006) 197 definitivo.

<sup>118</sup> Vieri S., 2006: Coltivazioni transgeniche: alcune valutazioni nella prospettiva della loro introduzione nel sistema produttivo agricolo italiano. In: Agrobiotecnologie nel contesto italiano. A.A. V.V., Roma, INRAN, 2006, cap 6.7 pp 469-489.

<sup>119</sup> World Health Organization (2005) Modern food biotechnology, human health and development, provisional edition, 23 giugno 2005. [www.who.int/foodsafety/biotech/who\\_study/en/index.html](http://www.who.int/foodsafety/biotech/who_study/en/index.html)

livello globale, tra cui Chardonnay, Cabernet Sauvignon, Shiraz, Riesling, Merlot, Pinot e potinesti 41B, l'autorizzazione commerciale di VGM in questi paesi solleverà inequivocabilmente un grande dibattito a livello mondiale, così come sta cominciando a succedere relativamente all'utilizzo di microrganismi geneticamente modificati durante il processo di vinificazione, autorizzati negli Stati Uniti.

In Canada, particolare interesse è rivolto verso la produzione di vite tollerante alle basse temperature, mentre negli Stati Uniti l'introduzione di vite transgenica potrebbe avvenire con cloni modificati per resistere alle principali malattie fungine quali Oidio e Botrytis, attualmente al vaglio dei ricercatori. Secondo alcuni di loro, l'introduzione di tali cloni potrebbe avvenire tra 5 o al massimo 10 anni. E tutto questo sebbene al momento non vi siano linee di ricerca ad uno stato di avanzamento tale da far presumere l'applicazione commerciale a breve termine di vite transgenica, e benché le valutazioni di impatto ambientale e sanitario dei singoli eventi transgenici siano ancora molto limitate. Comunque, il grande interesse commerciale e strategico rivestito dalla coltura potrà notevolmente incidere sulle tempistiche relative alla sua commercializzazione. La vite, infatti, oltre ad essere diffusa a livello globale, rappresenta uno dei simboli della coltura agroalimentare dei diversi territori. La diffusione commerciale di VGM potrebbe quindi aprire la strada all'accettazione globalizzata delle coltivazioni transgeniche?

Stabilire quale sarà il futuro della vite transgenica nel comparto vitivinicolo italiano risulta molto difficile. Sono infatti molte le variabili in gioco. Sulla scorta dei risultati che hanno determinato l'insuccesso europeo degli OGM attualmente proposti, è comunque possibile fare alcune considerazioni, relativamente ai motivi per i quali gli OGM sono risultati inefficienti e/o inefficaci per il settore agricolo italiano, che potrebbero essere utili per determinare una possibile futura applicazione di tali tecnologie.

Innanzitutto la vite transgenica dovrà dimostrare di apportare evidenti vantaggi produttivi allo specifico settore vitivinicolo italiano. Dovrà inoltre adattarsi sia alle politiche di sviluppo messe in atto dall'intero comparto agroalimentare che alle esigenze del settore consumeristico, dalle quali dipende tra l'altro il fatturato delle esportazioni e quello relativo all'indotto economico. Gli OGM proposti fino ad ora non hanno infatti dimostrato di possedere tali caratteristiche.

Uno dei principali motivi per i quali i consumatori non sono disposti ad utilizzare prodotti ottenuti con OGM è dovuto al fatto che questi sono oggi considerati come una possibile causa di rischio per la salute. La mancanza di trasparenza e visibilità nel processo di autorizzazione e i recenti scandali alimentari, sono fattori che hanno contribuito ad aumentare la diffidenza verso tali prodotti. Risulta quindi indispensabile ricucire il rapporto di fiducia tra scienza e società, favorendo una maggior trasparenza e visibilità delle

informazioni relative ai dati sperimentali e consentendo una maggior partecipazione sociale ai processi decisionali di autorizzazione degli OGM. Senza un processo di scienza partecipata e condivisa, unico mezzo per condurre una valutazione olistica dei rischi/benefici derivanti dall'utilizzo di OGM, sarà difficile prevedere un'accettazione futura della VGM. Il modello costruito in Francia sulla sperimentazione relativa alla notifica n. B/FR/04/05/01 può rappresentare l'inizio di tale approccio.

La netta separazione tra le diverse filiere vitivinicole GM e non GM è un altro fattore che dovrà essere assicurato affinché la vite transgenica possa rappresentare una risorsa per tutti e non un problema con cui confrontarsi. Bisognerà quindi definire di comune accordo, in base a dati scientifici certi, quali siano le procedure ed i comportamenti che consentano una chiara e netta separazione delle filiere, strategie che fino ad oggi, come dimostrano i circa 142 casi di contaminazioni accidentali riportati in bibliografia<sup>120</sup>, sono risultate insufficienti nei paesi in cui gli OGM sono stati coltivati. La validazione di protocolli per la tracciabilità della vite transgenica risulterà poi un requisito fondamentale per il controllo dell'efficienza di tali strategie. A tal proposito va considerato che fino ad ora solo pochi gruppi di ricerca stanno lavorando sulla messa a punto di tali metodiche<sup>121</sup>.

Bisognerà poi chiarire le modalità d'iscrizione delle VGM ai registri varietali, all'etichettatura relativa ad eventuali prodotti provenienti da VGM e allo sfruttamento della proprietà intellettuale.

Per quanto riguarda la prima questione, le VGM non dovrebbero differire dalle corrispettive viti isogeniche ad eccezione che per i caratteri trasformati. Verranno quindi considerate dei cloni delle stesse varietà? Oppure saranno iscritte come nuove varietà?

Per quanto riguarda invece l'etichettatura, quale dicitura dovrà essere riportata in etichetta? Sarà possibile mantenere la tracciabilità dei prodotti ottenuti con VGM? A tale proposito bisogna chiedersi se i vini prodotti da piante di vite non GM innestate su portinnesti GM, dovranno essere etichettati ai sensi del regolamento (CE) 1831/2003 concernente la tracciabilità e l'etichettatura di OGM oppure no. Infatti, nel suddetto regolamento non si fa nessun riferimento in materia, sebbene nell'articolo 5 *ter bis*, comma 2 della direttiva 2002/11/CE, relativa alla commercializzazione dei materiali di moltiplicazione della VGM, si demandino tali questioni a questo regolamento.

Oltre al progetto settoriale denominato "Vite Vita", la Fondazione Diritti Genetici, per

---

<sup>120</sup> Greenpeace International: GM Contamination Register report. Febbraio 2007.

<http://www.greenpeace.org/raw/content/international/press/reports/gm-contamination-register-repo.pdf>.

<sup>121</sup> Savazzini F e Martinelli L: DNA analysis in wines: Development of methods for enhanced extraction and real-time polymerase chain reaction quantification. *Analytica Chimica Acta* 2006, 563(1-2): 274-282.

venire incontro a queste esigenze ha già attivato un progetto europeo denominato PSx2, che ha lo scopo di ricucire il distacco tra scienza e società e di incrementare la rilevanza sociale nella ricerca scientifica attraverso la promozione della partecipazione pubblica nell'attività di ricerca europea, con particolare riguardo verso gli OGM.

Infine va considerato che il maggior peso dell'opinione pubblica e del mondo scientifico verso le tematiche relative agli OGM, in seguito anche ad una scorretta informazione, ha fatto sì che il termine "biotecnologie" sia oggi sinonimo di "ingegneria genetica" e "OGM". Le biotecnologiche" sono invece il frutto di un'ampia gamma di discipline scientifiche che non riguardano le sole tecniche del DNA ricombinante. Il miglioramento delle tecniche di coltura in vitro e quelle relative alla genetica classica e molecolare, come il sequenziamento genico e la mappatura genomica, costituiscono oggi validi strumenti sia nel campo della profilassi che del miglioramento genetico classico. A tal proposito va ricordato che nel marzo 2006 sono stati presentati i risultati del sequenziamento del genoma della vite portato a termine dall'Istituto Agrario di San Michele all'Adige, che risulta essere il primo passo per una migliore conoscenza del funzionamento genico e di conseguenza per condurre programmi di miglioramento mirati attraverso tecniche d'incrocio convenzionale. Ad esempio, un altro settore di ricerca molto dibattuto ed al centro dell'attenzione, è quello relativo all'utilizzo di ibridi interspecifici, ovvero derivati dall'incrocio di *Vitis vinifera sativa* con le altre specie interfeconde appartenenti al sottogenere *Euvitis*. Attraverso tali tecniche sono già stati prodotti diversi incroci resistenti alla Peronospora e all'Oidio (Tab. 15).

Il monitoraggio della ricerca biotech applicata al settore vitivinicolo consentirà in futuro di individuare le strategie che meglio si prestano allo specifico settore italiano.

**Tab. 15:** grado di resistenza in accordo con la scala OIV (1 =suscettibile, 9 = resistente).

<b>Varietà</b>	<b>Peronospora</b>	<b>Oidio</b>
<b>Bianca</b>	7	7-9
<b>Couderc noir</b>	7-8	4-9
<b>Regent</b>	6-7	7-8
<b>Seyval</b>		5-9
<b>Villard blanc</b>		7-9
<b>Villard noir</b>		7-9

Fonte: Phytowelt GmbH<sup>122</sup>

<sup>122</sup> Phytowelt GmbH 2003: Study on the use of the varieties of interspecific vines. Final report, 16 luglio 2003.

[http://ec.europa.eu/agriculture/markets/wine/studies/vine\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/agriculture/markets/wine/studies/vine_en.pdf)

Per quanto riguarda il futuro delle sperimentazioni in Italia, il Ministro delle Politiche Agricole, Alimentari e Forestali, lo scorso 8 maggio, ha inviato al Ministro dell'Ambiente i protocolli che dettano le linee guida per il rilascio confinato di OGM sul territorio italiano<sup>123</sup>, tra cui quello per la vite (Box1), così come previsto dal Decreto interministeriale del 19 gennaio 2005 denominato: “prescrizioni per la valutazione del rischio per l'agrobiodiversità, i sistemi agrari e la filiera agroalimentare, relativamente alle attività di rilascio deliberato nell'ambiente di OGM per qualsiasi fine diverso dall'immissione sul mercato”. L'emanazione di tale decreto, infatti, aveva sancito una sorta di moratoria per le nuove richieste di sperimentazioni in campo di OGM fino a che non fossero stati emanati i suddetti protocolli. Come riportato all'articolo 1, comma 2 del Decreto interministeriale del 19 gennaio 2005, il Ministro delle Politiche Agricole, una volta sentito il Ministero dell'Ambiente, avrà il compito di definire con proprio decreto i protocolli tecnici operativi per la gestione del rischio delle singole specie GM

**Box 1:** commenti al protocollo tecnico per il rilascio deliberato nell'ambiente di VGM.

I protocolli tecnici operativi previsti dal decreto del 19 gennaio 2005 del Ministero delle Politiche Agricole in concerto con il Ministero dell'Ambiente, pubblicato sulla Gazzetta Ufficiale del 29/03/2005 serie generale n.72, hanno l'obiettivo di individuare e valutare gli effetti negativi provocati dall'immissione deliberata nell'ambiente di OGM, siano essi diretti, indiretti, immediati o differiti, sugli agrosistemi e sulle filiere produttive ad essi connessi. Finora sono stati considerati 9 protocolli con riferimento alle seguenti specie: actinidia, agrumi, ciliegio, fragola, mais, melanzana, pomodoro, ulivo e vite.

Il protocollo riguardante la vite è suddiviso in 6 punti che descrivono le modalità e le misure necessarie per la gestione del rischio, prima, durante e dopo l'emissione.

Confrontando il protocollo tecnico con i dati riportati durante l'analisi delle sperimentazioni di vite transgenica e quelli presenti in bibliografia è possibile fare le seguenti considerazioni:

*Distanze e isolamento*

Il protocollo prevede una distanza di isolamento tra campi di vite GM e non GM pari a 50 m. Considerando che:

- nella sperimentazione francese pur trattandosi di portinnesti GM è stata prevista una distanza di 1 Km;
- nella sperimentazione italiana si fa riferimento a distanze di diffusione del polline pari a 8-10 Km;
- il transgene può essere disseminato attraverso i semi o parti vegetative della pianta in grado di rigerminare;
- la bibliografia scientifica relativa alle distanze di impollinazione è molto discordante.

Tale distanza sembra alquanto contenuta al fine di assicurare che non vi sia rilascio accidentale del transgene nell'ambiente ed evitare la contaminazione accidentale di specie sessualmente compatibili.

I soli 2 filari previsti come bordo con lo scopo di mitigare il flusso pollinico ed evitare il contatto con animali che possono interessare il vigneto, quali gli insetti, sembrano molto limitati rispetto a quanto previsto nella sperimentazione francese dove la parte centrale di piante transgeniche è stata circondata da 4 file di confinamento, una zona di sicurezza incolta e una zona esterna di bordo di altre 8 file con lo stesso periodo di impollinazione delle piante transgeniche al fine di contrastarne la nube pollinica.

#### *Precauzioni da adottare in campo*

Relativamente alle precauzioni da adottare in campo non si fa alcun riferimento alle modalità di trattamento delle potature che potrebbero essere causa di diffusione accidentale nell'ambiente del transgene. Nelle diverse sperimentazioni condotte si prevede in generale che queste vengano devitalizzate attraverso incenerimento o altre procedure.

#### *Riutilizzazione dell'area di rilascio*

Nel caso di appezzamenti utilizzati per la valutazione della resistenza a virus trasmessi da nematodi, il protocollo prevede che questi non potranno essere riutilizzati a vite se non dopo 5 anni di maggese nudo o coltivato. Nella sperimentazione francese il terreno di riporto infettato con nematodi vettori è stato circoscritto e al termine della sperimentazione devitalizzato con dicloropropene al fine di distruggere tutti i nematodi possibili vettori del transgene negli anni successivi. Inoltre, è stato previsto un periodo di non coltivazione pari a 10. Quindi, sebbene non sia stato possibile stimare il rischio di diffusione del transgene per mezzo dei nematodi vettori, tali precauzioni risultano limitate se messe a confronto con quelle prese nella sperimentazione francese.

#### *Responsabilità civili e penali*

Non sono considerate le responsabilità civili e penali nel caso di effetti avversi conseguenti all'immissione deliberata nell'ambiente dello specifico evento di trasformazione.

## 6. Glossario

**Bilirubina:** sostanza pigmentata che deriva dall'emoglobina dei globuli rossi maturi (bilirubina indiretta). Il fegato la trasforma in bilirubina diretta, adatta ad essere immessa nell'intestino come emulsionante dei grassi.

**Costrutto genico:** insieme delle sequenze inserite in una PGM che permettono e regolano la produzione della proteina specifica. Un costrutto genico in generale è formato da un promotore che permette alla sequenza codificante, candidata a produrre la proteina specifica, di essere espressa nei diversi tessuti e da un terminatore che determina la fine della trascrizione del gene e quindi la struttura e la funzione della proteina. Ad esempio, il mais MON810 resistente alla piralide è stato costituito tagliando e ricucendo, grazie agli enzimi di restrizione, un costrutto genico formato da un promotore proveniente dal virus del mosaico del cavolfiore e da una sequenza codificante del gene *cry1Ab* che produce la tossina CRY tossica per alcuni lepidotteri, tra cui la piralide, proveniente dal batterio *Bacillus thuringiensis* (Bt).

**Effetti pleiotropici:** vedi pleiotropia.

**Enzima di restrizione:** proteine che funzionano come delle forbici, grazie alle quali è possibile tagliare e ricomporre i pezzi di DNA necessari per produrre le caratteristiche desiderate nelle piante di interesse.

**Evento di trasformazione:** processo che porta all'integrazione del gene desiderato nel genoma della pianta ospite.

**Fitness:** idoneità della pianta a sopravvivere nell'ambiente ricevente. Il livello di fitness viene valutato in base al successo riproduttivo della pianta.

**Inserito:** in ingegneria genetica, il segmento di DNA estraneo inserito in un organismo ricevente.

**Integrazione:** inserzione di un frammento di DNA estraneo (transgene) in un genoma ospite sotto forma di una regione covalentemente unita su entrambi i lati alle sequenze nucleotidiche del DNA dell'ospite.

**Isogenico/che:** piante da cui vengono ottenute le VGM in seguito a modificazione genetica. Tali piante dovrebbero presentare genotipo simile alle piante geneticamente modificate ad esclusione delle caratteristiche modificate. Per cui, anche le caratteristiche della pianta dovrebbero risultare simile a quelle delle PGM, eccetto per i caratteri inseriti. Il confronto tra le PGM e le corrispettive isogeniche è utilizzato per verificare la presenza/assenza di effetti indesiderati conseguenti alla modificazione genetica.

**Pleiotropia:** un singolo gene può influenzare geni o tratti genetici multipli a volte non correlati e distanti dalla sequenza genica inserita, fenomeno che può dare origine ad effetti inattesi.

**Silenziamento genico:** processo inteso a diminuire od evitare l'espressione di un gene, ovvero la produzione delle proteine da esso prodotte. La tecnica utilizzata nei lavori analizzati ha previsto l'inserzione di una copia o più copie del gene specifico orientate in entrambi i sensi (senso e antisenso) da cui secondo alcuni studi ne deriva il silenziamento del gene. Un'altra tecnica utilizzata è quella di introdurre una copia del gene in cui la sequenza senso e antisenso sono legate in tandem e separate da una sequenza intronica. Tale metodo, come riportato dalla bibliografia citata, risulta più efficace nel silenziare i geni. Inserendo una copia del gene orientato con entrambe le sequenze senso è invece possibile fare sovraesprimere la proteina prodotta dallo stesso.

**Southern blot:** Tecnica di biologia molecolare mediante la quale frammenti di DNA, generalmente ottenuti attraverso digestione con enzimi di restrizione, vengono separati elettroforeticamente su gel di agarosio e trasferiti ad una membrana di nylon o nitrocellulosa. Il DNA trasferito su membrana è successivamente ibridato con una sonda marcata (radioattivamente o non) che evidenzia il DNA di interesse.

**Traduzione:** processo di trasferimento dell'informazione contenuta in una molecola di RNA messaggero in una sequenza corrispondente di aminoacidi durante la biosintesi proteica.

**Transgene:** gene eterologo introdotto in un organismo transgenico. Il costrutto può essere semplicemente un gene appartenente a un organismo diverso, oppure un costrutto chimerico comprendente parte di geni diversi. L'espressione del transgene può essere regolata da promotori propri dell'organismo ospite, oppure da promotori di origine diversa, ad esempio virali.

**Trascrizione:** Processo di trasferimento dell'informazione contenuta nel DNA in una sequenza complementare di RNA; la reazione è catalizzata dall'enzima RNA polimerasi DNA-dipendente.

**Volunteer:** progenie delle piante geneticamente modificate che si può manifestare come infestante gli anni successivi al raccolto.

## **Ringraziamenti**

Si ringraziano tutti i soggetti che partecipano al progetto:

AIS, CIA, Città Del Vino, Coldiretti, Coop Italia, FEDERDOC e FEDERVINI.

Il Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali e l'INEA per il patrocinio  
acconsentito.