

## **Relazione Istituto Superiore di Sanità su affare n° 200 (questione inerente alle nuove biotecnologie in agricoltura)**

**12 luglio 2019**

Il Dibattito sulle nuove tecniche biotecnologiche in campo agrario è già in atto da molti anni a livello internazionale ed ha prodotto una mole rilevante di documenti (vedi bibliografia allegata).

In linea con gli altri Paesi, Il Ministero dell'Ambiente ha istituito un gruppo di lavoro per un'analisi tecnico-scientifica di approfondimento della questione delle NBTs. (nnovembre 2017). Un documento è stato redatto e comprende una tabella, con i criteri di inclusione/esclusione, al fine di facilitare le conclusioni sull'applicabilità della legislazione sugli OGM (**Direttiva 2001/18/CE**). Il documento è sotto forma di **Nota Ufficiale** firmata da tutti gli esperti che compongono il gruppo di lavoro (ISS, CREA, IZSLT, INAIL, MINISTERO AMBIENTE) il tutto coordinato dalla Direzione Generale per le valutazioni e autorizzazioni ambientali (Dottor Carlo Zaghi e Dottoressa Marina Andreella) e autorizzata dal Ministro Costa. (NOTA 11120 del 10/5/2019).

Il 22 febbraio 2018 si è svolto a Roma, presso la Sala Polifunzionale della Presidenza del Consiglio dei Ministri, un convegno promosso dai Ministeri dell'Ambiente e delle Politiche Agricole, in collaborazione con il Comitato Nazionale per la Biosicurezza, le Biotecnologie e le Scienze della Vita, con il Ministero della Salute e con il Ministero dello Sviluppo Economico sulle nuove tecniche di miglioramento genetico (New Breeding Techniques - NBT) in agricoltura con lo scopo di affrontare la questione da un punto di vista tecnico-scientifico (prospettive di ricerca, potenziali applicazioni nel settore agricolo, tracciabilità) e di favorire il dibattito tra i portatori di interesse italiani (esperti, associazioni di categoria, associazioni di consumatori e ambientaliste) su questioni relative al loro possibile inquadramento nel contesto normativo dell'Unione europea sugli OGM (<https://www.minambiente.it/notizie/nuove-tecniche-di-miglioramento-genetico-agricoltura>).

Il genoma vegetale è caratterizzato da un elevato grado di plasticità che gli permette di tollerare ampi riarrangiamenti; questo è alla base dell'evoluzione delle specie vegetali e della loro capacità di adattamento alle condizioni ambientali.

Ad oggi per selezionare o introdurre caratteristiche di interesse nelle piante utilizzate a scopo agrario, ornamentale e forestale, sono disponibili diverse tecniche che vengono suddivise in tre grandi categorie, le tecniche convenzionali di miglioramento genetico, le tecniche ormai consolidate di ingegneria genetica e le nuove tecniche di miglioramento genetico (NBT).

Le NBT consentono di introdurre DNA esogeno proveniente da specie sessualmente compatibili e non, ma anche di modificare la sequenza genica di un organismo senza l'introduzione stabile di una nuova combinazione di materiale genetico o addirittura di ottenere il carattere desiderato senza modificare la sequenza nucleotidica.

Le NBT sono attualmente al centro di un intenso dibattito nell'Unione europea e nel mondo, in particolare per quanto riguarda la regolamentazione dei prodotti ottenuti con queste tecniche, soprattutto perché, nella maggior parte dei casi, gli organismi ottenuti sono indistinguibili da quelli prodotti con le tecniche convenzionali.

Qualsiasi sia l'organismo geneticamente modificato (piante, animali o microrganismi) senza informazioni a priori sui cambiamenti inseriti, la possibilità di individuare le differenze tra l'organismo di partenza e quello modificato diventa più complessa e la differenziazione tra ciò che è stato prodotto con specifiche tecniche molecolari e ciò che avviene spontaneamente in natura (identificazione) è generalmente impossibile.

Questo perché, per poter attribuire una sequenza di DNA ad una specie, occorre che questa sequenza abbia una lunghezza minima che dipende dalla dimensione del genoma della specie considerata: nel caso del mais, il cui genoma è pari a  $2,1 \times 10^9$  bp, una sequenza dovrebbe avere una dimensione minima di 17-20 nucleotidi per essere considerata statisticamente unica e perciò essere identificata come risultato di una tecnica di modificazione genetica. Quindi sarà possibile rilevare una variazione di pochi nucleotidi, ad esempio tramite tecniche di sequenziamento di DNA, ma non sarà possibile attribuire tale variazione ad una modifica intenzionale prodotta da una tecnica di breeding anziché ad una modifica naturale. Da qui l'incertezza su come considerare i prodotti ottenuti con le NBT da un punto di vista normativo e su come debbano essere regolamentati e gestiti.

Occorre tenere presente che ogni volta che si introduce intenzionalmente una modificazione genetica in una pianta, si possono indurre nel suo genoma anche modifiche non previste che possono dare origine o meno ad effetti non intenzionali e che variano a seconda del tipo di tecnica impiegata.

D'altra parte occorre sottolineare che anche la modifica genetica prevista, indipendentemente da come sia stata ottenuta, può dare luogo ad effetti non intenzionali.

Possiamo distinguere due tipi di effetti non intenzionali:

- quelli prevedibili a seguito dell'introduzione dell'inserito (biologia della pianta, network metabolici);
- quelli inaspettati.

È ormai evidente che gli effetti non intenzionali si manifestano in ogni tipo di programma di breeding, incluse convenzionale e NBTs

La caratteristica chiave del genome editing è che la modifica è altamente specifica e diretta al sito di destinazione. Ciò implica che il genoma della pianta di interesse dovrebbe essere almeno parzialmente noto, che la funzione del gene bersaglio dovrebbe essere definita e che l'allele che codifica il fenotipo desiderato dovrebbe essere caratterizzato. La motivazione principale per l'utilizzo di nucleasi sito dirette rispetto a mutagenesi convenzionale è quello di facilitare e di accelerare l'introduzione di un tratto desiderato riducendo la necessità di reincroci per eliminare la modificazione non voluta.

Il sistema CRISPR/Cas è diventato il sistema d'elezione per l'editing genomico per la sua semplicità, efficienza e versatilità (in grado di operare anche sull'RNA).

Poiché il meccanismo che determina tagli off-target è comprensibile, e quindi per lo più prevedibile, i potenziali tagli fuori obiettivo saranno accessibili alla caratterizzazione e alla rapida eliminazione in un processo di miglioramento genico.

Dati recenti mostrano che gli off-target sono limitati a un numero ristretto di siti, quelli che condividono l'omologia con l'obiettivo della guida RNA. Limitare modifiche fuori obiettivo è fattibile scegliendo il dosaggio ottimale della nucleasi Cas9 e attraverso il design di prodotti altamente specifici (gRNA). Linee guida per ridurre al minimo gli off-target della metodologia CRISPR/CAS sono disponibili. Una buona conoscenza della sequenza del genoma delle piante è quindi un prerequisito.

Una delle eccellenze della ricerca italiana è proprio la genomica delle piante coltivate. Sono stati sequenziati i genomi di alcune colture tipiche italiane (vite, pesco, melo, fragola, agrumi, caffè, ulivo, pomodoro, carciofo, melanzana, grano tenero e duro). Questa conoscenza è la nostra risorsa più importante per accelerare il miglioramento genetico necessario a preservare le varietà tipiche tradizionali e locali italiane, caratterizzate da una straordinaria diversità e qualità in un'agricoltura sostenibile. Per questo motivo procedure semplificate, commisurate al livello di rischio e basate sulle evidenze e sull'esperienza accumulata in questi anni, potrebbero essere il modo corretto per facilitare le procedure autorizzative, e il riavvio della ricerca scientifica e della sperimentazione sul campo in Italia sarebbe molto gradito e consigliabile.

Con la sentenza del 25 luglio 2018, la Corte di Giustizia europea ha dichiarato che gli organismi ottenuti mediante mutagenesi sono OGM ai sensi dell'articolo 2, paragrafo 2, della direttiva 2001/18/CE, dal momento che le tecniche e i metodi di mutagenesi modificano il materiale genetico di un organismo secondo modalità che non si realizzano naturalmente. Il fatto che nel prodotto finale non vi sia alcuna traccia di acidi nucleici ricombinanti è considerato irrilevante.

Le Autorità Regolatorie di tutto il mondo considerano la mutagenesi classica come non soggetta a regolamentazione ai sensi delle leggi sulla biosicurezza. Anche in Canada, la mutagenesi tradizionale non è regolamentata a meno che non produca un nuovo tratto. E' il tratto nuovo ad essere regolamentato, non il metodo usato per produrlo. Quindi anche per il genome editing verrà seguita la stessa procedura. Negli Stati Uniti diverse colture ottenute con il genome editing, come il mais ceroso e il frumento resistente all'oidio non sono soggette a regolamentazione, lo stesso vale in altri paesi come l'Argentina e Australia per le piante in cui il transgene introdotto in una fase intermedia è poi rimosso e quindi assente nel prodotto finale.

### **Documenti prodotti a livello internazionale**

- 1. JRC Scientific and Technical Report 2011: New plant breeding techniques State-of-the-art and prospects for commercial development. EUR 24760 EN- 2011**
- 2. EFSA 2012 N° 2 Scientific opinion addressing the safety assessment of plants developed through cisgenesis and intragenesis;**
- 3. EFSA 2012: Scientific opinion addressing the safety assessment of plants developed using Zinc Finger Nuclease 3 and other Site-Directed Nucleases with similar function;**

- 4. Federal Office for the Environment SVIZZERA 2012:** New Plant Breeding Techniques Report;
- 5. Food Standard Australian New Zealand 2013:** New breeding techniques Report;
- 6. Environment Agency AUSTRIA 2014:** New plant breeding techniques and risks associated with their application;
- 7. National Academies of Science Engineering Medicine 2016:** Genetically Engineered Crops: Experiences and Prospects;
- 8. USDA Gain report 2016:** Legal Opinion on New Plant Breeding Techniques (NBTs);
- 9. National Academies of Science Engineering Medicine 2017:** Preparing for Future Products of Biotechnology;
- 10. Explanatory note (SAM-HLG) 2017:** New techniques in agricultural biotechnology;
- 11. Comitato Nazionale per la Biosicurezza, le Biotecnologie e le Scienze della Vita 2017:** Le New Breeding Techniques (Nbt) 1 - La Posizione Dei Principali Portatori D'interesse Italiani; 2 - Sul Documento "New Techniques In Agricultural Biotechnology" Dell'"High Level Group Of Scientific Advisors" Della Commissione Europea
- 12. HCB Scientific Committee 2017:** Scientific Opinion On New Plant Breeding Techniques 2017;
- 13. the Netherlands Ministry for Economic Affairs and Wageningen UR (University and Research centre) 2016:** Opportunities of New Plant Breeding Techniques;
- 14. OECD Science, Technology and Industry Working Papers 2018/04:** Gene editing in an international context scientific, economic and social issues across sectors;
- 15. The Norwegian Biotechnology Advisory Board 2018:** The Gene Technology Act – Invitation to Public Debate.
- 16. Statement by the Group of Chief Scientific Advisors (Commissione Europea):** A Scientific Perspective on the Regulatory Status of Products Derived from Gene Editing and the Implications for the GMO Directive (Novembre 2018)
- 17. OECD 2019:** Meeting report of the OECD conference on "Genome Editing: Applications in Agriculture—Implications for Health, Environment and Regulation "

- ❖ **L'applicazione delle tecnologie -omics ha il potenziale di rilevare le modificazioni/alterazioni attribuibili al breeding convenzionale e all'applicazione dell'ingegneria genetica (GM e NBTs).**
- ❖ **Per poter utilizzare a pieno le loro potenzialità nella valutazione del rischio è necessario sviluppare database specifici e esaurienti che comprendano dati relativi a genotipi coltivati in diverse condizioni ambientali.**
- ❖ **Indispensabile quindi , la conoscenza 'completa' della biologia delle piante (DNA, RNA, proteine e metaboliti).**

