



crea

Consiglio per la ricerca in agricoltura
e l'analisi dell'economia agraria

Centro di ricerca
Difesa e Certificazione

Corso di formazione per i nuovi ispettori regionali incaricati di svolgere l'attività di vigilanza sull'emissione deliberata nell'ambiente di organismi geneticamente modificati

Programma di monitoraggio ufficiale sulla presenza di OGM nelle sementi di mais e soia

Elena Perri

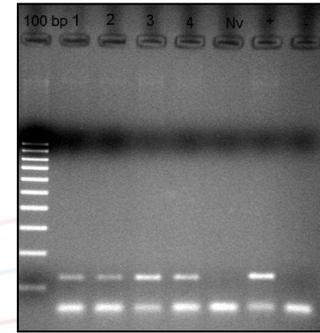
CREA Centro di ricerca Difesa e Certificazione, Sede di Tavazzano (LO)
elena.perri@crea.gov.it



Svolgimento in modalità virtuale
23 maggio – 8 giugno – 15 giugno 2023

Sede di Tavazzano (LO)

ATTIVITA' DEL LABORATORIO



CAMPIONAMENTO

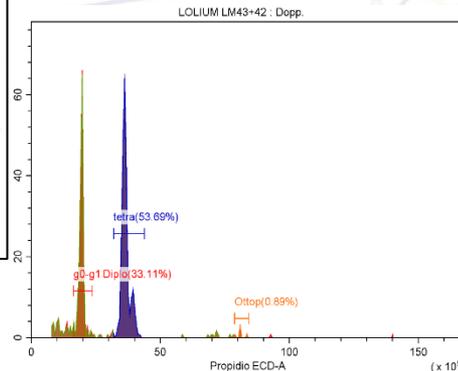
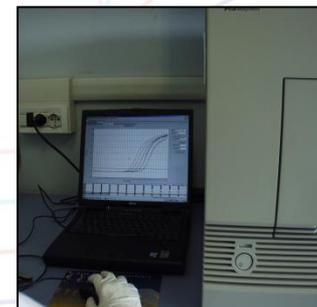
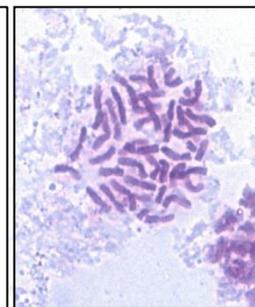
ANALISI TRADIZIONALI

- Germinabilità
- Purezza
- Ricerca Semi Estranei
- Contenuto in umidità del seme
- Test di vigore
- Altre



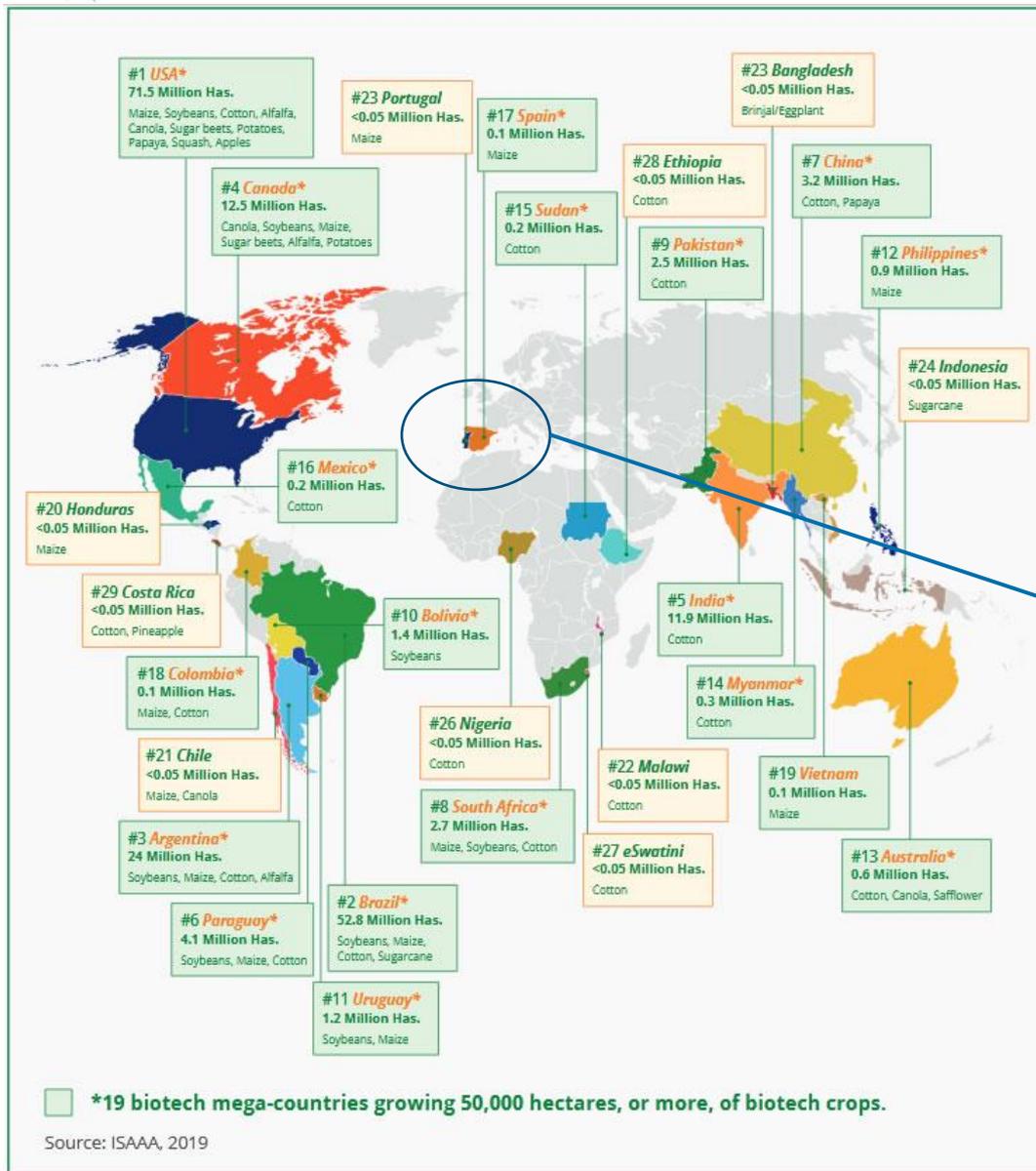
ANALISI VARIETALI

- Marcatori biochimici
- Marcatori molecolari
- Citologia - test di ploidia
- Altre



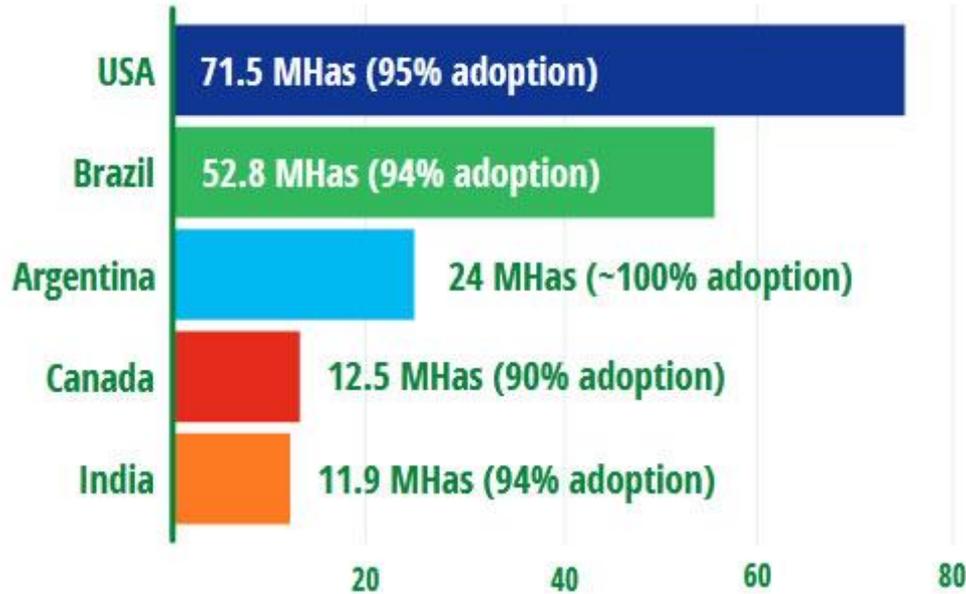
ANALISI OGM

- Mais, soia, altre specie
- Qualitative/Quantitative



Mappa globale dei Paesi con colture biotech e i Mega-Paesi (2019)

Spagna (17°): 100.000 ettari - mais
Portogallo(23°): < 50.000 ettari - mais



TOP 5 COUNTRIES THAT PLANTED BIOTECH CROPS IN 2019 (AREA AND ADOPTION RATE)

Source: ISAAA, 2019

I 5 Paesi che hanno impiegato più colture
biotech nel 2019

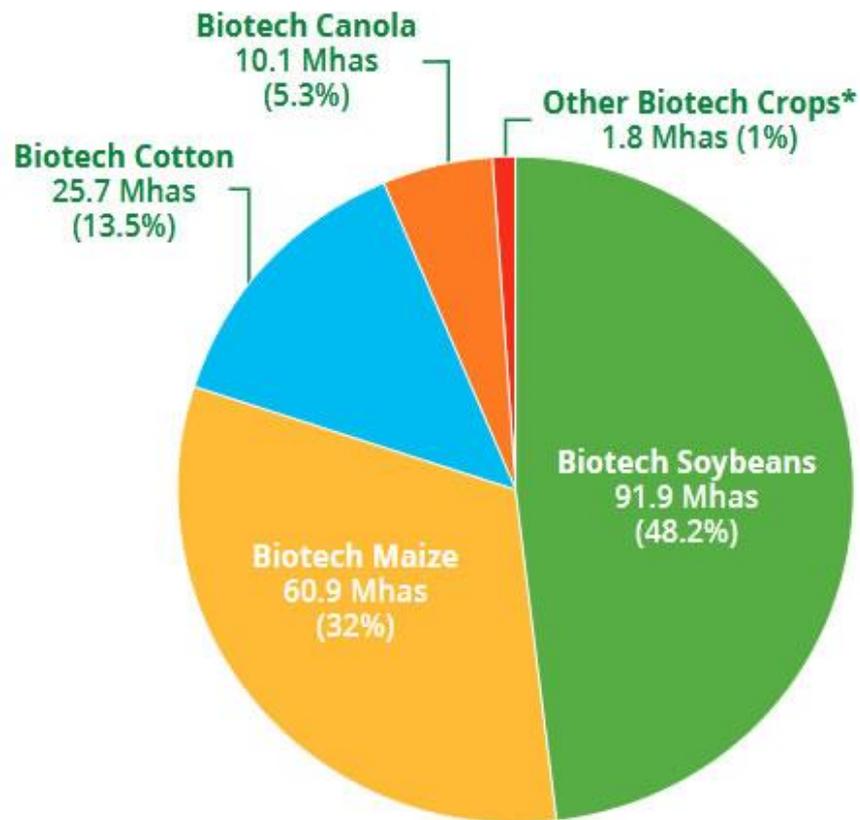
Fonte ISAAA, 2019

Le coltivazioni di varietà GM:

1996: 1,7 milioni di ettari (la
prima varietà di soia transgenica
è inserita sul mercato
statunitense)

2019: oltre 190,4 milioni di
ettari (circa 29 paesi)

Aumento di ~ 112 volte



* Biotech sugar beets, potatoes, apples, squash, papaya, and brinjal/eggplant.

BIOTECH CROPS IN 2019 (AREA AND ADOPTION RATE)

Source: ISAAA, 2019

Le colture biotech nel mondo (2019)

Coltivazione di OGM nel mondo (2019)- equivalenza sementi in UE (mais, soia)

Classifica	Paese	Area (milioni di ha)	Specie	Equivalenza EU sementi (mais)	Equivalenza EU sementi (soia)
1	USA	71.5	<i>mais, soia</i> , cotone, colza, barbabietola da zucchero, erba medica, papaia, zucchino, patata, mela	SI	SI
2	Brasile	52.8	<i>soia, mais</i> , cotone, canna da zucchero	NO	NO
3	Argentina	24.0	<i>soia, mais</i> , cotone, erba medica	SI	SI
4	Canada	12.5	colza, <i>mais, soia</i> , barbabietola da zucchero, erba medica, patata	SI	SI
5	India	11.9	cotone	-	-
6	Paraguay	4.1	<i>soia, mais</i> , cotone	NO	NO
7	Cina	3.2	cotone, papaia	-	-
8	Sud Africa	2.7	<i>mais, soia</i> , cotone	SI	SI
9	Pakistan	2.5	cotone	-	-
10	Bolivia	1.4	<i>Soia</i>	-	NO
11	Uruguay	1.2	<i>soia, mais</i>	SI	SI
12	Filippine	0.9	<i>Mais</i>	NO	-
13	Australia	0.6	cotone, colza, girasole	-	-
14	Myanmar	0.3	Cotone	-	-
15	Sudan	0.2	Cotone	-	-
16	Messico	0.2	Cotone	-	NO
17	Spagna	0.1	<i>mais</i>	(EU)	-
18	Colombia	0.1	cotone, <i>mais</i>	-	-
19	Vietnam	0.1	<i>mais</i>	NO	-
20	Honduras	<0.1	<i>mais</i>	NO	-
21	Chile	<0.1	<i>mais</i> , colza	SI	SI
22	Malawi	<0.1	Cotone	-	-
23	Portogallo	<0.1	<i>mais</i>	(EU)	-
24	Indonesia	<0.1	canna da zucchero	-	-
25	Bangladesh	<0.1	melanzana	-	-
26	Nigeria	<0.1	Cotton	-	-
27	Eswatini	<0.1	Cotone	-	-
28	Etiopia	<0.1	Cotone	-	-
29	Costa Rica	<0.1	cotone, ananas	-	NO
	Totale	190.4			

DECRETO 8 novembre 2017

Piano generale per l'attività di vigilanza sull'emissione deliberata nell'ambiente di organismi geneticamente modificati

Art. 1. Finalità e campo di applicazione

.....

...

2. Sono escluse dal campo di applicazione del presente decreto:

c) le attività di analisi e controllo relative ai prodotti sementieri di varietà geneticamente modificate cui si applicano le disposizioni del

d.lgs. 212/2001

Attuazione delle direttive 98/95/CE e 98/96/CE concernenti la commercializzazione dei prodotti sementieri, il catalogo comune delle varietà delle specie di piante agricole e relativi controlli.

- Modifica e integra la L. 1096/1971 che disciplina l'attività sementiera.
- *Abrogato e integrato nel **Decreto Legislativo 2 febbraio 2021, n. 20*** «Norme per la produzione a scopo di commercializzazione e la commercializzazione di prodotti sementieri in attuazione dell'articolo 11 della legge 4 ottobre 2019, n. 117, per l'adeguamento della normativa nazionale alle disposizioni del regolamento (UE) 2016/2031 e del regolamento (UE) 2017/625»

Decreto legislativo, art. 87 - note (d.lgs 212/2001):

- E' istituita con decreto del Mipaaf la Commissione per i prodotti sementieri di varietà GM, composta da dodici membri designati con apposito decreto.

- La Commissione definisce i criteri per il rispetto del principio di precauzione in caso di autorizzazione alla commercializzazione di piccoli quantitativi di sementi GM a scopi scientifici o per lavori di miglioramento genetico, al fine di evitare effetti nocivi sulla salute umana e sull'ambiente, anche con riguardo alle eventuali conseguenze sui sistemi agrari tenuto conto delle peculiarità agroecologiche e pedoclimatiche. Diversamente dalle sementi convenzionali, non può essere concessa alcuna deroga per la circolazione di sementi GM di var. non iscritte al Registro nazionale o nel Catalogo comune per scopi di prova o sperimentazione.

- La Commissione esprime parere vincolante ai fini dell'iscrizione delle varietà GM al Registro Nazionale delle Varietà.

La norma che disciplina l'attività sementiera, stabilisce le regole per l'iscrizione delle varietà al Registro delle varietà.

L'iscrizione della var. GM nell'apposita sezione del Registro Nazionale, è disposta dal Mipaaf, sentito il parere di apposita commissione che, ai fini dell'iscrizione, deve accertare che ogni varietà si distingua per uno o più caratteri importanti dalle altre varietà iscritte e che essa sia sufficientemente omogenea e stabile nei suoi caratteri essenziali e che abbia un valore agronomico e di utilizzazione soddisfacente. Il parere della Commissione è vincolato dal parere della Commissione per i prodotti sementieri di varietà GM.

- La Commissione individua i criteri in base ai quali è effettuato il monitoraggio dei prodotti sementieri di varietà GM, compresa la definizione dei criteri da adottare per la verifica della presenza fortuita di sementi GM in lotti di prodotti sementieri convenzionali.

- Il Mipaaf, insieme ai Ministeri della Salute e Ambiente, stabilisce le norme riguardanti i protocolli tecnici di analisi e controllo, piani di monitoraggio e sorveglianza sull'uso di prodotti sementieri GM, sugli effetti prodotti dalla coltivazione degli stessi e sulla loro messa in commercio.

- Una varietà GM, (...) può essere iscritta nel registro nazionale solo se sono state adottate tutte le misure appropriate atte ad evitare effetti nocivi sulla salute umana e sull'ambiente, previste dal medesimo decreto legislativo, nonché dal principio di precauzione, dalla Convenzione sulla diversità biologica e dal protocollo sulla biosicurezza di Cartagena.

Nota all'art. 87 (L. 1096 del 25 novembre 1971)

Condizioni per l'immissione in commercio

(legge sementiera nazionale, art. 11, il d.lgs. 212 si integra con l'art. 5 comma 8):

(...) Nel caso di prodotti sementieri di varietà GM le indicazioni riportate sui cartellini o etichette e su ogni documento che li accompagna devono includere chiaramente che la varietà è stata geneticamente modificata. L'obbligo si applica ai miscugli anche quando uno solo dei componenti è costituito da una varietà geneticamente modificata. Sui cartellini o etichette e su ogni documento che accompagna i prodotti sementieri, l'indicazione relativa alla presenza di varietà geneticamente modificate può essere omessa esclusivamente nel caso in cui il prodotto risulti all'analisi totalmente esente da varietà GM. In tutti gli altri casi deve essere specificata la percentuale di sementi derivanti da varietà GM eccetto che per le frazioni inferiori all'1 per cento, per le quali è, comunque, obbligatoria la dicitura: "Contiene sementi derivate da varietà geneticamente modificate in misura inferiore all'1 per cento".

Condizioni per la commercializzazione dei prodotti sementieri

**istituzione dei Registri
Varietali**

**certificazione ufficiale
delle sementi**

Obiettivo: produrre e utilizzare semente di qualità

Iscrizione al Registro nazionale delle varietà

Domanda iscrizione

... l'utente qualificato deve dichiarare se si tratta di una varietà GM o se è destinata ad essere impiegata come alimento GM

LA VARIETÀ È DA CONSIDERARSI UN ORGANISMO GENETICAMENTE MODIFICATO COSÌ COME DEFINITO DALL'ARTICOLO 2 DELLA DIR. 2001/18/CE E SUCCESSIVE MODIFICHE?

SI

NO

In caso affermativo specificare gli estremi della decisione comunitaria cui il relativo evento fa riferimento.

LA VARIETÀ È DESTINATA A ESSERE IMPIEGATA COME ALIMENTO RICADENTE NEL CAMPO DI APPLICAZIONE DEL REG. CE 1829/2003 E SUCCESSIVE MODIFICHE?

SI

NO

In caso affermativo specificare gli estremi della decisione comunitaria cui il relativo evento fa riferimento.

Analisi e verifica risultati
Emissione parere

DM di iscrizione

Notifica CC e OECD

Verifica requisiti varietà

Protocolli CPVO e Linee guida UPOV

Linee guida nazionali

Criteria e procedure tecniche per l'iscrizione verifica DUS e VAU (non richiesto per le ortive e per varietà di specie foraggere da tappeto erboso)

Protocolli da definire per la verifica del carattere per la varietà GM

Certificazione dei prodotti sementieri

ispezioni ufficiali
in campo

accertamenti alle colture per verificare l'idoneità agli standard previsti dalla normativa vigente.

Si verificano: stato generale della coltura, identità varietale e purezza varietale, isolamento, presenza infestanti, stato sanitario, stima della produzione. Sono stabiliti il numero e l'epoca delle visite.



controlli alla
selezione meccanica

durante la fase di lavorazione e condizionamento del seme



campionamento e
analisi di laboratorio

la verifica delle condizioni cui devono soddisfare le sementi ai fini della loro immissione in commercio si attua attraverso il prelevamento di campioni da sottoporre ad analisi di laboratorio



etichettatura

Rilascio di etichette ufficiali e chiusura ufficiale degli imballaggi. Il cartellino ufficiale, attesta che la semente è stata sottoposta ai controlli ufficiali e risponde ai requisiti prescritti dalle norme legislative e regolamentari, il colore varia in funzione della categoria
cartellino del produttore, attestato in cui il produttore rende noti i requisiti della semente e ne garantisce la rispondenza



esami di post-
controllo in parcelle

prove di campo eseguite per verificare che tutte le fasi di produzione ai fini della commercializzazione, siano avvenute nel pieno rispetto della normativa.

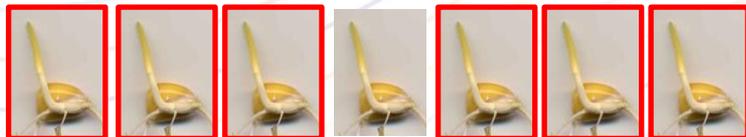
Al momento in Italia non sono effettuate coltivazioni di varietà GM. Qualora questo si realizzasse, anche le varietà GM saranno soggette ad iscrizione al Registro e a certificazione

Gli aspetti legati agli OGM in campo sementiero diventano anche tematiche varietali.

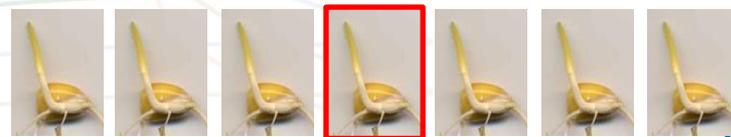
I principi su cui le procedure si basano e la tipologia dei controlli applicati alle sementi di tipo convenzionale sono validi anche per le varietà GM. Saranno necessari protocolli che verifichino il particolare carattere

I controlli di varietà GM e non-GM consistono nella verifica di:

“fuori-tipo” non-GM in sementi di varietà GM



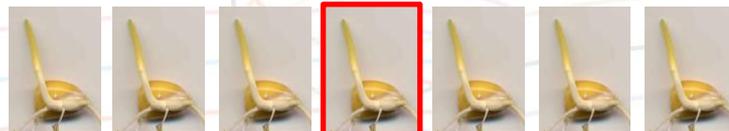
“fuori-tipo” GM in sementi di varietà convenzionali



La verifica dell'eventuale e accidentale presenza di semi OGM in lotti convenzionali è una procedura attuale.

Dal punto di vista dei controlli, a seconda degli stessi e dei protocolli applicati, è possibile:

- verificare la presenza/assenza di sementi GM in sementi non GM (approccio qualitativo)



- quantificare la presenza di sementi GM in sementi non GM (approccio quantitativo)

Modalità di controllo delle sementi di mais e soia per la presenza di OGM

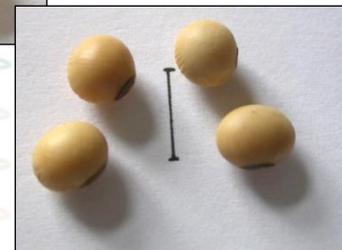
Finalità

Il MiPAAF coordina e dà attuazione ad un programma annuale di controlli delle sementi di mais e soia finalizzato all'accertamento dell'assenza di OGM nelle sementi prodotte in Italia, in quelle provenienti dai Paesi dell'UE e in quelle provenienti dai Paesi terzi.

Il Programma prevede che tutti i lotti di sementi di mais e soia siano dichiarati esenti da OGM e che una quota (20%) sia controllata ufficialmente.

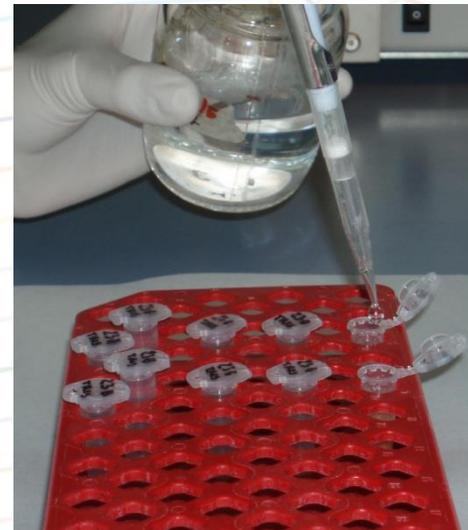
Tempistica (come da modifica del DM n° 2424 - 5/3/2020)

Il programma di controllo deve essere attuato entro il 15/04 per il mais e il 15/05 per la soia di ogni anno.



Organi interessati

- **CREA-DC** (presso le ditte sementiere che selezionano lotti di produzione nazionale, o provenienti da Paesi dell'UE o da Paesi terzi sottoposti a riconfezionamento in Italia);
- **ICQ-RF** (depositi e magazzini di stoccaggio di sementi provenienti da Paesi UE, da Paesi terzi in coordinamento con l'Agenzia delle Dogane nei punti di entrata);
- **SFR e Agenzia delle Dogane**, (punti di entrata terrestri e portuali, da Paesi terzi).



Campionamento

Metodi ufficiali (DM 22-12-1992)

Inclusione di tutti gli operatori sementieri (entità campionamento proporzionale a volume di attività)



Lotti scelti casualmente, ma con priorità per le varietà più diffuse, i lotti di maggiori dimensioni, le sementi biologiche

Blocco della merce campionata fino alla comunicazione esito analisi

Procedura per l'esecuzione dell'analisi

Macinazione del campione d'analisi di 3.000 semi

Due estrazioni indipendenti di DNA per campione

Analisi di tre repliche per ogni estrazione mediante saggio PCR Real Time (p35S, se necessario seguito da saggio specifico)

Il risultato è espresso, per approssimazione alla prima cifra decimale, come media delle 6 repliche.

CV inferiore o uguale 30%.



Analisi di laboratorio



in caso di esito negativo
(assenza di OGM)

Svincolo merce



in caso di esito positivo
(presenza di OGM)

Sequestro del lotto (ICQ-RF)

Informazione alla A.G. competente
Informazione alle Regioni interessate
Dogane: vietata l'introduzione in Italia

*L'operatore sementiero ha facoltà di richiedere
l'analisi di seconda istanza*

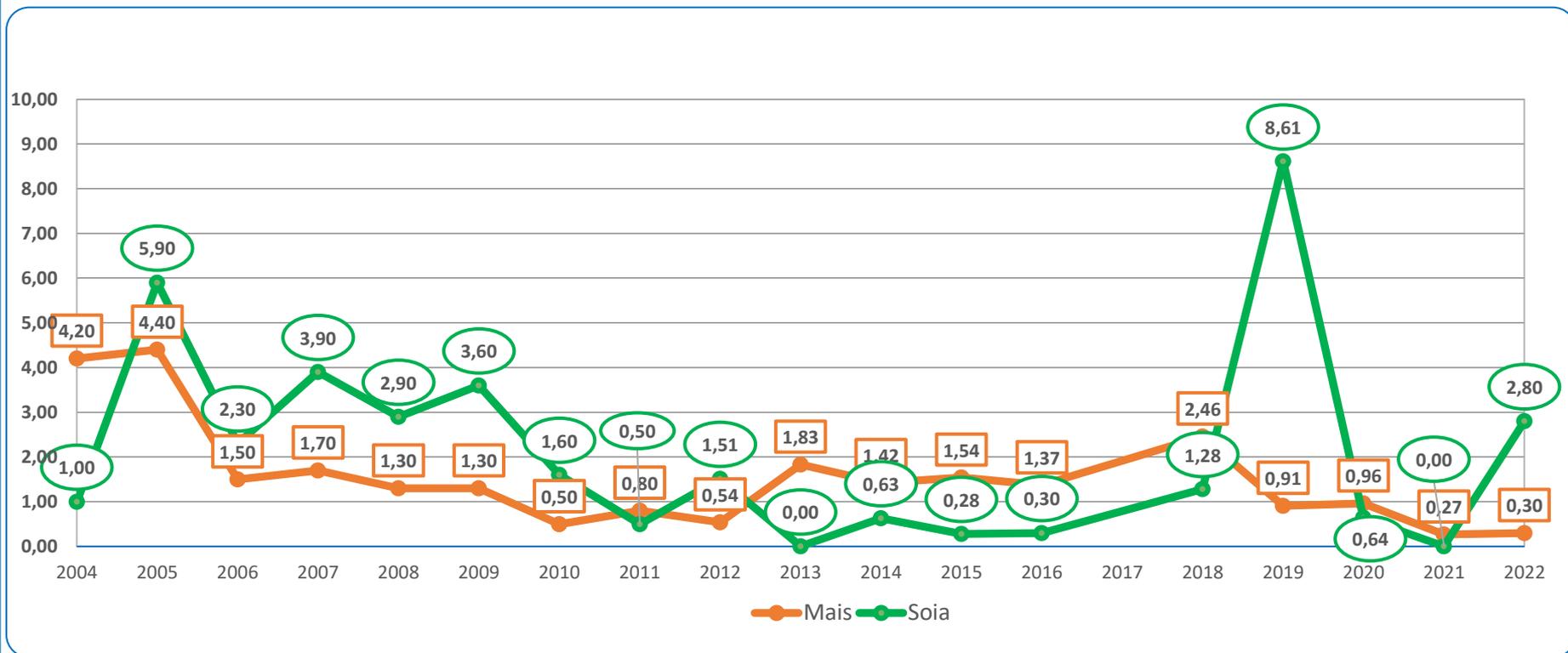
Mais

analizzati circa 22000 lotti con una media annua di ~ 1500 lotti



Soia

analizzati circa 7000 lotti con una media annua di ~ 450 lotti



Andamento in mais e soia della percentuale di campioni positivi per la presenza di OGM sul totale dei campioni analizzati (attività CREA-DC e ICQ-RF 2004-2022)



Campionamento in ditta sementiera
Campioni primari, formazione del campione globale



Campione di laboratorio -
Registrazione



Campionamento in laboratorio
Peso dei 3000 semi

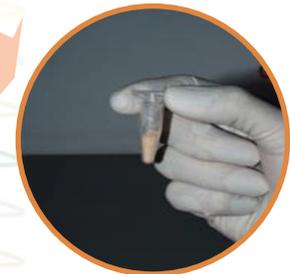


Macinazione
Omogeneizzazione



Sotto campionamento
per estrazione del DNA

Ottenimento del
campione da
sottoporre ad analisi



lotto di sementi

- omogeneo (uniformità in tutte le sue parti)
- non può superare in peso i limiti stabiliti dalle norme per ogni specie
- chiaramente identificato

campione

quantità convenzionale di seme atta a rappresentare un determinato lotto

- campione rappresentativo del lotto: ⇒ *qualità del lotto*
- campione non rappresentativo del lotto: ⇒ *qualità del campione*

Il *campionamento* deve permettere di ottenere un *campione di sementi*

- che fornisca risultati di analisi validi e ripetibili
(con il ricorso a procedure *corrette e standardizzate*)
- di dimensioni adeguate per le analisi
- nel quale la probabilità che un componente sia presente è determinata unicamente dalla frequenza con il quale lo stesso è rappresentato nel lotto

Metodi di campionamento utilizzati per le sementi

- Decreto Ministeriale 22 dicembre 1992: Metodi ufficiali di analisi per le sementi
- ISTA Rules, versione corrente



Procedura di registrazione del campione:

- ❖ n° di registrazione
- ❖ specie
- ❖ varietà
- ❖ lotto
- ❖ origine
- ❖ produttore



Preparazione del campione analitico

- 3000 semi (calcolati base peso)



Dimensione del campione di analisi

Specie	Peso max lotto	Peso 1000 semi	Peso campione d'analisi	Peso campione di estrazione
<i>mais</i>	40 t	350 g (200-500g)	1500 g	100 mg (0,100 g)
<i>soia</i>	30 t	150 g (120-180g)	600 g	100 mg (0,100 g)



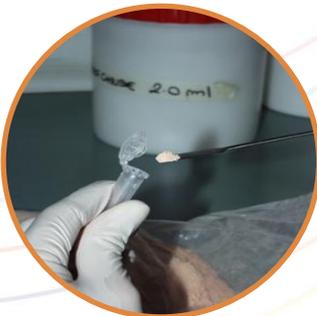
Preparazione del campione per l'analisi



- omogeneizzare il campione di analisi



- aliquotare il campione in un tubo sterile, due sottocampioni per campione di analisi

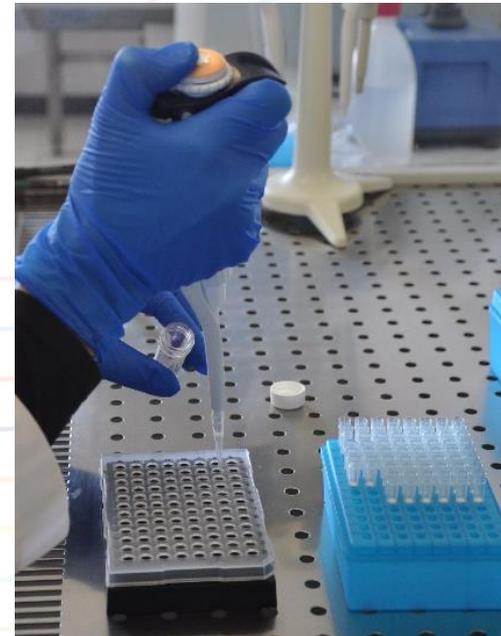


- procedere alla estrazione del DNA



Estrazione del DNA
➤ ottenere DNA di buona qualità
Protocollo classico o kit di estrazione

Allestimento del saggio di
PCR



Analisi del
risultato

- Valutazione della curva standard
 - Slope compresa tra -3,1 e -3,6
 - Correlazione >98%
- Calcolo della %OGM del campione
 - %OGM: % peso
 - % espressa come la media di sei repliche
 - CV ≤ 30%
 - CV > 30% ripetere l'analisi
- Compilazione di un certificato d'analisi



**Centro di ricerca
Difesa e Certificazione**

Stato di Tavazzano
via Emilia, Km 307 - 26035 Tavazzano (LO)
Tel. 0371/761919-760135
email: dc.tavazzano@crea.gov.it

CERTIFICATO DI ANALISI
Analysis certificate

ANALISI N. _____
Test number

<p>Specie - Species _____</p> <p>Varieta' - Cultivar _____</p> <p>Lotto - Lot Ref. N° _____ Kg</p> <p>Categoria - Category _____</p> <p>Campionamento - Sampling _____</p> <p>Data ricevimento - Sample received _____</p> <p>Analisi richiesta - OGM - determinazione quantitativa <i>Type of analysis GMO quantitative test</i></p> <p>Note _____</p>	<p style="text-align: center;">Spett. Ditta <i>To the Company</i></p>
---	--

Descrizione analisi: screening P35S e determinazione quantitativa
Analysis description P35S screening and quantification

Metodo di analisi: Saggio Real Time PCR
Method Real Time PCR assay

Dimensioni del campione (N° di semi): 3000
Sample size (Number of seeds)

Piano di analisi: n. sottocampioni 2 n. repliche PCR 6
Testing plan nr of test portions nr of PCR replicates

Espressione del risultato: OGM% (peso/peso %)
Expression of results GMO% (mass/mass %)

LOD - LOQ: 0,05% (peso/peso %)
RSDr % ≤ 30%

RISULTATI D'ANALISI
Analysis results

OGM: Non rilevati (<LOD)

Osservazioni - Observations _____

Data - Date _____

Il Responsabile - The Head of the laboratory _____

Il Laboratorio dichiara che per l'esecuzione delle analisi sono stati impiegati metodi validati e materiali di riferimento certificati. Il campionamento e l'analisi sono eseguiti in applicazione al D.M. 27/11/2003.



Grazie per l'attenzione

