

Corso di formazione degli ispettori iscritti nel registro nazionale  
di cui al decreto ministeriale 8 novembre 2017

# 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](mailto:elena.perri@crea.gov.it)*



### ATTIVITA' DEL LABORATORIO

### CAMPIONAMENTO

### ANALISI TRADIZIONALI

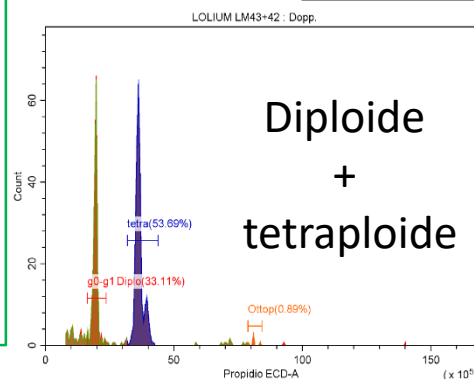
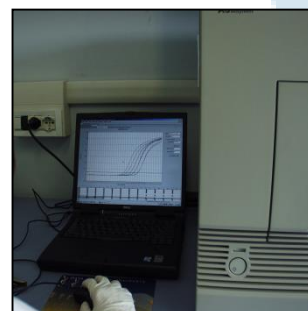
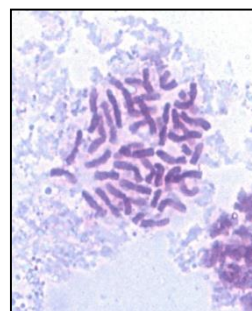
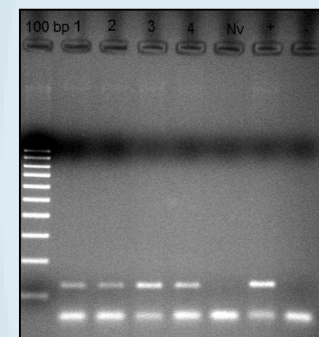
Germinabilità  
Purezza  
Ricerca Semi Estranei  
Contenuto in umidità  
del seme  
Test di vigore  
Altre

### ANALISI VARIETALI

Marcatori biochimici  
Marcatori molecolari  
Citologia - test di ploidia  
Altre

### ANALISI OGM

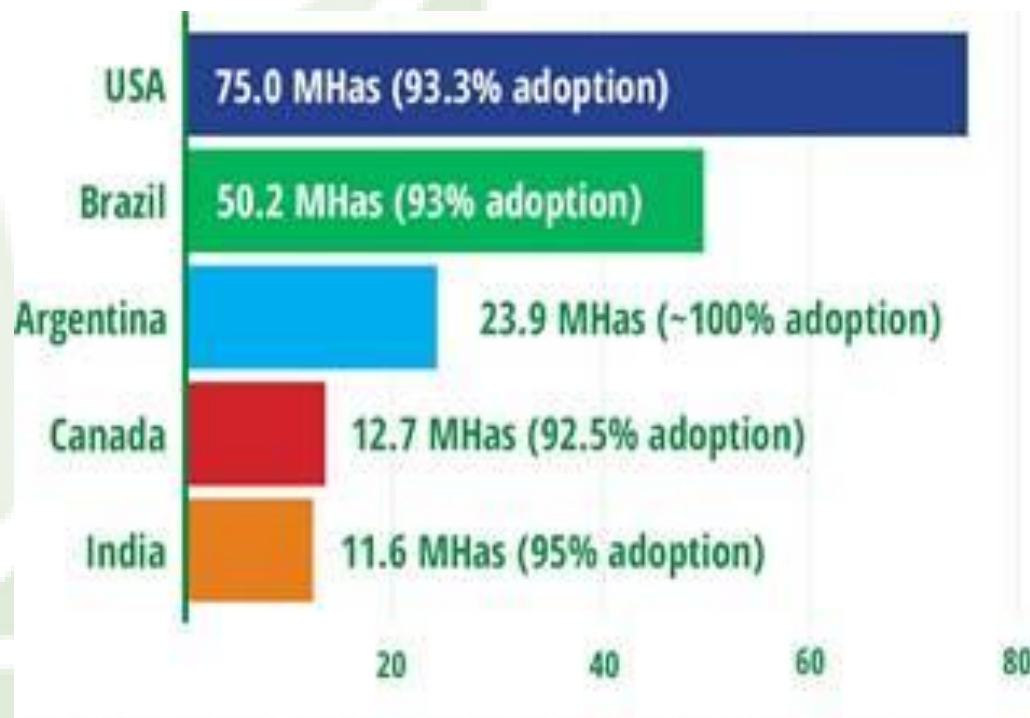
Mais, soia, altre specie  
Qualitative/Quantitative





## Mappa globale dei Paesi con colture biotech e i Mega-Paesi (2018)

**Spagna (17°):** 100.000 ettari - mais  
**Portogallo(22°):** < 50.000 ettari - mais



## Le coltivazioni di varietà GM:

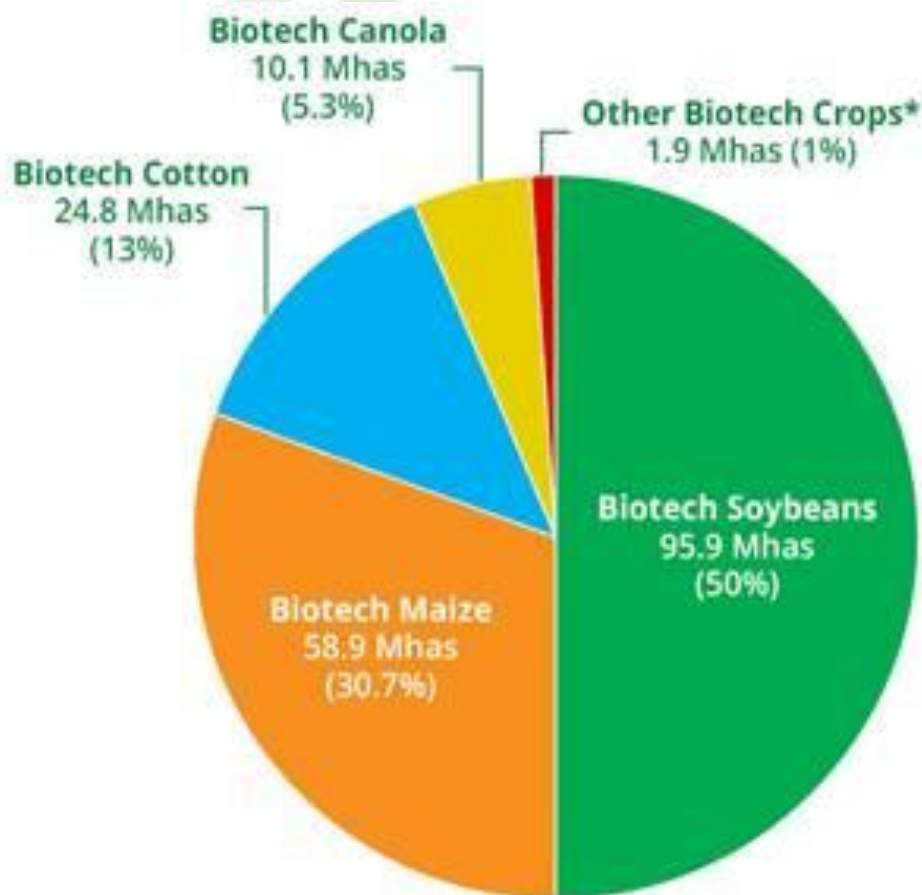
**1996:** 1,7 milioni di ettari (la prima varietà di soia transgenica è inserita sul mercato statunitense)

**2018:** oltre 191,7 milioni di ettari (circa 26 paesi)

Aumento di ~ 113 volte

I 5 Paesi che hanno impiegato più colture biotech nel 2018

Fonte ISAAA, 2018



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

Le colture biotech nel  
mondo (2018)

## Coltivazione di OGM nel mondo (2018)- equivalenza sementi in UE (mais, soia)

Paese	Area (milioni di ha)	Specie	Equivalenza EU sementi (mais)	Equivalenza EU sementi (soia)
USA	75,0	mais, soia, cotone, colza, barbabietola da zucchero, erba medica, papaia, zucchino patata, mela	SI	SI
Brasile	51,3	soia, mais, cotone, canna da zucchero	NO	NO
Argentina	23,9	soia, mais, cotone	SI	SI
Canada	12,7	colza, mais, soia, barbabietola da zucchero, erba medica, patata	SI	SI
India	11,6	cotone	-	-
Paraguay	3,8	soia, mais, cotone	NO	NO
Cina	2,9	cotone, papaia	-	-
Pakistan	2,8	cotone	-	-
Sud Africa	2,7	mais, soia, cotone	SI	SI
Uruguay	1,3	soia, mais	SI	SI
Bolivia	1,3	soia	-	NO
Australia	0,8	cotone, colza	-	-
Filippine	0,6	mais	NO	-
Myanmar	0,3	cotone	-	-
Sudan	0,2	cotone	-	-
Messico	0,2	cotone	-	NO
Spagna	0,1	mais	(EU)	-
Colombia	0,1	cotone, mais	-	-
Vietnam	< 0,1	mais	NO	-
Honduras	<0,1	mais	NO	-
Cile	<0,1	mais, soia, colza	SI	SI
Portogallo	<0,1	mais	(EU)	-
Bangladesh	<0,1	melanzana	-	-
Costa Rica	<0,1	cotone, soia	-	NO
Indonesia	<0,1	canna da zucchero	-	-
eSwatini	<0,1	cotone	-	-

## **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 decreto legislativo 24 aprile 2001, n. 212.

### **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.

# 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.

Verifica requisiti varietà

Protocolli CPVO e Linee guida UPOV

Linee guida nazionali

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

Analisi e verifica risultati  
Emissione parere

DM di iscrizione

Notifica CC e OECD

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

ispezioni ufficiali  
in campo

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

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

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 la verifica della correttezza del processo precedente

All'interno della legge sementiera nazionale si integra il d.lgs. 212.

I punti rilevanti sono:

- Ai prodotti sementieri di varietà GM si applicano le disposizioni della L. 1096/1971, (...).
- E' istituita con decreto del Mipaaf la Commissione per i prodotti sementieri di varietà GM, composta da dodici membri.
- 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, (...). 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 L. 1096/1971 che disciplina l'attività sementiera, all'art. 19 stabilisce le norme per l'iscrizione delle varietà al Registro delle varietà.

L'iscrizione della varietà 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 Carthagera.

## Condizioni per l'immissione in commercio

All'interno della legge sementiera nazionale, art. 11, il d.lgs. 212 si integra con l'art. 5 comma 8 che recita quanto segue:

(...) 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".

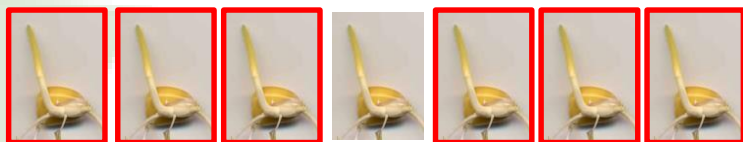
Al momento in Italia non sono effettuate coltivazioni di varietà GM. Qualora questo si realizzasse, anche le varietà GM saranno soggette ad iscrizione al Registro e a certificazione

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

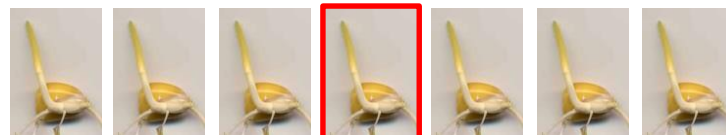
I principi su cui le procedure si basano e la tipologia dei controlli applicati alle sementi di tipo convenzionale sono validi anche per le varietà GM. Saranno necessari protocolli che verifichino il particolare carattere

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

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



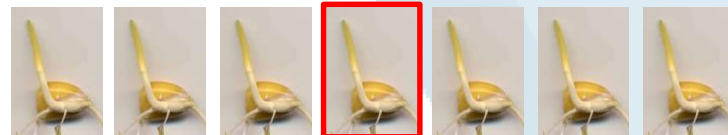
“fuori-tipo” GM in sementi di varietà convenzionali



La verifica dell'eventuale e accidentale presenza di sementi GM 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 individui GM in sementi non GM (approccio qualitativo)



- quantificare gli individui GM in sementi non GM (approccio quantitativo)

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

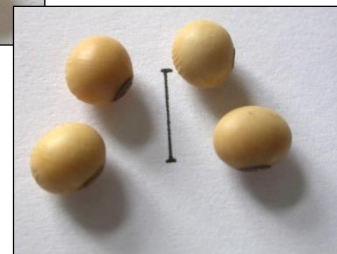
### **Finalità**

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.

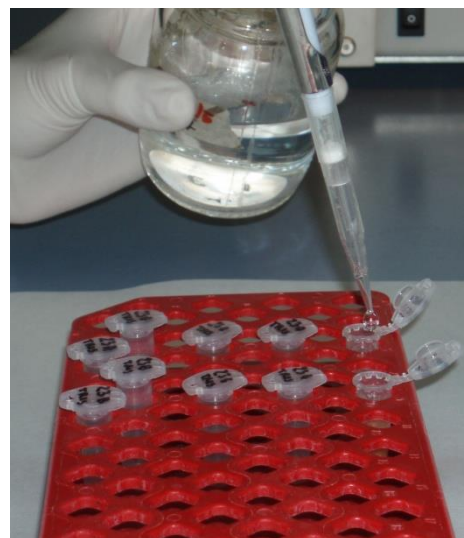
**Tempistica** (come da modifica del DM n° 2424 - 5/3/2020)

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 e dei Monopoli**, (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 d'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*

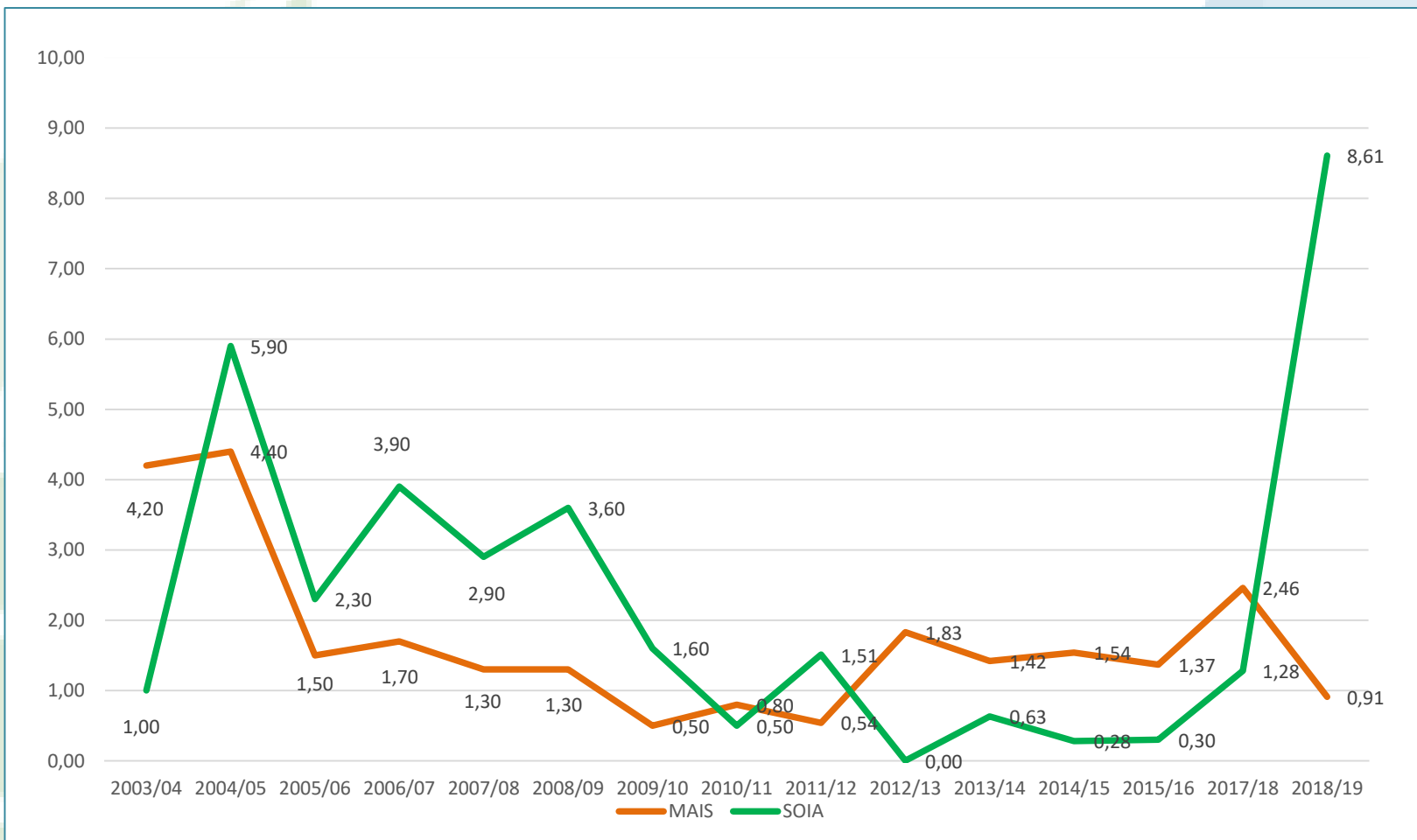
## **Mais**

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 2004–2019)**



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:  $\Rightarrow$  *qualità del lotto*
- campione non rappresentativo del lotto:  $\Rightarrow$  *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)



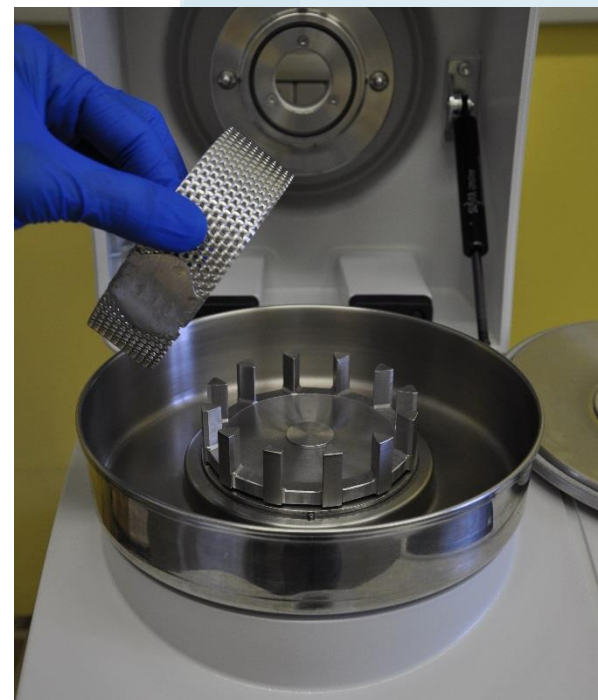
## Dimensione del campione di analisi

Specie	Peso max lotto	Peso campione d'analisi	Peso 1000 semi	Peso campione di estrazione
<b>mais</b>	40 t	1500 g	350 g (200-500g)	100 - 300 mg
<b>soia</b>	30 t	600 g	150 g (120-180g)	100 - 300 mg



Macinare il campione di analisi per:

- ottenere una dimensione di particelle omogenea
- ottenere una elevata resa in estrazione del DNA



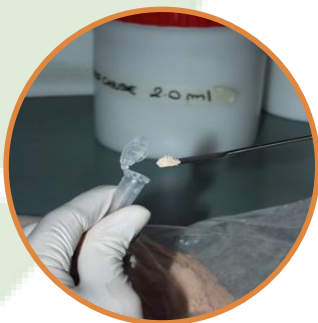
# Preparazione del campione per l'analisi



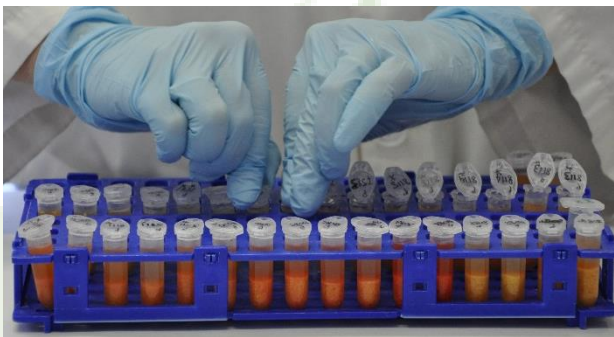
- omogeneizzare il campione di analisi



- aliquotare il campione, due sottocampioni per campione di analisi

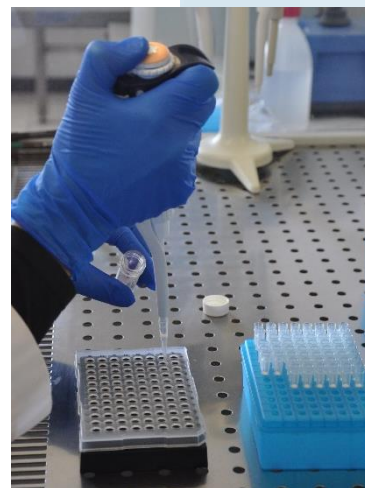


- procedere alla estrazione del DNA



## Estrazione del DNA

- resa e qualità
- protocollo classico o kit di estrazione




## Allestimento del saggio di PCR



## Analisi del risultato

- Calcolo della %OGM del campione
  - %OGM: % peso
  - % espressa come la media di sei repliche  
 $CV \leq 30\%$   
 $CV > 30\%$  ripetere l'analisi
- Compilazione di un certificato d'analisi



**Centro di ricerca  
Difesa e Certificazione**

Sede di Tavazzano  
via Emilia, Km 307 - 28038 Tavazzano (LO)  
Tel. 0371/761916-760132  
email: dc.tavazzano@crea.gov.it

**CERTIFICATO DI ANALISI**  
*Analysis certificate*

ANALISI N. \_\_\_\_\_  
Test number

<p>Specie - Species _____</p> <p>Varietà - 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 Type of analysis GMO quantitative test</p> <p>Note _____ N.campioni Notes _____ Nr of samples</p>	<p><b>Spett. Ditta</b> To the Company</p>
--	---

<p>Descrizione analisi: <i>Analysis description</i></p> <p>Metodo di analisi: <i>Method</i></p> <p>Dimensioni del campione (N° di semi): <i>Sample size (Number of seeds)</i></p> <p>Piano di analisi: <i>Testing plan</i></p> <p>Espressione del risultato: <i>Expression of results</i></p> <p>LOD - LOQ: RSDr %</p>	<p>screening P35S e determinazione quantitativa <i>P35S screening and quantification</i></p> <p>Saggio Real Time PCR <i>Real Time PCR assay</i></p> <p>3000</p> <table style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%;">n. sottocampioni <i>nr of test portions</i></td> <td style="width: 10%; text-align: center;">2</td> <td style="width: 10%;">n. repliche PCR <i>nr of PCR replicates</i></td> <td style="width: 10%; text-align: center;">6</td> </tr> </table> <p>OGM% (peso/peso %) GMO% (mass/mass %)</p> <p>0,05% (peso/peso %) ≤ 30%</p>	n. sottocampioni <i>nr of test portions</i>	2	n. repliche PCR <i>nr of PCR replicates</i>	6
n. sottocampioni <i>nr of test portions</i>	2	n. repliche PCR <i>nr of PCR replicates</i>	6		

**RISULTATI D'ANALISI**  
*Analysis results*

<b>OGM:</b>	Non rilevati (<LOD)
-------------	---------------------

Osseervazioni - 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

