

## Definition of the quick monitoring index



**LIFE08 NAT/IT/000342**

### **ACTION A9**

**Definition of a quick monitoring index (QMI)**

Deliverable Date

**30/06/2013**

**DEMETRA**

## ABSTRACT

Environmental risk assessment (ERA) and ecosystem monitoring associated with genetically modified (GM) organisms is a topic of broad interest. An essential step in the development of products based on genetically modified plants (GMPs) is an assessment of safety, including an evaluation of the potential impact of the crop and practices related to its cultivation on the environment and human or animal health. The literature describes several ways to complete a risk analysis, nevertheless, researches are still needed to implement the EU Directive within a standardized methodological reference framework. In fact, there is no widely accepted and specific risk assessment method for the evaluation of GM plants that draws on quantifiable parameters and allows for a comparative analysis among different technologies.

The proposed method integrates the quantitative approach developed by de Jesus et al. (*Applied Biosafety* 2006, 11:127-137) with the guidelines on ERA provided by the European Food Safety Authority (*EFSA Journal* 2010, 8:1879). It is performed in two steps: 1) complete a preformatted worksheet to compile the evidence of risks, 2) plot the outcome on the Matrix of Assessment. Potential hazard are grouped according to their source of exposure, along with at least one criterion for assessment of each one. These items are predetermined on the worksheet to allow for an accurate evaluation of related risks. An index of risk and a index of significance were computed for each potential hazard. The index of risk is calculated as the product of: damage x exposure x precedent; the damage indicate the level or intensity of the impact that the GMP could have on the system, if the proposed adverse effect actually occurs; the exposure is related to the level that some component is exposed to the damage and precedent considers the previous occurrence of the adverse effect, as a consequence of the event in question. The Index of Significance takes into account the location where the GMP will be cultivated, the identification and evaluation of potential adverse effects, and the evaluation of the current environmental situation. The indexes were combined using a matrix in order to assess the risk for the environment and the measures required to prevent adverse effects of GM plants.

The Matrix gives an overview of potential hazards and establishes at which level risk management must be taken. Risk is characterised by combining the magnitude of the consequences of a hazard and the likelihood that the consequences occur, when risks are identified, then applicants should propose measures to manage them. These risk management strategies should aim to reduce the identified risks associated with the GM plant to a level of no concern and should consider defined areas of uncertainty. This methodology requires to be validated through the analysis of different plants and organisms, with the principal aim of analyzing the potential risks associated with the release of the plants considered individually evaluating each transformation event (case-by-case procedures). At each stage in the model development, we have endeavoured to model 'worst-case' scenarios, in which any assumptions would tend towards overestimation rather than underestimation of consequences (*Proceedings of the Royal Society B* 2011, 278: 982–984).

## Metodo Quick Monitoring Index (QMI)

Un indice sintetico di monitoraggio (Quick Monitoring Index - QMI) è stato sviluppato tenendo in considerazione le raccomandazioni della direttiva EC2001/18 e del “*European Food Safety Authority*” (EFSA). Tale metodo permette di valutare il rischio potenziale generato dalle piante transgeniche, attraverso lo studio dei possibili impatti sull’ecosistema.

Il QMI è un metodo che integra l’approccio quantitativo definito da de Jesus et al. (2006) con le linee guida definite dal “*Panel on Genetically Modified Organisms (GMO)*” dell’EFSA (*Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified plants*; EFSA Journal 2010, 8(11):1879), valutando ad esempio, gli effetti delle piante geneticamente modificate sul target/specie non bersaglio, la biodiversità, il flusso genico, e l’evoluzione della resistenza come sono stati definiti nelle Aree di Rischio dell’EFSA (Area 1: *Persistence and invasiveness of the GM plant or its compatible relatives, including plant-to-plant gene transfer*; Area 2: *Plant to micro-organisms gene transfer*; Area 3: *Interactions of the GM plant with target organisms - TO*; AREA 4: *Interactions of the GM plant with non-target organisms – NTOs*; AREA6: *Effects on biogeochemical processes (interaction with the abiotic environment)*).

IL metodo è stato sviluppato in formato Excel (file allegato “Metodica QMI.xls”) e si basa sull’utilizzo di due strumenti:

- dei “worksheets” per ogni Area di Rischio dell’EFSA, presentati in file Excel in cui vengono evidenziati gli eventuali rischi;
- una “Matrice del Rischio” in cui il livello del rischio viene associato ad un determinato range di valori.

I possibili rischi sono raggruppati in base alla fonte di esposizione, come ad esempio: inserimento del transgene, l’espressione di una proteina, gene flow. Ogni rischio viene indicato con una lettera, che poi viene utilizzata per compilare la Matrice del Rischio.

Nella compilazione dei “worksheets”, basandosi su dati scientifici, in particolare su dati di letteratura, si attribuiscono ad ogni rischio due valori numerici che corrispondono rispettivamente ad un Indice di Rischio e da un Indice di Significatività.

In particolare, l’Indice di Rischio tiene conto dell’eventuale danno e dell’esposizione a tale danno. Il valore attribuito a ciascuno di questi due aspetti dell’Indice di Rischio varia da 0 a 4. Inoltre si valuta anche la condizione in cui il sistema si trova prima dell’inserimento della pianta transgenica (*range* = 1-2). Il prodotto dei valori attribuiti al danno, all’esposizione e alla condizione iniziale del sistema, corrispondente al valore finale dell’Indice di Rischio che è quindi un valore compreso tra 0 e 32.

L’Indice di Significatività tiene conto dell’estensione del danno, se limitata alla zona in cui viene coltivata la pianta oppure ad un livello più esteso (*range* = 0-4), e della capacità del sistema di ritornare nella condizione iniziale, senza dover intervenire dall’esterno (*range* = 0-8). Il valore finale dell’Indice di Significatività viene calcolato con prodotto dei due valori ed è quindi, anche in questo caso, un valore compreso tra 0 e 32 .

Nel compilare i “worksheets”, si rispettano le linee guida definite come step 2 e step 3, dall’EFSA (2010): Hazard and exposure characterisation.

Per ogni rischio si riportano i valori massimi ottenuti dall’Indice di Rischio e dall’Indice di Significatività nella Matrice di Rischio che stabilisce a quale livello di Rischio è esposta l’area

d'esame a seguito del rilascio della pianta transgenica in campo e viene classificato da non pericoloso fino a non consigliato.

La Matrice di Rischio viene costruita con due assi: sull'asse "x" si riportano i valori ottenuti per l'Indice di Rischio (Index of Risk), mentre sull'asse "y" si riportano i valori ottenuti per l'Indice di Significatività (Index of Significance) (Figura 1). I risultati ottenuti dai 2 indici sono riportati sul grafico mediante punti ed ogni punto viene indicato con la lettera corrispondente al rischio specifico.



Figura 1. Matrice di Rischio

In questa fase, si rispettano le linee guida definite come step 4 e step 5, dall'EFSA (2010) "Risk characterisation" e "Risk management strategies". Alla fine dell'Analisi del Rischio la Matrice di Rischio indica se sono necessarie delle restrizione nella coltivazione di una pianta GM in uno specifico ambiente e/o il monitoraggio e/o ripristino ambientale. La tipologia di intervento o di monitoraggio deve essere poi identificata dall'operatore e/o dall'ente regolatore secondo quanto riportato nella guida del rischio e del monitoraggio come riportato per i casi di DEMETRA nel "Risk and monitoring guidlines" Deliverable dell'Azione A.8.

Il metodo si propone di analizzare gli eventuali rischi associati al rilascio delle piante considerate, valutando singolarmente ogni evento di trasformazione (*case-by-case procedure*) e sovraestimando gli effetti negativi rispetto ai positivi (*worst-case scenarios*) (Perry et al., 2010).

Tale metodologia è stata applicata a 9 diversi casi studio mediante l'analisi di diverse piante e geni di interesse (Tabella 1), integrando i risultati sperimentali ottenuti dalle altre azioni coinvolte nel Progetto DEMETRA (A.6: *Pollen flow evaluation*, A.7: *Meteorological physical data*, e A.8: *Assessment of local biodiversity*) e quelli bibliografici inerenti gli effetti del prodotto del transgene su OT/NTO e l'ambiente raccolti nell'ambito dell'Azione A.1 (*Organization and collection of documentation*). Il QMI prodotto è stato utilizzato nell'azione A.10 (*Development of GIS applications*), al fine di sviluppare il Sistema Informativo Geografico (GIS) per la valutazione del rischio ambientale e il monitoraggio degli Organismi Geneticamente Modificati (OGM).

Le piante considerate sono quelle del progetto DEMETRA (pioppo, colza, mais e girasole) ipoteticamente modificate tramite l'inserimento di geni che conferiscono resistenza ad insetti ed

erbicidi o modificano il contenuto di lignina nel caso del pioppo. Tutte le aree di studio del Progetto DEMETRA sono state prese in considerazione.

In totale sono stati sviluppati 9 casi di studio inerenti alle aree del progetto DEMETRA (Tabella 1) allegata in formato elettronico come file Excel al presente deliverable (Cartella ANALISI RISCHIO CASI DEMETRA).

Tabella 1. Casi di studio inerenti alle aree di DEMETRA.

<b>Caso studio</b>	<b>Specie</b>	<b>Caratteristica modificata</b>	<b>Allegato</b>
1	<i>Populus spp.</i>	Resistenza agli insetti	1
2	<i>Populus spp.</i>	Resistenza agli erbicidi	2
3	<i>Populus spp.</i>	Metabolismo lignina	3
4	<i>Brassica napus</i>	Resistenza agli insetti	4
5	<i>Brassica napus</i>	Resistenza agli erbicidi	5
6	<i>Zea mays</i>	Resistenza agli insetti	6
7	<i>Zea mays</i>	Resistenza agli erbicidi	7
8	<i>Helianthus spp.</i>	Resistenza agli insetti	8
9	<i>Helianthus spp.</i>	Resistenza agli erbicidi	9

Una bibliografia aggiornata al 30 Giugno 2013 inerente alle piante transgeniche per i geni *cry* (tossina contro insetti), per conferire la tolleranza agli erbicidi e per contenuto basso di lignina è allegata in formato Excel solo elettronico (file allegato "Table Bibliografia.xls"). Tale tabella permetterà di dare dei valori rischio (Range 0-4) nelle aree di studio utilizzando i dati bibliografici.

L'analisi del rischio deve essere intrapresa per predire il realizzarsi di impatti negativi sull'ambiente e sulla salute umana e/o animale. Queste valutazioni ci permettono di definire misure preventive per mitigare o evitare gli effetti avversi che potrebbero risultare da pericoli potenziali o identificati (de Jesus et al. 2006).

La Matrice di valutazione per ogni coltura/gene può essere usata per effettuare una valutazione del rischio complessivo, in questo modo essa dovrebbe risultare in una guida qualitativa informativa e, se possibile, quantitativa, ai gestori del rischio. A ogni stadio dello sviluppo del modello, abbiamo tentato di rappresentare lo scenario del "caso peggiore", nel quale ogni ipotesi dovrebbe tendere alla sovrastima piuttosto che alla sottostima delle conseguenze.

Applicazioni di competenza e conoscenza ecologica è essenziale durante tutti gli stadi dello sviluppo di OGM che debbano essere rilasciati nell'ambiente, dalle primissima pianificazione al monitoraggio ed alla gestione post-rilascio. La base della conoscenza sulle piante GM, la stabilità dell'espressione e della performance fenotipica del transgene, e l'impatto potenziale delle piante GM sono in aumento (Nap et al., 2002). Il coinvolgimento attivo di esperti con una conoscenza della rilevanza ecologica e dei processi evolutivi può aiutare ad evitare problemi ambientali (Snow et al.,

2005). Oltretutto, i rischi degli OGM sono certi o universali. Entrambi potrebbero variare spazialmente e temporalmente su una base caso-per-caso. Comparazioni tra pratiche transgeniche, convenzionali e di altra agricoltura, come la coltura biologica, chiariranno i relativi rischi e benefici dell'adozione di OGM. Misure che prevengano il trasferimento di geni che potrebbe influenzare negativamente sulle popolazioni naturali e che rallenta l'evoluzione di resistenza ai transgeni può ridurre alcuni dei possibili rischi ecologici.