

REZUMAT

al tezei de doctorat intitulată:

CERCETĂRI PRIVIND DETECTAREA UNOR ORGANISME MODIFICATE GENETIC ÎN ROMÂNIA

Doctorand: **SIMIONESCU (MIHĂLĂCHIOIU) Luminița Raluca**

Conducător științific: **Prof. univ. Dr. CORNEA Călina Petruța**

CUVINTE-CHEIE: plante modificate genetic, legislație, detectare, probe, România

Plantele modificate genetic contribuie la nivel mondial la progresul general, ar trebui să constituie baza combaterii foametei. Alimentele obținute din plante modificate genetic asigură un nivel ridicat de sănătate a oamenilor, animalelor, mediului și contribuie la inovarea în sistemul agroalimentar. În ultimele decenii, progresele în biotehnologie au condus la dezvoltarea de noi tehnici genomice (NGT), care permit dezvoltarea unor plante cu trăsături noi dorite, prin modificarea de ADN al celulelor. Plantele agricole reprezintă beneficiile ingineriei genetice, precum creșterea randamentului, rezistența la schimbările climatice (secetă, soluri sărate), reducerea nevoii de pesticide, compoziția sporită a nutrienților și calitatea alimentelor, rezistența la dăunători și boli, securitatea alimentară, în contextul unei populații a lumii tot mai mari. NGT s-au dezvoltat rapid, unele produse NGT sunt deja pe piață în afara UE și este probabil ca această tendință să continue. În același timp, există preocupări legate de utilizarea acestor tehnologii și impactul asupra agriculturii organice, privind dreptul consumatorilor la informație și la libera alegere. Acceptarea consumatorilor este esențială.

Plantele obținute din NGT au contribuie la obiectivele Acordului Verde European, la strategiile de la Fermă la Furculiță și Biodiversitate și la Obiectivele de Dezvoltare Durabilă (ODD) ale Națiunilor Unite pentru un sistem agroalimentar durabil. Curtea de Justiție a UE în 2018 a clarificat că organismele produse prin mutagenезă vizată sunt OMG și se supun cerințelor legislației UE privind OMG.

Au fost înregistrate pentru cultivare 14 varietăți de soia modificată genetic (GTS - 40-3-2 între anii 2004 - 2006). România a interzis cultivarea soiei modificate genetic, începând cu 1 ianuarie 2007. În perioada 2007-2010, a fost cultivat porumbul modificat genetic MON810 pe suprafețele de 332,4 ha în 2007, de 6130,44 ha în 2008, de 822,6 ha în 2010, conform Ministerului Agriculturii, Pădurii și Dezvoltării Rurale.

Legislația actuală nu mai este adecvată și are nevoie de adaptare la progresul științific și tehnologic pentru unele NGT și produsele acestora. Cadrul actual se bazează pe tehnici și metode definite de biotehnologie, așa cum a fost înțeles la sfârșitul anilor

'90. În plus, actuala procedură de autorizare și control de trasabilitate a alimentelor nu a fost concepută pentru a promova sustenabilitatea în sectorul agroalimentar. Nereglementarea produselor NGT ar afecta negativ inovația și cercetarea biotehnologiei agricole și alimentare, operatorii din sistemul agroalimentar și furajer, operatorii din agricultura ecologică, partenerii comerciali, autoritățile naționale de control a alimentelor pe piață, organismele de evaluare, organizațiile de consumatori.

Teza de doctorat intitulată: **“Cercetări privind detectarea unor organisme modificate genetic în România”** propune pe de o parte, o analiză a incidenței organismelor modificate genetic identificate la controlul alimentelor și furajelor în România în perioada 2017 și 2020 și de a evalua legislația în domeniul tehnicilor noi de modificare a genomului și, pe de altă parte, de a analiza opinia consumatorilor prin realizarea unui chestionar public de percepție și unui studiu de caz privind editarea genomului plantelor de cultură (tehnicile de editare genomică) și are următoarele obiective:

- evaluarea pentru perioada 2017 – 2020 a prezenței materialului modificat genetic la soia și porumb din România;
- testarea prezenței unor transgene în material vegetal sau produse derivate de la sfeclă de zahăr și papaya;
- analiza critică a noilor tehnici de modificare genetică a plantelor și a metodelor de detectare a modificărilor;
- analiza comparativă a reglementărilor în domeniul introducerii pe piață a NGT - OMG și dezbatelor în vederea identificării acestora;
- analiza gradului de informare, al percepției și acceptării consumatorilor din România pentru produsele agroalimentare plante și produse obținute prin noi tehnici genomice.

Teza este structurată în două părți:

Partea I: Studiu bibliografic;

Partea a II-a: Cercetări proprii.

Partea I a urmărit în primul capitol “trecerea în revistă” a culturilor transgenice la nivel mondial, în anii 2017, 2019 și 2020, arată suprafețe cultivate și țări care adoptă înființarea acestora, în continuă și rapidă creștere. Beneficiile aduse prin utilizarea în sectorul agroalimentar de plante modificate genetic sunt expuse în primul capitol. Oamenii de știință au avut păreri pro și contra asupra utilizării și cultivării lor, încă de la primele culturi modificate genetic. După o perioadă de studiu, revizuire și reflecție, la nivel mondial academiile au convenit că nu există niciun pericol privind siguranța alimentelor produse prin culturi modificate genetic. Tot acest capitol prezintă succint nivelul de acceptare a biotehnologiilor la nivel mondial și metodele de detecție calitativă și cantitativă a ADN. Cu ajutorul metodei real-time PCR se realizează eficient în același timp amplificarea și cuantificarea unei secvențe ADN, într-o singură operațiune executată de echipamente automatizate de tipul Themocycler.

Capitolul II cuprinde tipurile și mecanismele noilor tehnici genomice și reliefează beneficiile sociale și economice aduse de progresul biotehnologiei aplicate asupra plantelor. Acestea permit introducerea de noi trăsături sau pentru a modifica trăsăturile existente în mod eficient. NGT permit cercetătorilor să insereze sau să elimine gene întregi, să facă mici modificări de ADN sau să modifice activitatea genelor.

Ele dau cercetătorilor instrumente mai precise pentru creșterea variațiilor de plante. Acest capitol expune unele aplicații ale NGT.

Tehnici de editare a genomului prin aplicare de nucleaze specifice situs-ului includ metodele de tăiere și alterare a genomului în timpul procesului de reparare (ZFN, TALEN și CRISPR-Cas9) și de modificări doar la câteva perechi de baze (ODM). Cisgeneza implică transferul unei gene dintr-o specie identică sau foarte apropiată. Intrageneza reprezintă alterarea materialului genetic din aceeași specie, prin adăugarea de noi trăsături. Metodele epigenetice modifică activitatea unei gene fără a modifica ADN. Aplicarea NGT pe diferite matrici de material biologic sunt elaborate pentru industria agro-alimentară. Este obligatoriu ca aceste produse sau ingrediente să poată fi monitorizate (Regulamentul (UE) nr. 625/2017 privind controalele oficiale) pe întregul lanț de producție, procesare și comercializare, prin procedurile specifice de trasabilitate (Regulamentul (CE) nr. 1830/2003 privind trasabilitatea și etichetarea OMG) și prin intermediul informațiilor de pe etichete (complete și corecte).

Provocarea pe care o aduc noile tehnici genomice este reprezentată de detecția produselor dezvoltate prin aceste tehnici. În prezent nu este clar cum să se demonstreze specificitatea metodei dacă mutația ar putea să apară și în mod spontan sau ar putea fi introdusă prin tehnici de editare a genomului sau mutagenză aleatorie. Pentru controlul pieței agroalimentare a UE, este foarte improbabil ca laboratoarele să poată detecta prezența produselor vegetale neautorizate în produsele alimentare sau hrana pentru animale care intră pe piața Uniunii Europene, fără a deține informații prealabile privind secvențele de ADN modificate. Prin statutul noilor tehnici genomice, evaluat de Comisia Europeană în anul 2021, s-a concluzionat că există pe piața mondială spre comercializare plante și produse NGT, prezentate în capitolul II, precum și noile trăsături induse ale acestora.

Autoritatea Europeană pentru Siguranța Alimentară (EFSA) a concluzionat că produsele vegetale cu profiluri de risc similare cu cele dezvoltate prin unele metode NGT (mutagenză țintită și cisgeneză) pot fi obținute cu tehnici de ameliorare convenționale sau mutații naturale și că nu prezintă riscuri noi. Exemple de reglementare a NGT în țări din afara UE sunt cuprinse la capitolul II.

În **Partea a II-a** sunt prezentate obiectivele cercetărilor, studii, metodologia utilizată, rezultatele obținute pentru cercetările proprii.

Capitolul III, IV, V și VI cuprind studii de date comparative pentru perioada 2017-2020, în România, privind detecția secvențelor specifice de modificare genetică pentru matrici de soia, porumb, papaya și sfeclă de zahăr din fruct materie primă și produse, cu propunere de adaptare a metodei de examinare pentru aceste matrici și studii privind analizele efectuate în laboratoarele naționale de biologie moleculară pentru detecția OMG în alimente și furaje comercializate pe piață. Sunt prezentate și date privind producția și cantitatea importată de soia, porumb, sfeclă de zahăr și papaya.

Studiul concluzionează pentru soia producții în scădere (suprafețe cultivate mai mici), importuri cu cantități în continuă creștere, spre deosebire de export. Pentru porumb cunoaștem producții semnificativ crescătoare și o importantă activitate de export (importul este nesemnificativ). Pentru sfecla de zahăr se evidențiază o

producție națională în scădere continuă și semnificativă, însoțită de importul unor cantități mari, urmare a cererii din sectorul creșterii animalelor de furaje bogate proteic. Pentru papaya putem concluziona existența importurilor (exportul este nesemnificativ), în cantități mici, dar cu trend crescător, ceea ce poate însemna dezvoltarea gustului consumatorilor pentru acest fruct.

În România sunt 8 laboratoare acreditate implicate în controlul oficial pentru examinarea alimentelor și furajelor modificate genetic și laboratorul național de referință pentru OMG, care au efectuat analize la mai multe tipuri de produse. Pentru soia modificată genetic: boabe, făină, șrot, izolat proteic, texturat, lapte, fibre, granule, cubulețe, felii, pâine, ciocolată, pate, sosuri, salamuri, cârnați, biscuiți, prăjituri, carne conservată, preamestec de patiserie și cremă. Pentru porumb modificat genetic: boabe, malț, popcorn, pufuleți, chipsuri, ulei, fulgi, porumb dulce, mălai, amidon, drojdie furajeră, furaje combinate. Metodele de identificare și de cuantificare utilizate sunt acreditate RENAR: ISO 21569 (metode calitative), ISO 21570 (metode cantitative) și ISO 21571 (metode de extracție ADN). Toate probele cu rezultat pozitiv, au fost sub limita de 0,9%, ceea ce demonstrează că produsele alimentare și furajere din piața națională respectă legislația actuală în vigoare privind OMG. 2,25% din probele analizate au avut rezultat pozitiv pentru soia modificată genetic, conducând la concluzia că a fost importată o mică cantitate de furaj modificat genetic.

Pentru sfecla de zahăr și papaya, sunt detaliate materiile prime, pregătirea probelor și eșantionarea acestora, extracția ADN, testarea calitativă și cantitativă prin metoda real-time PCR cu echipamentul real-time PCR. Materiile prime analizate au fost produse de origine vegetală, care au reprezentat 23 de probe (6 probe de papaya fruct, semințe, cubulețe confiate uscate și congelate și 17 probe de sfeclă de zahăr din diferite zone geografice ale țării (Mureș – Cereal Land, Mureș – Luduș, Sibiu – Aflat, Bistrița Năsăud – Lechința, Cluj – Baba Ioana, Alba – Arieșul, Alba – Săliștea, Covasna – Târgul Secuiesc – Cultiliș, Covasna – Angheluș, Botoșani – Unteni, Brașov – Tarlungeni, Brașov – Feldioara Suceava, Iași, Neamț, Brăila)). Toate probele au fost utilizate pentru extracția de ADN genomic și aplicate procedurile real-time PCR, conform procedurilor producătorilor. Kit pentru extracție acizi nucleici: GeneSpin for 50 DNA Extraction (PCR GRADE). Kit pentru amplificare: DIATHEVA-MBK0013, EUROGENTEC primeri și sonde. Toate probele examinate au avut rezultat negativ pentru testarea OMG, ceea ce conduce la concluzia că pe piața națională sunt prezente soiurile nemodificate genetic. Adaptarea metodei de lucru presupune pentru eșantioanele de sfeclă de zahăr și papaya semințe, în etapa de pregătire a probelor umectarea mai mult timp pentru reducerea riscului de încălzire, prevenirea activării DNazelor și facilitarea procesului de extracție. Metoda de extracție utilizată este eficientă pentru matricile de sfeclă de zahăr și papaya, în urma cuantificării spectrofotometrice, confirmării absenței substanțelor inhibitoare și a evaluării stării de fragmentare a moleculelor de ADN.

Capitolul VII cuprinde un studiu privind percepția și evaluarea gradului de acceptare a consumatorilor din România asupra produselor agroalimentare derivate din plante obținute din noi tehnici genomice, comparativ cu alimentele derivate din plante convenționale și a disponibilității de a le achiziționa și consuma. În perioada iunie 2023 – octombrie 2023 a fost distribuit un chestionar în sistem online.

La capitolul VIII este amintit cadrul legislativ actual referitor la organismele modificate genetic, la nivel național și european. Există dezbateri la nivel european pentru definitivarea proiectului de Regulament privind plantele obținute prin mutagenеза țintită și cisgeneza și produsele acestora. Rețeaua europeană a laboratoarelor pentru OMG (ENGL) în anul 2023 a identificat limitări pentru dezvoltarea și validarea unor metode de detectare specifice evenimentului pentru plante rezultate din mutagenеза sau cisgeneza vizată. Produsele cu secvențe ADN identice nu pot fi distinse prin metode analitice și precizat dacă au apărut în mod natural, prin ameliorare convențională sau prin utilizarea NGT.

În încheierea tezei de doctorat, sunt prezentate concluziile studiilor realizate pentru atingerea obiectivelor propuse și perspectivele pentru studii viitoare, în contextul necesității de noi alimente și furaje, care să contribuie la obiectivele sistemului agroalimentar european durabil conform Acordului Verde European și strategiile conexe. Ar fi încurajate inovarea și cercetarea în sistemul agroalimentar și industriile biotehnologice, dacă ar beneficia de cadru juridic clar pentru plantele NGT.

Recomandări și elemente de noutate

Pentru prima dată a fost efectuat în România un studiu de percepție și acceptare a consumatorilor asupra noilor tehnici genomice și produselor obținute din acestea.

În cadrul studiilor care au făcut obiectul prezentei teze, s-a realizat pentru prima dată detectarea unor diferite tipuri de produse sau materii prime, precum papaya și sfecla de zahăr, considerate matrici noi pentru metodele de lucru utilizate în prezent în cadrul laboratoarelor de biologie moleculară și OMG din țara noastră, care efectuează supravegherea și monitorizarea alimentelor și furajelor aflate pe piață, însoțită de adaptarea metodei de detectare pentru aceste matrici.

Studiul elaborat cu date ale producțiilor obținute și balanța comercială pentru speciile soia, porumb, sfeclă de zahăr și papaya, precum și studiul privind detecția OMG din alimente și furaje, ambele efectuate pentru perioada 2017-2020 pe teritoriul României, oferă pentru prima dată tabloul complet pentru acest domeniu și poate constitui baza de plecare pentru elaborarea unor studii ulterioare. Rezultate pozitive nu au fost în anul pandemic 2020, datorită responsabilității tot mai mari a operatorilor din industria alimentară și încrederii consumatorilor în produsele puse pe piață.

Analiza critică a criteriilor propuse de EFSA pentru evaluarea NGT sunt pentru prima dată în dezbateri la nivel național și european, precum și un posibil act normativ de reglementare a mutagenезаi țintite și cisgenezei.