

Il mito delle barriere naturali

L'introggressione di transgeni provenienti da culture di organismi geneticamente modificate rappresenta un rischio per l'ambiente?

Vincenzo Guarnieri¹, Alice Benessia^{1,2}, Elena Camino^{1,3}, Giuseppe Barbiero^{1,4}

¹I.R.I.S. – Istituto di Ricerche Interdisciplinari sulla Sostenibilità; ²Scuola di dottorato in Scienze, Tecnologia e Società, Università di Catania; ³Dipartimento di Biologia Animale e dell'Uomo, Università di Torino; ⁴Università della Valle d'Aosta.

Parole chiave: introggressione; organismi geneticamente modificati (OGM); valutazione del rischio; scienza e tecnologia.

Sommario

1. Introduzione
2. Le barriere naturali all'introggressione per trasferimento verticale dei geni
3. Casi accertati di introggressione di transgeni per trasferimento verticale
4. Le barriere naturali all'introggressione per trasferimento orizzontale dei geni
5. Casi accertati di introggressione di transgeni per trasferimento orizzontale
6. Introggressione: un problema di cornici concettuali
7. Metodologie di rilevazione dell'evento fuori norma
8. Per uscire dalla controversia: l'esplicitazione e il vaglio dei valori sottesi

Correspondenza: Giuseppe Barbiero, Ph.D.,
Indirizzo: Strada Cappuccini 2 A – 11 100 Aosta (I)
Posta elettronica: g.barbiero@univda.it

Riassunto

La coltivazione in campo aperto di organismi vegetali geneticamente modificati (OGM) pone diverse questioni complesse e controverse. In campo ecologico, una delle più dibattute riguarda la possibilità che un transgene appartenente a piante OGM possa diffondersi in popolazioni native attraverso un processo noto come introgressione, ovvero l'incorporazione stabile di un determinato gene nel genoma dell'organismo ospite in modo tale da dare origine ad una popolazione differenziata. Le conseguenze ecologiche dell'introggressione di un transgene da parte di una popolazione di organismi vegetali o di microrganismi non sono ancora ben chiarite, ma potrebbero essere potenzialmente rilevanti. In questa revisione critica si presentano i due principali processi di introgressione, verticale e orizzontale, se ne analizzano i vincoli biomolecolari, genetici e ambientali che limitano la possibilità di diffusione del transgene e si riportano i casi accertati di superamento delle barriere naturali. Gli Autori discutono poi della gestione globale delle coltivazioni OGM, rilevando da un lato le carenze e le approssimazioni dell'approccio lineare basato sulla quantificazione del rischio sussunto da criteri biomolecolari, e dall'altro auspicando l'assunzione di una prospettiva ecologica, che tenga conto della complessità e non linearità delle relazioni tra organismi e ambiente e nella quale gli aspetti fattuali e quelli valoriali siano esplicitamente articolati e vagliati.

1. Introduzione

La ricerca, lo sviluppo e la coltivazione su larga scala di piante geneticamente modificate (GM) sta variando rapidamente il panorama dell'agricoltura mondiale. Nel 2006 sono stati messi a coltura piante GM su 102 milioni di ettari per un giro d'affari complessivo di 6,15 miliardi di dollari, ritagliandosi così una quota pari al 21% dell'intero mercato dei semi (www.isaaa.org [2006]). La cosiddetta "rivoluzione genetica" non sembra però priva di conseguenze e da tempo scienziati e opinione pubblica manifestano una crescente preoccupazione per i rischi tossicologici, ecologici e più in generale per le ricadute economiche e sociali associate a questa impresa.

In questo studio prenderemo in considerazione la letteratura scientifica relativa ad un particolare tipo di rischio ecologico connesso alla coltivazione di piante GM in campo aperto: la diffusione incontrollata e indesiderata di segmenti di DNA appartenenti a colture di organismi GM tramite flusso genico. Il rischio in questione è legato a un flusso genico seguito da *introgressione*, ovvero l'incorporazione stabile in piante selvatiche di geni provenienti da coltivazioni di piante GM, con conseguenze imprevedibili per le rese agricole, per la biodiversità e per l'equilibrio dell'ecosistema. Alcuni transgeni, che conferiscono ad esempio resistenza a insetti o a condizioni estreme di temperatura o siccità, potrebbero dare origine a specie in grado di prevalere sulle altre, compromettendo la biodiversità alla base della stabilità di un ecosistema. Inoltre, se le nuove specie fossero infestanti, sarebbe più difficile controllarle e di conseguenza si ridurrebbero le rese agricole.

E' opinione diffusa fra gli esperti che in natura siano presenti diverse *barriere naturali* che rendono, se non impossibile, almeno altamente improbabile l'introgressione di transgeni dalle coltivazioni di piante GM ad organismi presenti nell'ecosistema in cui la coltivazione è inserita. Per valutare l'adeguatezza delle barriere naturali ai flussi genici è necessario fare il punto sulle conoscenze relative ai meccanismi dell'introgressione di geni e analizzare i casi in cui è stata accertata l'introgressione di transgeni.

Tuttavia, come vedremo, la complessità dei modelli dei flussi genici negli ecosistemi e la relativa ignoranza sulle loro dinamiche è tale da rendere difficile rispondere in maniera inequivoca alla domanda: L'introgressione di transgeni provenienti da coltivazioni GM rappresenta un rischio ambientale? In effetti, tale complessità implica da un lato la gestione di una grande quantità di dati incerti tra loro correlati e di un significativo margine di ignoranza, e d'altro lato, nella valutazione degli eventuali rischi, la necessità di affrontare il problema attraverso l'utilizzo congiunto di diverse discipline, portatrici di differenti prospettive, metodologie e finalità. L'introgressione di transgeni rappresenta quindi uno studio di caso eccellente attraverso il quale cercare di individuare alcuni strumenti concettuali necessari alla comunità scientifica per affrontare tutte quelle situazioni

complesse nelle quali prevalgono gli elementi di rischio, incertezza, ignoranza, rispetto ai fenomeni studiati.

Scopo di questa review è di fornire un quadro il più possibile esaustivo sulle più recenti conclusioni scientifiche in merito al fenomeno dell'introggressione e, alla luce di quanto emerso dall'analisi della letteratura scientifica, discutere la controversa questione delle conseguenze ambientali di tale fenomeno.

2. Le barriere naturali all'introggressione per trasferimento verticale di geni

L'introggressione per trasferimento verticale dei geni (VGT, *Vertical Gene Transfer*) avviene per via sessuale. Nelle piante, durante la fioritura, il polline feconda l'ovocita di un individuo della stessa specie. Quando il polline di una pianta appartenente a una certa popolazione differenziata feconda una pianta di un'altra popolazione, si parla di *ibridazione*. La dispersione del polline è considerata la principale causa di flusso genico da una popolazione differenziata ad un'altra ed è un fenomeno piuttosto comune in natura. Tuttavia affinché si realizzi un'introggressione di un certo gene è necessario che gli ibridi si reincrocino per diverse generazioni, fenomeno che può essere facilitato dal fatto che in molte piante le diverse generazioni possono coesistere simultaneamente per diversi anni. Nel caso delle colture di piante GM, il transgene può conservarsi nell'area coltivata anche per lungo tempo grazie a popolazioni di "volunteers", cioè di piante che nascono spontaneamente gli anni successivi alla raccolta. La popolazione di *volunteers* rappresenta una *seed bank* che può fornire il transgene alle generazioni di ibridi eventualmente esistenti per un periodo di tempo molto lungo.

Diversi studi hanno concentrato la propria attenzione sulle "zone di contatto", utilizzando come *marker* molecolari l'attività di particolari isoenzimi e sequenze geniche che permettono di ipotizzare una "storia" plausibile dello scambio genico. Complessivamente sono 165 i casi accertati di introggressione fra organismi vegetali, ma ci sono diverse buone ragioni per ritenere che questa valutazione rappresenti un valore ben al di sotto della realtà (Stewart *et al.* [2003]). Significativo è il fatto che circa due terzi dei casi di introggressione coinvolgono popolazioni della stessa specie e solo un terzo popolazioni di specie diverse. L'introggressione di un gene sembra infatti possibile solo se le due popolazioni differenziate hanno lo stesso *gene order* (arrangiamento cromosomico) ed è facilitata dalla prossimità fisica che il gene può avere nel cromosoma con altri geni che conferiscono un vantaggio in termini di fitness.

Considerando dunque la possibilità di introggressione di un transgene da un'ipotetica e generica pianta GM ad una popolazione differenziata affine, emergono diverse barriere naturali che si oppongono all'introggressione. Per superarle le due specie devono: (1) essere sessualmente compatibili; (2) vivere nella stessa area; (3) avere tempi di fioritura almeno parzialmente sovrapposti.

Inoltre, (4) l'ibrido di prima generazione F1 deve persistere per almeno un'altra generazione ed essere sufficientemente fertile per dare successivi reincroci; (5) il transgene deve offrire un vantaggio selettivo alla specie selvatica che lo riceve e infine (6) i reincroci devono ripetersi per varie generazioni fino all'incorporazione stabile del nuovo gene nel genoma della popolazione ospite. Sulla base di queste premesse generali, Neal Stewart e collaboratori propongono una classificazione delle diverse colture di piante GM in base alla probabilità che esse possano dare introgressione, distinguendo coltivazioni a bassissimo rischio (es. soia, arachide, patata, fagiolo); coltivazioni a basso rischio (es. mais, riso, cotone); coltivazioni a rischio moderato (es. grano, canna da zucchero, girasole, colza); infine, coltivazioni a rischio elevato (es. saggina) (Stewart *et al.* [2003]).

Stewart e collaboratori ritengono che le barriere naturali possono essere rinforzate con apposite strategie – come ad esempio inserire il transgene in un locus appropriato o nei cloroplasti; oppure ridurre la fertilità della specie GM. Tuttavia convengono sul fatto che non è ancora possibile valutare adeguatamente il rischio di introgressione di un transgene perché, non solo non sono stati ancora sviluppati sistemi adeguati per l'individuazione di casi di introgressione ma, più in generale, al momento attuale le conoscenze sulla genetica e sull'ecologia dell'introgressione sono ancora troppo limitate per poter esprimere una valutazione adeguata del rischio (Stewart *et al.* [2003]).

3. Casi accertati di introgressione di transgeni per trasferimento verticale

Attualmente non è ancora disponibile una ricerca sistematica relativa all'introgressione di transgeni per trasferimento verticale, per cui è probabile che i casi accertati finora, che riguardano coltivazioni GM di colza, di girasole, di capellini comuni (*creeping bentgrass*) e di patata, siano destinati ad aumentare.

Colza

E' noto da tempo ed è ben documentato il flusso genico in natura tra colza (*Brassica napus*) e rapa selvatica (*Brassica rapa*) (Hansen *et al.* [2001]). Tuttavia la prima evidenza di introgressione di transgeni provenienti da coltivazioni commerciali di colza GM è relativamente recente e risale al 2003 (Warwick [2003]). Nel corso di una ricerca è stato osservato che l'introgressione può avvenire spontaneamente e gli ibridi che si formano hanno un alto potenziale di produzione di semi transgenici (Halfhill *et al.* [2004]). Altre ricerche hanno sperimentalmente dimostrato che il transgene può conferire un vantaggio selettivo agli ibridi e che ciò contribuisce a stabilizzare l'introgressione (Stewart *et al.* [1997]). In particolare è stato osservato che il transgene Bt (*Bacillus thuringiensis*)

incrementa la competitività della *B. rapa* in presenza di elevate densità di insetti (Vacher *et al.* [2004]; Zhu *et al.* [2004]).

Una ricerca realizzata per il Department of Agriculture and Agri-Food del governo canadese del 2005 mostra che il transgene che conferisce resistenza agli erbicidi presente nella canola (canadian oil low acid, una varietà di colza sviluppata in Canada) si diffonde lentamente nelle popolazioni selvatiche affini, in particolare nella *B. Rapa*, generando nuove piante con singoli o multipli inserti di resistenza. Gli ibridi sono in grado di reincrociarsi sia con le piante transgeniche coltivate, sia con quelle “volontarie”, nate dai semi rimasti sul campo dopo la raccolta (“seed bank”), garantendo in questo modo la persistenza in loco del transgene (Legere [2005]).

Le specie selvatiche che acquisiscono resistenza agli erbicidi interferiscono con le colture riducendo le rese agricole. I sistemi di coltivazione (ad esempio le rotazioni) devono essere modificati e le strategie di controllo delle piante infestanti potrebbero diventare più complesse e costose. Inoltre le piante portatrici di transgeni possono ibridarsi acquisendo resistenze multiple agli erbicidi, come è stato rilevato appena quattro anni dopo la loro introduzione nei campi canadesi, al punto da comprometterne la presenza sul mercato (Hall *et al.* [2000]). Infine, il flusso genico può raggiungere coltivazioni vicine creando problemi economici e sociali, soprattutto quando le ibridazioni coinvolgono colture destinate al mercato dei prodotti biologici o OGM free (Legere [2005]).

L'introggressione verticale di transgeni nella colza potrebbe avere delle conseguenze anche sulla stabilità degli ecosistemi, che però attualmente non è possibile valutare (Legere [2005]). Tuttavia, è ragionevole ritenere che la resistenza a un erbicida conferisca un vantaggio in termini di competitività soltanto quando l'erbicida viene applicato. L'introggressione di questo tipo di transgeni non dovrebbe quindi presentare i problemi ecologici propri invece dei transgeni che conferiscono resistenza ai parassiti, come il *Bacillus thuringiensis*.

Girasole

Uno studio condotto negli Stati Uniti e pubblicato nel 2002 ha rivelato che il girasole coltivato è in grado di ibridarsi con le popolazioni di girasole comune *Helianthus annuus*, con le quali condivide i tempi di fioritura (Burke *et al.* [2002]). Successivamente è stato osservato che il girasole selvatico ibridato con quello transgenico Bt, può produrre una quantità di semi maggiore rispetto al selvatico *wild type*, fornendo una prima evidenza che una popolazione selvatica GM può prosperare e diffondersi nell'ambiente (Snow *et al.* [2003]).

Capellini comuni (creeping bentgrass)

Le varianti transgeniche di capellini comuni (*Agrostis stolonifera*) possono ibridarsi con popolazioni selvatiche anche a grandi distanze. Una ricerca pubblicata nel 2004 ha rilevato la presenza di esemplari di *Agrostis stolonifera* selvatici che possiedono un transgene (CP4 EPSPS, che offre resistenza all'erbicida glifosato) attivo nel proprio genoma. La gran parte del flusso genico era circoscritto entro due chilometri di distanza dal confine delle culture transgeniche, ma esemplari selvatici che hanno incorporato il transgene sono stati rilevati anche a venti chilometri di distanza (Watrud *et al.* [2004]).

Patata

Nonostante che la patata (*Solanum tuberosum*) nella classificazione di Stewart sia considerata a bassissimo rischio, uno studio pubblicato nel 2004 sulla sicurezza ambientale relativa alla coltivazione di una varietà di patata transgenica resistente ai nematodi ha evidenziato un flusso genico verso specie selvatiche affini che crescono in prossimità (Celis *et al.* [2004]). Il problema è accentuato dal fatto che la patata transgenica viene coltivata all'interno di una delle più importanti aree di conservazione della biodiversità (le Ande centrali) dove sono state censite 130 specie selvatiche sessualmente compatibili con la varietà di patata transgenica coltivata. Ciò nonostante i ricercatori che hanno condotto questa ricerca continuano ad aderire alla posizione del Nuffield Council on Bioethics secondo cui il rischio di compromettere la biodiversità per l'introggressione di transgeni non è una giustificazione sufficiente per bandire l'uso di coltivazioni GM nei paesi in via di sviluppo dove appare urgente intervenire allo scopo di rispondere al problema della denutrizione (Nuffield Council on Bioethics [2004]).

4. Le barriere naturali all'introggressione per trasferimento orizzontale di geni

L'introggressione per trasferimento orizzontale (o laterale) dei geni (HGT, *Horizontal Gene Transfer*) consiste nel trasferimento di una porzione di genoma da un organismo a un altro per via non sessuale. Il meccanismo è ben noto grazie agli studi su *Agrobacterium tumefaciens*, utilizzato come vettore d'elezione di DNA esogeno nella ricerca e sviluppo e nella produzione industriale di organismi GM. Più complesso appare il meccanismo con cui a sua volta un batterio può acquisire DNA esogeno, il che avviene in tre modi diversi: (1) il trasferimento di sequenze geniche da un batterio ad un altro mediato da un virus batteriofago (*trasduzione*); (2) lo scambio di plasmidi (*coniugazione*); (3) l'incorporazione di molecole di DNA "nudo" presente nell'ambiente (*trasformazione*).

La via più probabile per un eventuale HGT da una pianta (transgenica o meno) a una cellula batterica è probabilmente la trasformazione. Tuttavia, affinché un transgene riesca a trasformare un batterio è necessario superare una sequenza di barriere naturali (Bertolla and Simonet [1999]; Nielsen *et al.* [1998]). Prima barriera: *il DNA genomico deve uscire dalle cellule della pianta*. Ciò può avvenire nel suolo dopo la morte del vegetale. La conseguente lisi cellulare libera materiale genico “nudo”. Seconda barriera: *Il DNA liberato nel suolo deve conservarsi senza essere degradato*. La maggior parte del DNA rilasciato nel suolo subisce immediatamente una degradazione fisica e soprattutto enzimatica, ad opera delle DNAsi attivate dalla lisi cellulare. Tuttavia una frazione del DNA viene adsorbita sulla superficie di granelli di argilla e sabbia, sottraendosi così all'azione distruttiva degli enzimi. È stato osservato che 1 g di montmorillonite può adsorbire fino a 30 mg di DNA, una quantità equivalente a 10^{13} genomi di *Escherichia coli* (Ogram *et al.* [1987]). E' questo probabilmente il modo in cui intere porzioni del genoma possono conservarsi nel terreno per settimane o mesi dopo la morte della pianta, in una condizione favorevole alla trasformazione dei batteri presenti nel suolo. Terza barriera: *I batteri devono trovarsi in stato “competente”*, cioè in una situazione ambientale che favorisca la loro trasformazione. Sebbene un suolo normale possa presentare condizioni ottimali per la trasformazione batterica, in natura sono relativamente pochi i batteri identificati in stato di competenza (Nielsen *et al.* [1997]). Quarta barriera: *le molecole di DNA devono aderire alla superficie del batterio competente*. Alcuni batteri riconoscono e legano soltanto DNA che contengono precise sequenze (8-10 bp) di riconoscimento. Altri batteri, invece, sono in grado di legare qualsiasi tipo di DNA grazie a siti di legame costituiti da proteine di membrana stabilizzate dalle molecole segnale dello stato di competenza. Quinta barriera: *Il DNA esogeno nella cellula batterica non deve essere riconosciuto come tale dai sistemi di difesa del batterio*. I batteri possiedono sistemi enzimatici di protezione che identificano il DNA esogeno e lo degradano. Tuttavia, nella maggior parte dei casi, l'ingresso di DNA in batteri competenti avviene attraverso una fase a filamento singolo, che normalmente sfugge alla scansione di riconoscimento. Inoltre, non tutti i batteri sono dotati di sistemi di controllo efficienti, soprattutto in presenza di quantità saturanti di DNA. Sesta barriera: *Il DNA esogeno deve stabilizzarsi all'interno del genoma batterico*. La molecola di DNA che è riuscita a entrare e a evitare gli enzimi di restrizione dei batteri, deve in qualche modo integrarsi e stabilizzarsi nel genoma dell'ospite, per poter finalmente esprimere i geni eventualmente presenti nella sua sequenza. Si ritiene che questa sia la barriera più difficile da superare per l'HGT da una pianta a un batterio. Settima barriera: *il gene integrato nel genoma batterico deve essere espresso in modo corretto*. Nel caso specifico, una volta che un gene riesce a stabilizzarsi nel genoma batterico, è necessario che i meccanismi di espressione genica sintetizzino correttamente il peptide o la proteina corrispondente. Ottava barriera: *la nuova proteina espressa dal batterio deve conferire un vantaggio selettivo*. Questo è un argomento piuttosto controverso: è difficile infatti stabilire *ex-ante* se una determinata proteina che entra in una rete metabolica possa o meno

conferire un vantaggio selettivo. Le attuali conoscenze sulle dinamiche degli ecosistemi sono ancora troppo modeste per poter proporre modelli affidabili relativi ai rischi associati alle singole variabili in gioco (Bertolla and Simonet [1999]; Nielsen *et al.* [1998]).

5. Casi accertati di introgressione di transgeni per trasferimento orizzontale

Ad oggi non è ancora disponibile uno studio sistematico comparativo tra i genomi di piante transgeniche e di batteri che consenta di inventariare i casi di introgressione di transgeni per HGT in campo aperto. Alcuni studi, limitati al confronto di piccole sequenze geniche, hanno permesso di individuare 6 casi sicuri di HGT, nessuno dei quali però coinvolge piante geneticamente modificate (Nielsen *et al.* [1998]). Tuttavia gli autori della ricerca sono consapevoli che questi risultati non permettono di chiarire se l'HGT effettivamente non avvenga, oppure se l'HGT avvenga ma le tecniche utilizzate per rivelarlo non sono adeguate. Le attuali conoscenze relative alle relazioni tra diverse specie batteriche, ai processi coinvolti nel trasferimento orizzontale dei geni e all'ecologia del suolo non sono ritenute sufficienti per poter giungere a conclusioni definitive (Bertolla and Simonet [1999]; Nielsen *et al.* [1998]).

Diversi studi volti a rivelare in laboratorio la trasformazione di batteri ad opera di un transgene non hanno portato a risultati conclusivi (Gebhard and Smalla [1999]). Non ci sono dubbi sul fatto che, ponendo a diretto contatto il DNA della pianta transgenica con una coltura di batteri del suolo, sia possibile osservare incorporazioni stabili di transgeni, ma solo se i transgeni contengono sequenze omologhe a quelle del genoma batterico (Gebhard and Smalla [1998]; Kay *et al.* [2002]; Nielsen *et al.* [1998]). In linea di principio quindi, tutte le barriere naturali all'HGT possono essere superate ad eccezione della barriera rappresentata dalla omologia di sequenza tra transgene e genoma batterico. Ma potrebbe essere questa una barriera realmente efficace in natura? E' lecito dubitarne, considerando l'enorme numero di microrganismi capaci di trasferimento genico orizzontale e la frequenza di scambio. Inoltre, poiché l'inserimento del transgene nel genoma della pianta richiede l'impiego di sequenze batteriche, non si può escludere che il genoma stesso degli organismi transgenici possa contenere una sequenza omologa che permetta di superare quest'ultima barriera. Sembra quindi più realistico pensare che la mancanza di prove sia da imputare alla sporadicità e all'estemporaneità degli studi condotti finora, studi che dovrebbero considerare anche questioni affini all'HGT come ad esempio la persistenza di DNA transgenico extracellulare (Pietramellara *et al.* [2006]).

Inoltre la situazione potrebbe essere assai più complessa di quanto si possa immaginare. E' stato ad esempio osservato che l'HGT può coinvolgere non solo geni nucleari, ma anche geni mitocondriali, aprendo così un orizzonte nuovo alla

ricerca: “quanto è diffuso il fenomeno dell’HGT? Come è possibile che un gene mitocondriale di una specie finisca in un’altra specie? Qual è il vettore: virus, batteri, funghi, insetti, polline o meteoriti?” (Bergthorsson *et al.* [2003]). Domande alle quali i ricercatori attualmente non sono in grado di dare risposte.

6. Introggressione: un problema di cornici intellettuali

Nel dibattito relativo alla sicurezza [safety] ambientale delle coltivazioni GM i ricercatori in generale fanno molto affidamento sulle barriere naturali che si frappongono all’introggressione. Tuttavia, da questa rassegna emerge un dato incontrovertibile: le barriere naturali non sono insuperabili. Come ha efficacemente commentato Brian Johnson, ora “we need to move on from asking whether gene flow takes place, to investigating what happens when and where it does” (Adam [2003]). La discussione si sposta quindi sull’effettiva entità del rischio e sulle possibili specifiche conseguenze del fenomeno.

Come accennato in principio, la gestione dei rischi, dell’incertezza, dell’ignoranza relativi a questo problema, impone di riconsiderare globalmente la questione della sicurezza ambientale delle coltivazioni GM in campo aperto come un problema complesso e controverso che richiede l’apporto di differenti approcci disciplinari, ciascuno dei quali è fondato sul proprio *intellectual framework*, si avvale di specifici approcci metodologici ed è caratterizzato dalle proprie specifiche finalità (Sarewitz [2004]).

Il nucleo centrale del dibattito aperto sull’esistenza stessa del fenomeno e sui rischi dell’introggressione consiste in effetti in diverse modalità di *conceive* e di *gestire* una sostanziale mancanza di conoscenza rispetto all’interazione tra le coltivazioni GM e gli ecosistemi nei quali sono inseriti. Tale mancanza di conoscenza è quantomai rilevante nel momento in cui da essa possono derivare diverse scelte nella produzione, nell’utilizzo e nella diffusione di colture GM, con potenziali conseguenze dannose per l’ambiente.

Per orientarsi fra le diverse voci che sono riportate nella *review* è opportuno ricordare qui una classificazione dei principali modi di intendere e gestire una mancanza di conoscenza scientifica da cui dipendono differenti possibili orientamenti decisionali (Smith and Wynne [1989]). Si parla di “rischio” quando sono note le variabili principali del problema e le probabilità che si verifichino conseguenze diverse sono quantificate. L’“incertezza” è invece associata alla situazione in cui sono note le variabili principali del problema, ma non si conoscono le incidenze relative dei diversi fattori e non è dunque possibile assegnare delle probabilità ad eventi diversi. La mancanza di conoscenza tocca invece consiste l’ “ignoranza” quando anche le variabili principali del problema sono sconosciute e a maggior ragione sono sconosciute le possibilità che si verifichino eventi negativi. Infine, l’“indeterminatezza” consiste nella sostanziale dipendenza dal contesto disciplinare entro il quale emergono le diverse conoscenze

scientifiche, contesto disciplinare che, a sua volta, è immerso in una rete di fattori – quali ad esempio la finalità delle discipline stesse e le matrici socio-culturali, oltre che politico-economiche – che determinano gli orientamenti di ricerca.

Le colture di organismi GM dipendono dalla scienza in (almeno) tre modi: per la loro produzione, per la sicurezza della loro diffusione ed utilizzo, per la loro regolamentazione. Queste tre fasi distinte, tutte egualmente cruciali, corrispondono a diverse modalità di ricerca scientifica: l'*innovation science* (Wynne, quoted by Jasanoff [1990]) e la *precautionary science* (Ravetz [2004]) relative alle prime due fasi, la *regulatory science* (Jasanoff [1990]) e la *post-normal science* (Funtowitz and Ravetz [1993]) corrispondenti all'ultima. Queste tipologie di ricerca si sovrappongono e si intrecciano con le tradizionali distinzioni disciplinari, quali l'ecologia, la biologia delle popolazioni, la tossicologia, la biologia molecolare, la genetica.

L'*innovation science* è la ricerca scientifica che ha la finalità di concepire e realizzare i nuovi prodotti tecnologici. In questo contesto, l'enfasi è posta sulla capacità di controllare e programmare specifiche proprietà biomolecolari utili e vantaggiose per chi crea i prodotti e naturalmente per chi li utilizza. L'intento degli scienziati impegnati nell'impresa si riflette in una modalità di ragionamento basata su relazioni di causa-effetto lineare (inserimento di uno specifico gene implica un determinato vantaggio) che intercorrono fra un numero limitato o comunque limitabile di variabili. Lo schema interpretativo che meglio si addice a questo tipo di modalità di ricerca, e che di fatto ne è il fondamento, è quello di matrice riduzionistica e meccanicistica: l'organismo-sistema è controllabile e modificabile in quanto, seppur complesso, è separabile in sottosistemi fondamentali da cui discendono in modo deterministico, ovvero predicibile, le proprietà dell'insieme.

La *precautionary science* si occupa di comprendere e gestire le possibili conseguenze negative inerenti al progresso tecnoscientifico, dalle modalità di utilizzo delle risorse di materia ed energia, alla creazione di nuovi prodotti tecnologici e loro introduzione su ampia scala. In questo contesto, l'attenzione è rivolta alla complessità delle interazioni tra gli organismi coinvolti ed il loro ambiente. L'approccio è di tipo sistemico, ovvero incentrato sulle relazioni come elementi fondanti, e il ragionamento è tipicamente basato su nessi causali altamente non lineari, su meccanismi di retroazione, dipendenza dalle condizioni iniziali ecc. Gli organismi GM sono tipicamente interpretati in questo ambito non tanto come prodotti quanto come *processi*, ovvero nella loro costante e imprescindibile relazione con l'ambiente nel quale sono inseriti ed evolvono.

Infine, la *regulatory science* e la *post-normal science* sono due modalità di ricerca scientifica direttamente coinvolte nei processi decisionali. La prima è essenzialmente gestita con il medesimo approccio dell'*innovation science* (in qualche caso anche dalle medesime persone) con la differenza che il disaccordo (l'indeterminatezza) e il carattere di provvisorietà della conoscenza prodotta è di norma eliminato con meccanismi di legittimazione di autorità dall'alto: si identificano i 'legittimi esperti' tramite l'istituzione di comitati che hanno l'ultima parola e il pubblico esteso non ha voce in capitolo. La seconda, invece, recupera

l'approccio sistemico e il carattere provvisorio e indeterminato della ricerca, nell'esplicitazione della complessità delle interazioni tra scienza e policy. In effetti, nella maggior parte delle situazioni attuali, inclusa la nostra questione, i fatti sono incerti, i valori sono in discussione, la posta in gioco è alta e le decisioni sono urgenti. È questo lo scenario della cosiddetta scienza post-normale. Al meccanismo di chiusura mediante legittimazione dall'alto, si sostituisce in questo modello la decisione normativa come *processo creativo* che vede il coinvolgimento della cittadinanza e nel quale la conoscenza scientifica è una voce tra molte.

Alla luce di questi nuovi elementi, appare evidente che gli scienziati impegnati nella produzione degli organismi GM, dunque dediti alla *innovation science*, tenderanno ad applicare le stesse modalità di ragionamento di causa-effetto lineare e i medesimi metodi di riduzione del problema in sotto-problemi caratterizzati da un basso numero di relazioni rilevanti. Questo si riflette in una sostanziale identificazione della valutazione delle possibili conseguenze con un *risk assesment*. La valutazione quantitativa dei rischi presume per l'appunto la capacità di scindere il problema in diversi fattori, di conoscere tutte le variabili rilevanti, e di quantificare le probabilità che il sistema complessivo "coltura OGM-ecosistema nel quale è inserito" evolva in modi distinti. È il caso ad esempio della classificazione in colture GM rispetto ai rischi di introgressione verticale proposta da Stewart (Stewart *et al.* [2003]). Il fenomeno dell'introgressione è in effetti in quest'ottica suddiviso in distinti *step*, le barriere, che possono essere isolate tra loro e analizzate separatamente. Ciascuna barriera dipende da un numero limitato di variabili ed interazioni e si può associare ad ognuna, una determinata probabilità di essere valicata. Dato questo scenario, l'approccio del controllo e della manipolazione *ad hoc* tipico della *innovation science* prevede la messa in opera di specifiche contromisure, che abbassino le singole probabilità. Il meccanismo 'barriera-contromisura' riflette la modalità di ragionamento per causa-effetto lineare e del meccanismo del *trial-and-error* utilizzati nel caso dell'ideazione e realizzazione dei benefici. La mancanza di conoscenza ed informazione è qui concepita e gestita in forma il più possibile quantitativa, ovvero come "rischio" o se non altro come "incertezza" (nell'accezione di Smith e Wynne, 1989): è di carattere provvisorio e essenzialmente controllabile, è arginabile rispetto alle sue possibili conseguenze.

Invece, nell'approccio precauzionale, che noi auspichiamo affiancare al precedente, le modalità di ragionamento sono essenzialmente sistemiche e mettono dunque in discussione il meccanismo stesso di suddivisione del problema e il troncamento di molte delle interazioni in atto, con il risultato di mettere in dubbio, per ciascuna contromisura, la fattibilità, l'efficacia, l'assenza di effetti collaterali e di meccanismi di *feedback*. La mancanza di conoscenza è associata nel contesto precauzionale proprio alle complesse relazioni non lineari tra organismi e ambiente e viene dunque per lo più concepita e gestita come "ignoranza", condizione nella quale non sono note le variabili principali del problema e dunque a maggior ragione non sono note le conseguenze possibili. L'assegnazione stessa di una data probabilità per una data barriera è discussa in quanto basata su un ragionamento

che non tiene conto di numerose interazioni e meccanismi di cui poco ancora si conosce. Inoltre, altra obiezione di natura sistemica, ad una bassa probabilità di valicare il sistema delle barriere non corrisponde necessariamente un basso rischio di conseguenze negative. In effetti, se correlata all'entità della casistica possibile, una seppur bassa probabilità di accadimento corrisponde ad una effettiva inevitabilità su scale temporali proporzionalmente brevi.

7. Metodologie di rilevazione dell'evento fuori norma

Analogamente, i due approcci si distinguono nelle metodologie di rilevazione dei fenomeni in esame. In effetti, anch'esse a loro volta dipendono direttamente dalle modalità di ragionamento e di procedure sperimentali. Tipico approccio della *innovation science* è quello di considerare essenzialmente come marginali le differenze nel comportamento degli OGM nel passaggio dal laboratorio al campo aperto e di considerare dunque le metodologie di rilevazione e i risultati sperimentali come estendibili in modo automatico dalla situazione controllata a quella in esterno. È interessante a questo proposito la vicenda della farfalla monarca (Losey *et al.* [1999]), nella quale i ricercatori impegnati nella produzione di OGM hanno rovesciato *ad hoc* questa argomentazione suscitando non poche perplessità (Jesse and Obrycki [2000]; Stanley-Horn *et al.* [2001]; Wolt *et al.* [2003]; Jasanoff [2005]).

La questione dell'introggressione è particolarmente interessante a questo proposito perché ad essere in discussione sono i metodi di individuazione dei casi avvenuti: le conseguenze di questo tipo di controversia sono molto significative quando la posta in gioco sale come nel caso emerso nel 2001 relativo alla possibile introggressione verticale di un transgene in una varietà di mais nativo della regione di Oaxaca, in Messico, dove era in atto una moratoria sulle colture di piante GM sin dal 1998 (Quist and Chapela [2001]). Le principali obiezioni scientifiche di esponenti della *innovation science*, all'articolo pubblicato su *Nature* da David Quist e Ignacio H. Chapela della Berkeley University, erano incentrate sulla procedura sperimentale utilizzata, giudicata nel suo complesso inadeguata rispetto agli *standard* dell'ingegneria genetica e di conseguenza le loro conclusioni sono state giudicate irrilevanti. Esponenti dell'approccio sistemico, pur riconoscendo alcune ingenuità nelle tecniche utilizzate, ritennero invece comunque interessanti le conclusioni di Quist e Chapela, perché foriere di nuove e utili riflessioni e informazioni sul comportamento degli ecosistemi nel loro insieme. A seguito della controversia, *Nature* ritirò il suo appoggio all'articolo e Chapela fu privato dalla cattedra a Berkeley. Analoghe accuse furono attribuite agli oppositori della ricerca, in quanto esponenti a vario titolo alla lobby dell'industria delle nuove biotecnologie (Monbiot [2002]). Quello che qui ci preme è valutare la contesa scientifica non tanto nei termini di una dicotomia ideologica, ma in quelli della

diversità di approcci disciplinari e metodologici, tra loro incommensurabili (Sarewitz [2004]).

La discussione sull'individuazione dei casi osservati e sulle relative tecniche di rilevazione è significativa perché da essa dipende l'identificazione di eventi fuori norma, ovvero di fenomeni in linea teorica impossibili o infinitamente improbabili. Nell'approccio dell'innovazione, la mancanza di conoscenza su fenomeni che possono portare al verificarsi di eventi inattesi, dunque fuori norma, non è di per sé significativa sino a che gli eventi in questione non si verificano. Noti tali eventi, scopo della ricerca sarà quello di far fronte alla situazione attraverso il meccanismo della contromisura *a posteriori*. Ciò implica, nelle decisioni, un approccio nel quale si minimizzano le probabilità di rifiutare sviluppi non dannosi alla prova dei fatti. Nell'approccio precauzionale invece la mancanza di conoscenza è rilevante a prescindere dal fatto che si verifichino o meno tali eventi. Il che significa, nel decidere, minimizzare la probabilità di accettare sviluppi che si rivelano poi dannosi. In quest'ottica in effetti, l'identificazione di eventi fuori norma è di fondamentale importanza perché contribuisce a delineare i confini dell'ignoranza sul fenomeno in questione.

8. Per uscire dalla controversia: l'esplicitazione e il vaglio dei valori sottesi

Veniamo infine alle diverse modalità con le quali si può non tanto analizzare quanto *uscire* dalla controversia scientifica per operare delle scelte nell'effettiva regolamentazione degli OGM. Abbiamo accennato all'approccio della *regulatory science* che consiste sostanzialmente, di fronte all'urgenza delle decisioni, nell'accreditare un gruppo ristretto di specialisti dotati del potere di chiudere la questione, in base a considerazioni scientifiche *pesate* su considerazioni etico-sociali nonché politico-economiche. Il fenomeno dell'introggressione è di nuovo emblematico a questo proposito: anche nel caso in cui si possa verificare, ovvero nell'eventualità in cui le probabilità di superamento delle barriere siano mediamente elevate, come in alcuni casi di trasferimento verticale, il rischio effettivo per la biodiversità associato all'introggressione è a sua volta poco noto nella sua specificità. Tale mancanza di conoscenza può essere a sua volta interpretata e gestita in modo diverso a seconda degli approcci utilizzati e lascia spazio nella sfera decisionale all'introduzione di elementi di natura valoriale, che trasformano la questione da biotecnologica a biopolitica (Nuti [2007]).

È il caso dei comitati di bioetica quali il Nuffield Council on Bioethics che, come abbiamo più sopra accennato, nel 2004 ha suggerito che l'introggressione di materiale genetico in specie selvatiche di piante di patata in centri di biodiversità situati in paesi del Sud del mondo non è una giustificazione sufficiente per bandire le patate transgeniche in tali paesi, pesando un rischio di fatto ignoto su una situazione di urgenza data dal problema della denutrizione che affligge i medesimi

paesi. Questa linea di argomentazione si rifà alla dicotomia tra un'etica per il Nord del mondo, nella quale ci si può permettere di vagliare le nuove tecnologie alla luce di considerazioni epistemiche, e un'etica per il Sud del mondo, incentrata sul pragmatismo dell'urgenza di agire. A sua volta, questa dicotomia risponde ad *un'etica dell'innovazione*, nella quale le argomentazioni su rischi ed incertezze sono marginali se pesate rispetto a considerazioni di ordine pratico. Più precisamente, in quest'ottica si invoca un principio valoriale univoco e pressante - la morte prematura per denutrizione è inammissibile - sulla base del quale non solo è lecito ma è responsabile troncato il dibattito su rischio, incertezza e ignoranza. Una posizione etica di tipo *precauzionale* si esplica invece ancora una volta in un approccio sistemico, nel quale la relazione tra etica e scienza è a sua volta complessa e inestricabile: all'incertezza cognitiva corrisponde ed è strettamente connessa l'incommensurabilità tra una pluralità di posizioni valoriali distinte, emerse in contesti culturali e sociali e dettate da bisogni ed interessi diversi. Questa differenza di approcci al delicato rapporto tra ricerca scientifica ed etica, emerge chiaramente in un recente articolo di Silvia Francescon sulle biotecnologie ad uso alimentare (Francescon [2006]). In esso si analizza l'approccio etico, politico, economico e sociale della scienza dell'innovazione biotecnologica al problema della fame del mondo, di tipo riduzionistico e lineare, e lo si mette in discussione in confronto ad un approccio precauzionale, di tipo sistemico, fondato sulla possibilità di associare diverse tecnologie che emergono dalle culture locali, che sono gestibili in modo decentralizzato e si integrano naturalmente nell'ambiente naturale, culturale e sociale nel quale sono inserite.

In conclusione, la ricerca di uno scenario ben definito di risposte univoche sulla questione del rischio ambientale, rappresentato dall'introggressione di transgeni provenienti da organismi GM in campo aperto, lascia spazio alla consapevolezza del carattere intrinsecamente provvisorio della conoscenza scientifica e la sua sostanziale dipendenza dagli schemi interpretativi, dalle metodologie e dai contesti disciplinari. Tale consapevolezza comprende l'idea che ogni modalità di ricerca scientifica, votata alle proprie finalità, con i suoi relativi interessi e valori, è in grado di produrre un insieme di conoscenze coerenti e rilevanti alla comprensione e alla gestione dei problemi in considerazione. Tale consapevolezza è definita come principio dell'*eccesso di oggettività* (Sarewitz [2004]). Questa radicale indeterminatezza della conoscenza scientifica può essere vissuta come un fastidioso impaccio da eliminare mediante processi di accreditamento dell'autorità scientifica, come nel caso della *regulatory science*, ma può anche essere accolta come preziosa risorsa per alimentare un processo decisionale aperto e creativo nel quale gli aspetti fattuali e quelli valoriali sono esplicitamente articolati e vagliati per mezzo di strumenti di partecipazione democratica, come nel caso della *scienza post-normale*. Si tratta in sostanza di entrare in un'ottica complessa nella quale è necessario riflettere sulla necessità di far dialogare tra loro approcci diversi e tra loro incommensurabili, e sul carattere inconclusivo della conoscenza scientifica *tout court*.

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano il prof. Camillo Vellano e il prof. Guido Badino per la loro revisione critica di questo manoscritto. Questo studio è stata realizzato grazie al finanziamento erogato dalla Regione Piemonte (Assessorato Ambiente) al Centro interuniversitario IRIS, nell'ambito del Programma Integrato di Educazione alla Sostenibilità (PIES 2006); e dal fondo di ricerca personale (G.B.) a titolo di incentivo dell'Università della Valle d'Aosta.

Bibliografia

- Adam, D. [2003], Transgenic crop trial's gene flow turns weeds into wimps. *Nature*. **221**: 462.
- Bergthorsson, U., K. L. Adams, B. Thomason and J. D. Palmer [2003], Widespread horizontal transfer of mitochondrial genes in flowering plants. *Nature*. **424**: 197-201.
- Bertolla, F. and P. Simonet [1999], Horizontal gene transfers in the environment: natural transformation as a putative process for gene transfers between transgenic plants and microorganisms. *Res. Microbiol.* **150**: 375-384.
- Burke, J. M., K. A. Gardner and L. H. Reisenberg [2002], The potential for gene flow between cultivated and wild sunflower (*Helianthus annuus*) in the United States of America *J. Bot.* **89**: 1550–1552.
- Celis, C., M. Scurrah, S. Cowgill, S. Chumbiauca, J. Green, J. Franco, et al. [2004], Environmental biosafety and transgenic potato in a centre of diversity for this crop. *Nature*. **432**: 222–225.
- Francescon, S. [2006], The impact of GMOs on Poor Countries: A threat to the Achievement of the Millennium Development Goals? *Riv. Biol./Biol. Forum* **99**: 381-394.
- Funtowitz, S. O. and J. R. Ravetz [1993], Science for the post-normal age. *Futures*. **25**(7): 739-755.
- Gebhard, F. and K. Smalla [1998], Transformation of *Acinetobacter* sp. strain BD413 by transgenic sugar beet DNA. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**: 1550-1554.
- Gebhard, F. and K. Smalla [1999], Monitoring field releases of genetically modified sugar beets for persistence of transgenic plant DNA and horizontal gene transfer. *FEMS Microbiology Ecology*. **28**: 261-272.
- Halfhill, M. D., B. Zhu, S. I. Warwick, P. L. Raymers, R. J. Millwood, A. K. Weissinger, et al. [2004], Hybridization and backcrossing between transgenic oilseed rape and two related weed species under field conditions. *Environ. Biosafety Res.* **3**: 73–78.

- Hall, L., K. Topinka, J. Huffman, L. Davis and A. Good [2000], Pollen flow between herbicide-resistant Brassica napus is the cause of multiple-resistant B napus volunteers. *Weed Sci.* **48**: 688–694.
- Hansen, L. B., H. R. Siegismund and R. B. Jørgensen [2001], Introgression between oilseed rape (Brassica napus L.) and its weedy relative B. rapa L. in a natural population. *Gen. Res. Crop Evol.* **48**: 621–627.
- Jasanoff, S. [2005], *The Designs on nature: science and democracy in Europe and the United States*: Princeton University Press, Princeton, NJ
- Jesse, L. C. H. and J. J. Obrycki [2000], Field deposition of Bt transgenic corn pollen: lethal effects on the monarch butterfly. *Oecologia.* **125**: 241–248.
- Kay, E., T. M. Vogel, F. Bertolla, R. Nalin and P. Simonet [2002], In Situ Transfer of Antibiotic Resistance Genes from Transgenic (Transplastomic) Tobacco Plants to Bacteria *Appl. Envir. Microbiol.* **68**(7): 3345–3351.
- Legere, A. [2005], Risks and consequences of gene flow from herbicide-resistant crops: canola (Brassica napus L.) as a case study. *Pest Manag. Sci.* **61**(3): 292–300.
- Losey, J. E., L. S. Rayor and M. E. Carter [1999], Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature.* **399**: 214.
- Monbiot, G. [2002] “The Fake Persuaders: corporations are inventing people to rubbish their opponent on the internet” *The Guardian*, May 14 2002.
- Nielsen, K. M., A. M. Bones and J. D. van Elsas [1997], Induced natural transformation of Acinetobacter calcoaceticus in soil microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.* **63**: 3972-3977.
- Nielsen, K. M., A. M. Bones, K. Smalla and J. D. van Elsas [1998], Horizontal gene transfer from transgenic plants to terrestrial bacteria - a rare event? *FEMS Microbiology Reviews.* **22**: 79-103.
- Nuffield Council on Bioethics (2004). The use of genetically modified crops in developing countries. Downloaded from web site: http://www.nuffieldbioethics.org/fileLibrary/pdf/GM_Crops_Discussion_Paper_2004.pdf
- Nuti, M., C. Felici and M. Agnolucci [2007] The use of GMOs (genetically Modified Organisms): Agricultural biotechnology or agricultural biopolitics? *Riv. Biol./Biol. Forum* **100**: 189-202.
- Ogram, A., G. S. Sayler and T. Barkay [1987], The extraction and purification of microbial DNA from sediments. *J. Microbiol. Methods.* **7**: 57-66.
- Pietramellara, G., M. T. Ceccherini, J. Ascher and P. Nannipieri [2006], Persistence of Transgenic and not Transgenic Extracellular DNA in Soil and Bacterial Transformation. *Riv. Biol. / Biol. Forum* **99**: 37-68.
- Quist, D. and I. H. Chapela [2001], Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico. *Nature.* **414**: 541-543.
- Ravetz, J. R. [2004], The post-normal science of precaution. *Futures.* **36**(3): 347-357.
- Sarewitz, D. [2004], How science makes environmental controversies worse. *Environmental Science & Policy.* **7**: 385–403.

- Smith, R. and B. Wynne. (1989). *Expert Evidence: Interpreting Science in the Law*: Routledge, London.
- Snow, A. A., D. Pilson, L. H. Rieseberg, M. J. Paulsen, N. Pleskac, M. R. Reagon, et al. [2003], A Bt transgene reduces herbivory and enhances fecundity in wild sunflowers. *Ecol. Appl.* **13**: 279–286.
- Stanley-Horn, D. E., G. P. Dively, R. L. Hellmich, H. R. Mattila, R. K. Sears, R. Rose, et al. [2001], Assessing the impact of Cry1Ab-expressing corn pollen on monarch butterfly larvae in field studies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **98**(21): 11931–11936.
- Stewart, C. N., J. N. All, P. L. Raymer and S. Ramachandran [1997], Increased fitness of transgenic insecticidal rapeseed under insect selection pressure. *Mol. Ecol.* **6**: 773–779.
- Stewart, C. N., M. D. Halfhill and S. I. Warwick [2003], Transgene introgression from genetically modified crops to their wild relatives. *Nature Reviews Genetics.* **4**: 806–817.
- Vacher, C., A. E. Weis, D. Hermann, T. Kossler, C. Young and M. E. Hochberg [2004], Impact of ecological factors on the initial invasion of Bt transgenes into wild populations of birdseed rape (*Brassica rapa*). *Theor. Appl. Genet.* **109**: 806–814.
- Warwick, S. I. [2003], Hybridization between *Brassica napus* L. and its wild relatives: *B. rapa* L., *Raphanus raphanistrum* L., *Sinapis arvensis* L. and *Erucastrum gallicum* (Willd.) O. E. Schulz. *Theor. Appl. Genet.* **107**: 528–539.
- Watrud, L. S., E. H. Lee, A. Fairbrother, C. Burdick, J. R. Reichman, M. Bollman, et al. [2004], Evidence for landscape-level, pollen-mediated gene flow from genetically modified creeping bentgrass with CP4 EPSPS as a marker. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**: 14533–14538.
- Wolt, J. D., R. K. D. Peterson, P. Bystrak and T. Meade [2003], A screening level approach for nontarget insect risk assessment: Transgenic Bt corn pollen and the monarch butterfly (Lepidoptera: Danaidae). *Environ. Entomol.* **32**: 237–246.
- www.isaaa.org. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2006.
- Zhu, B., J. R. Lawrence, S. I. Warwick, P. Mason, L. Braun, M. D. Halfhill, et al. [2004], Inheritance of GFP-Bt transgenes from *Brassica napus* in backcrosses with three wild *B. rapa* accessions. *Environ. Biosafety Res.* **3**: 45–54.

