

**Subgroup on New Genomic Techniques  
(NGTs)**

**2nd meeting**

**14 May 2025**

**Item 5**

*DNA-free genome editing confers disease  
resistance in grapevine*

University of Verona (Italy)

# DNA-free genome editing confers disease resistance in grapevine



Sara Zenoni



UNIVERSITÀ  
di **VERONA**

Dipartimento  
di **BIOTECNOLOGIE**



Subgroup on New Genomic Techniques (NGTs)  
2<sup>nd</sup> meeting

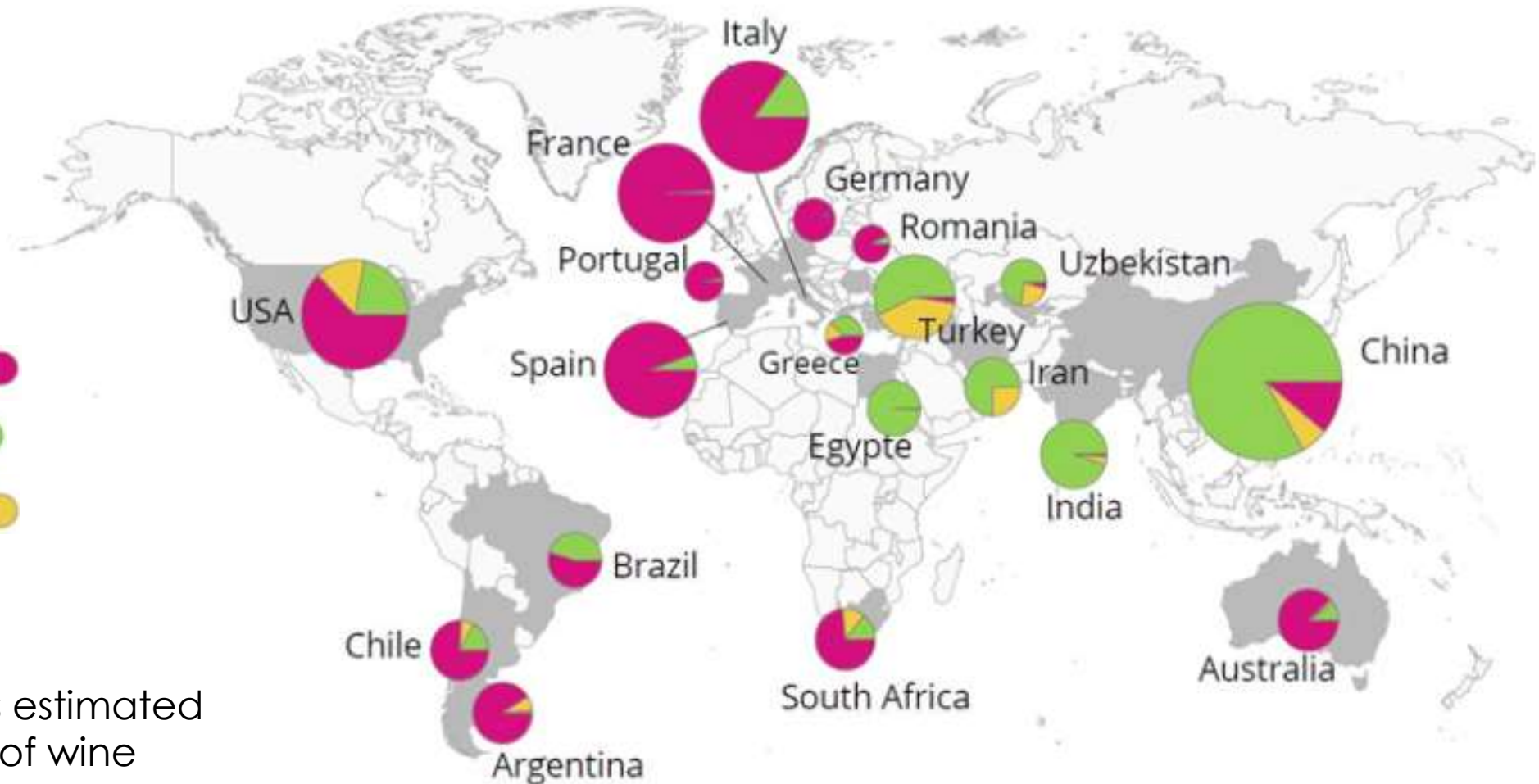
# Grapevine cultivation

The world vineyard surface area is estimated to be **7.2** million hectares

Global grape production **80.1** million tonnes (mt)

- ~ **50%** of wine grapes ●
- ~ **35%** of table grape ●
- ~ **15%** of dried grape ●

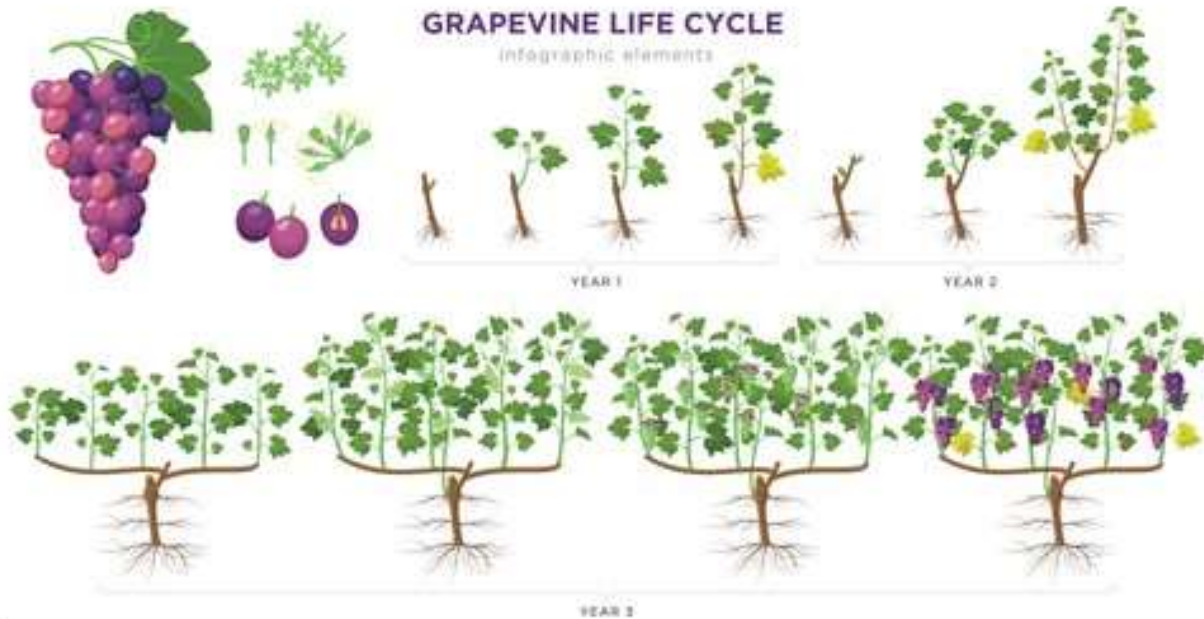
World wine production is estimated at **237** million hectolitres of wine



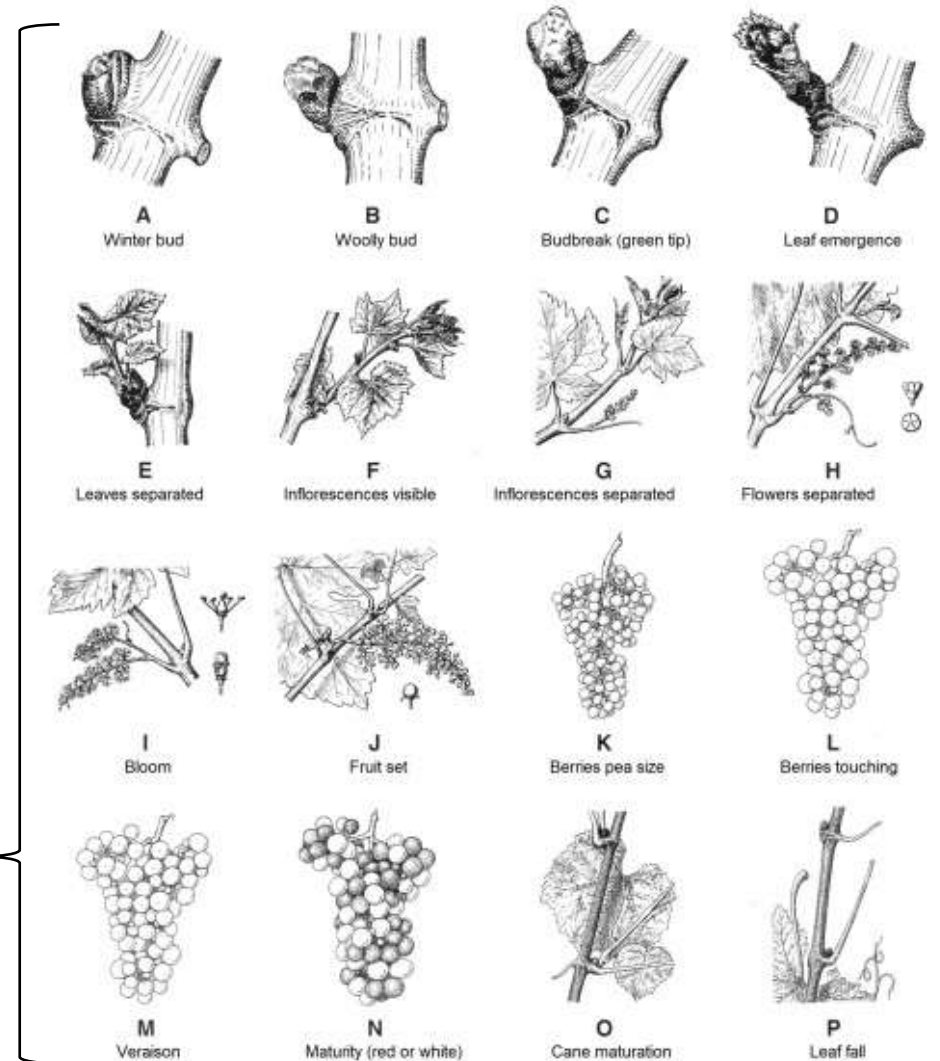


# Grapevine growth cycle

The **juvenile phase** of grapevine life, from seed germination until the reproductive maturity typically **lasts 2-5 years**



The **annual growth** of grapevine includes several **phenological phases**

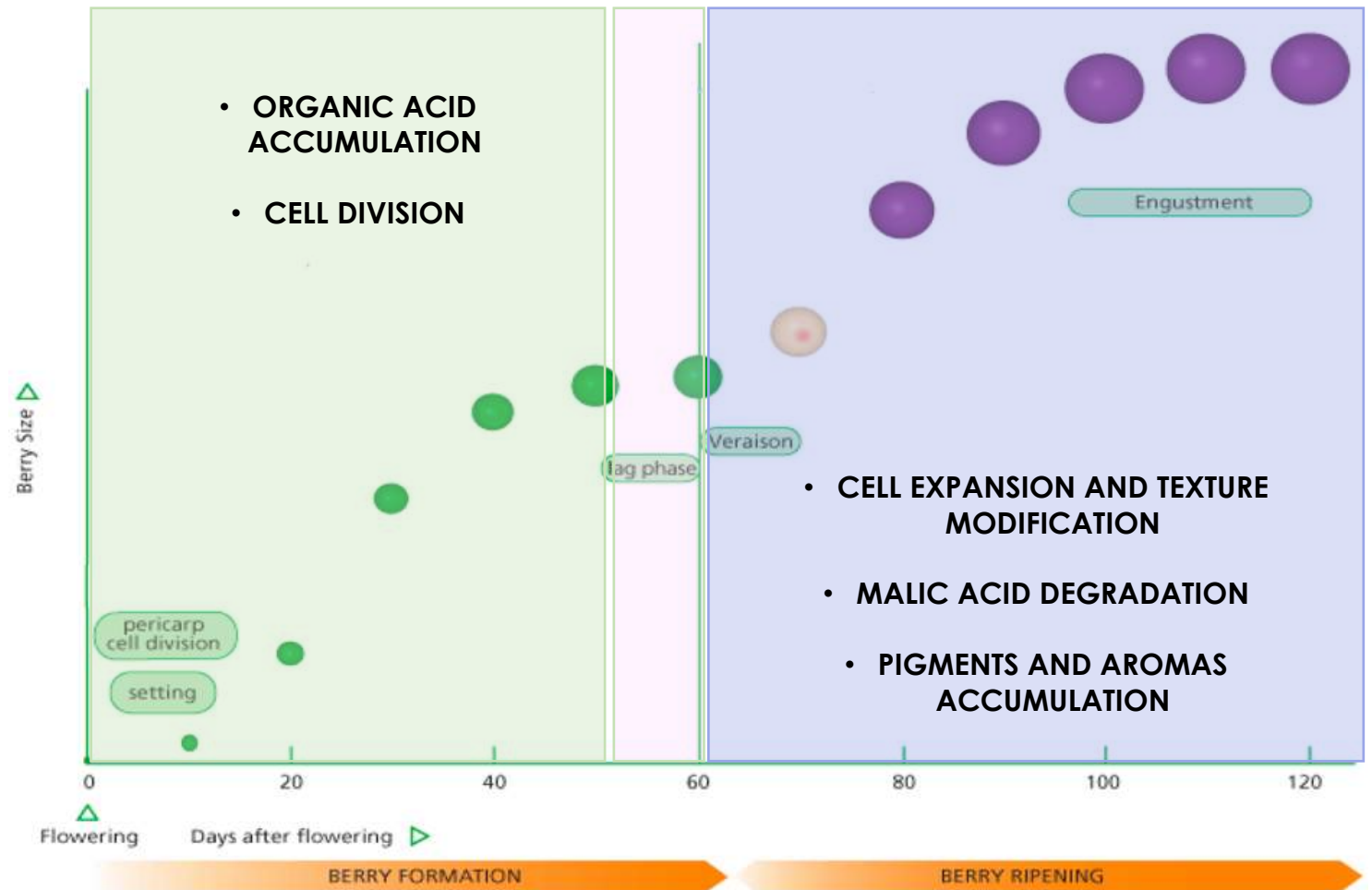


# Grapevine berry development

➤ non climacteric fruit

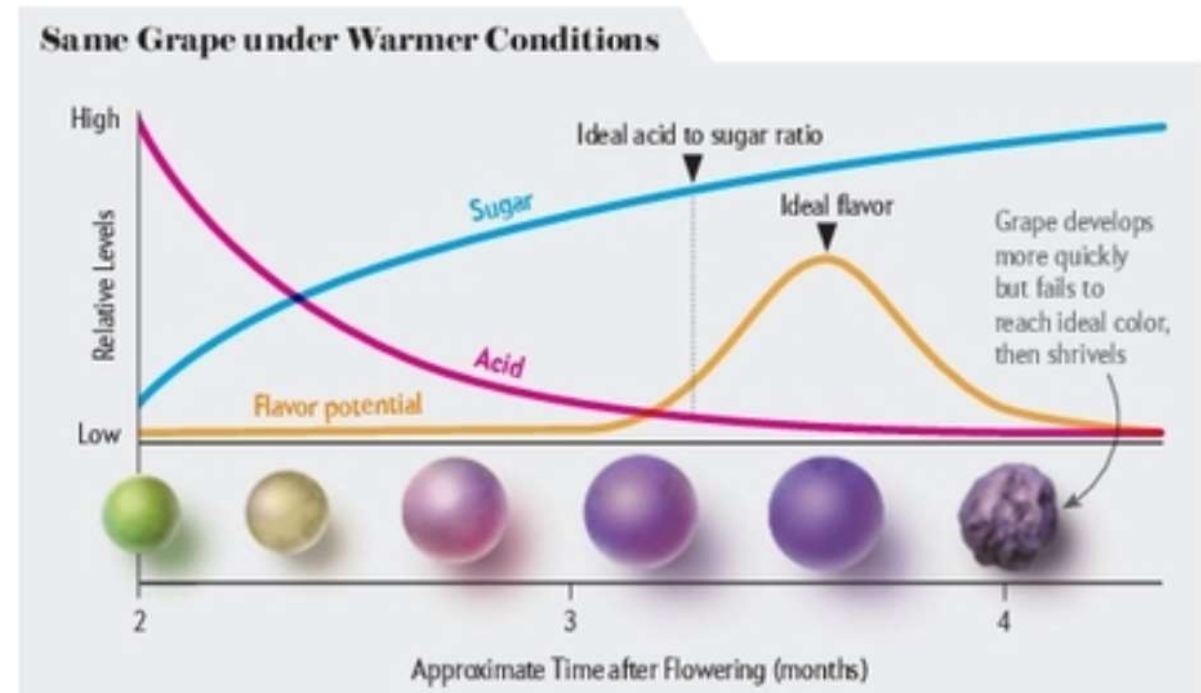
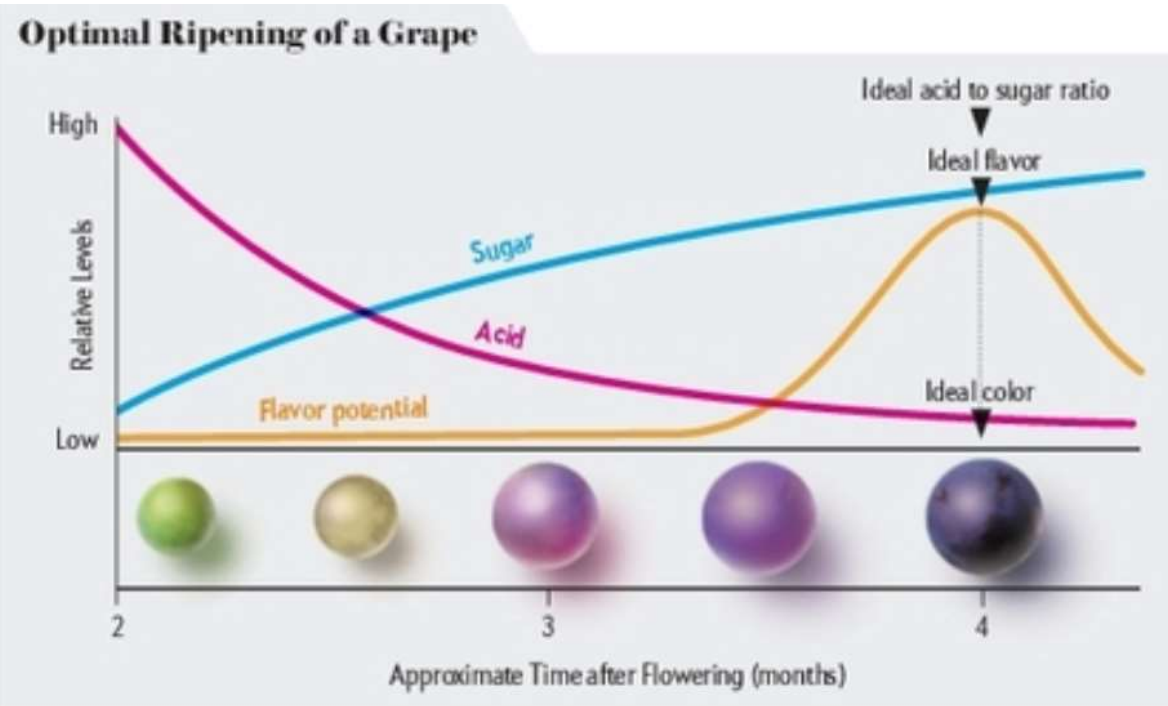


➤ very long ripening, almost 3 months and strongly affected by environment



# Berry ripening is highly affected by climate change

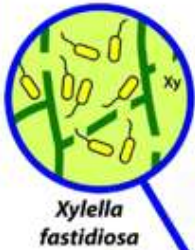
Climate variability is impacting grape ripening by accelerating the process and leading to earlier harvests. Warmer conditions are decoupling the ideal acid to sugar ratio and the flavour right accumulation



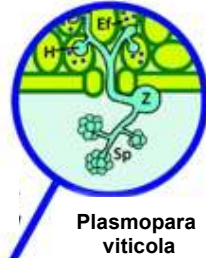


# The vineyard system faces strong pest and disease pressures

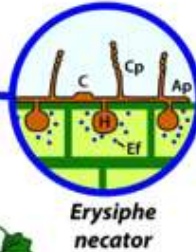
Pierce's disease



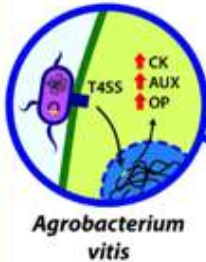
Downy mildew



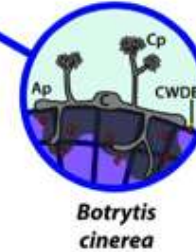
Powdery mildew



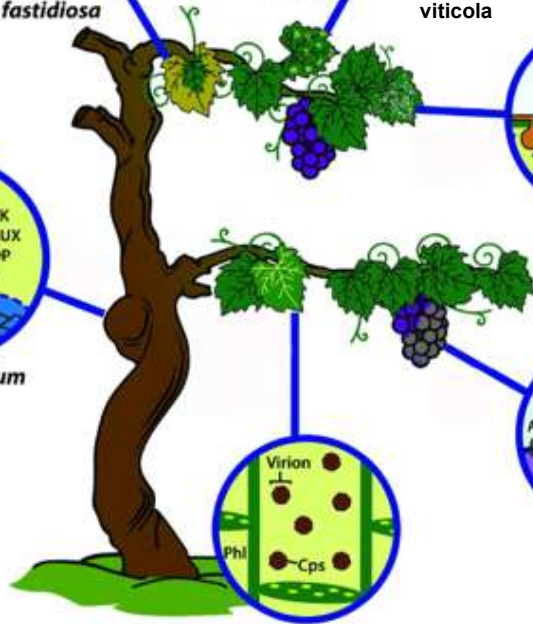
Collar tumor



Gray mold



Armijo et al., 2016



Grapes receive about **40% of the fungicides used in the EU**, despite covering only ~3% of the agricultural area

**Reducing pesticide** use is a key issue to improve **viticulture sustainability**

# What can we do to adapt grapes?

- improvement of viticulture practices (pruning times, training system, water usage...)
- geographical diversification, new winegrowing regions could emerge in previously unsuitable areas
- **development of new cultivars** with a high degree of resistance against pathogens and a higher resilience to abiotic stresses and later budbreak and ripening periods

## **classical breeding**

- time consuming
- loss of the varietal genetic background due to the high level of heterozygosity

## **new genomics techniques**

- recalcitrance in *in vitro* propagation
- lack of information on gene function



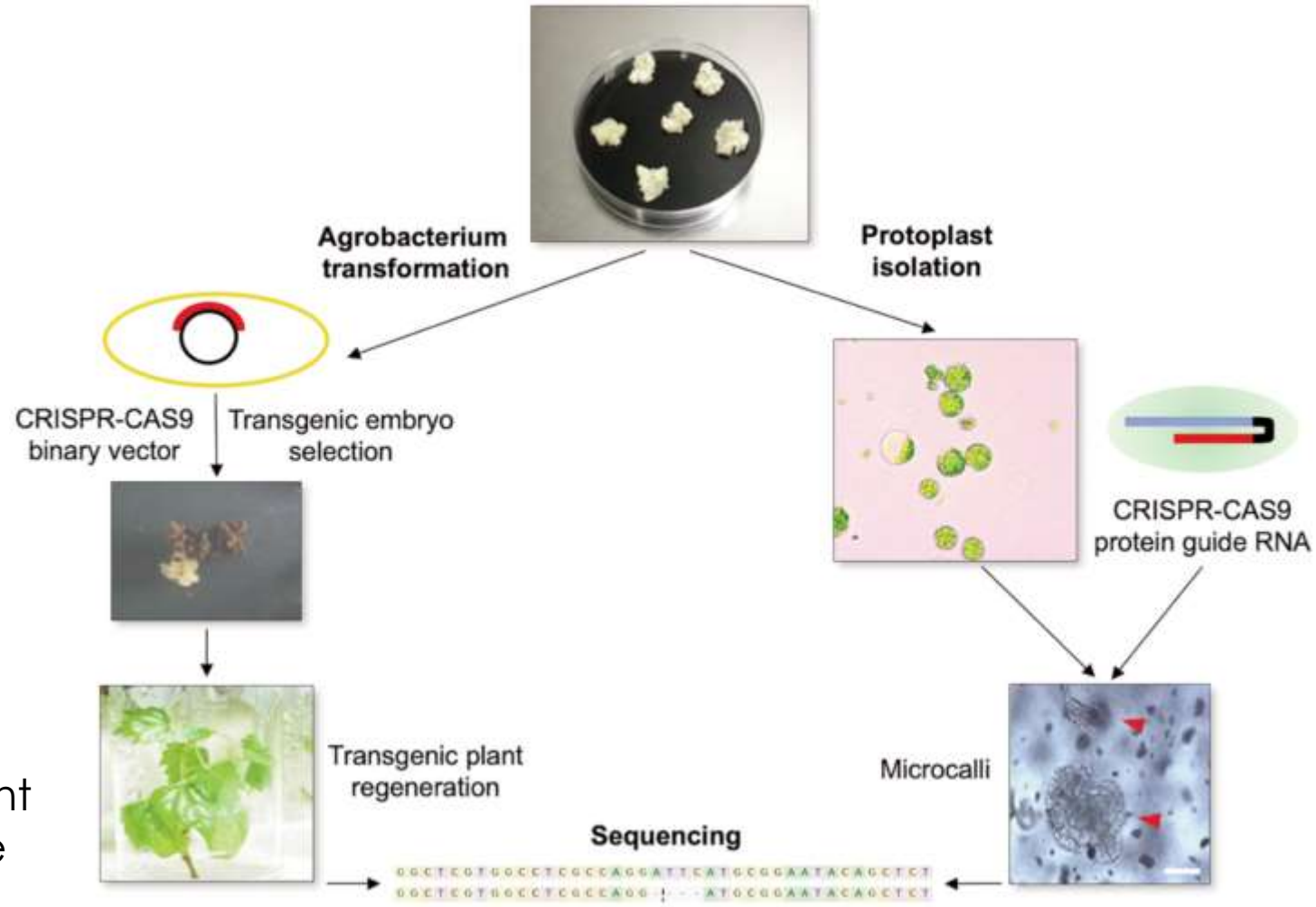
# Genome editing in grapevine: two principal approaches

## Advantages:

- stable transformation in grapevine has been setup and the use of marker genes helps the selection of transformants

## Limits:

- random insertion of the transgene
- creation of a GMO plant
- self-cross to remove the transgene changes the genetic background



## Advantages:

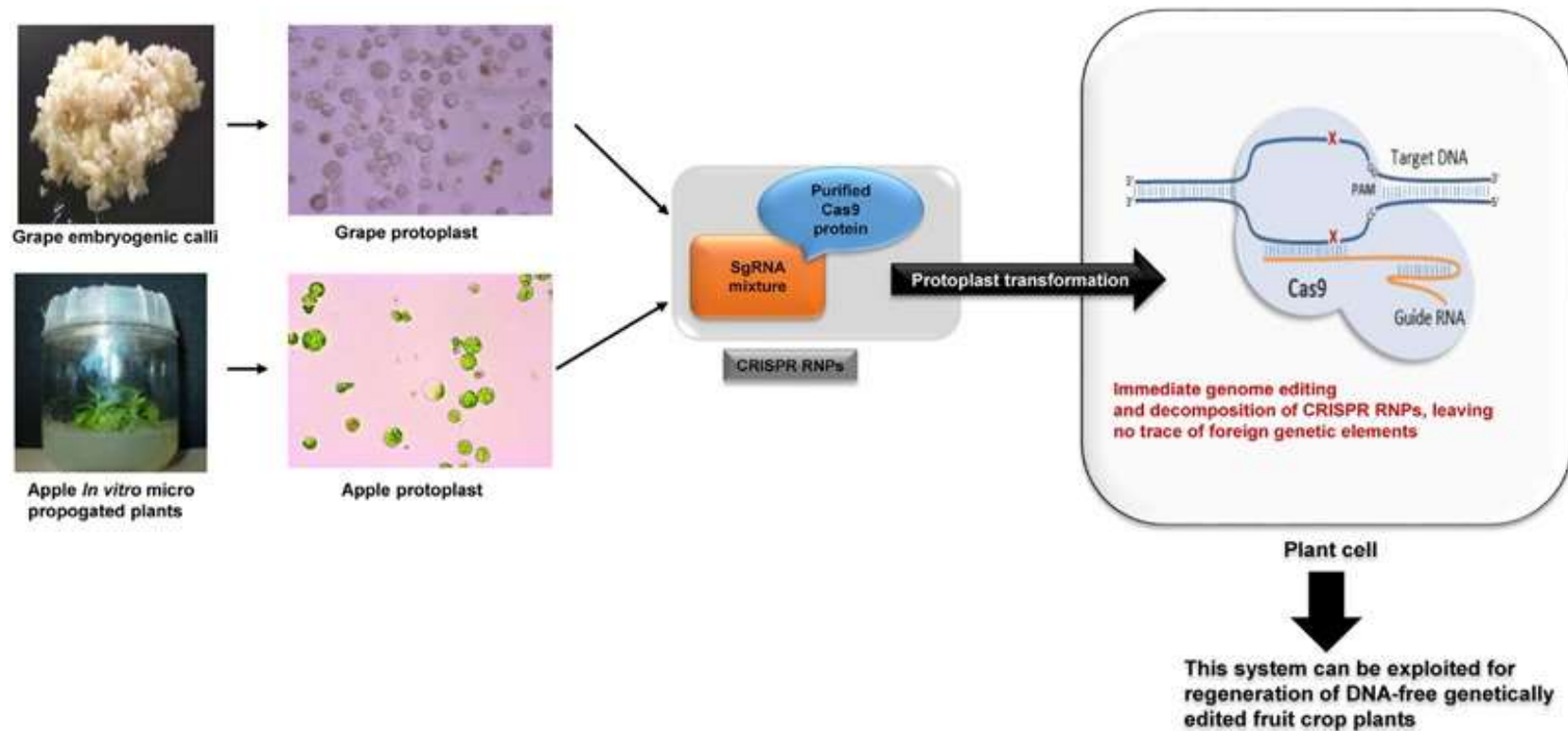
- no transgenes
- absence of chimeras

## Limits:

- recalcitrance of protoplast regeneration
- no marker gene

# Editing induction in grapevine protoplasts

In **2016** it was demonstrated that the RNP complexes were able to enter in the protoplasts and induced the mutation. However, it was not possible to regenerate whole plants from these genome-edited protoplasts



## ORIGINAL RESEARCH article

Front. Plant Sci., 20 December 2016  
Sec. Technical Advances in Plant Science  
Volume 7 - 2016 |  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01904>

This article is part of the Research Topic  
Genome editing for crop improvements  
[View all 19 Articles >](#)

## DNA-Free Genetically Edited Grapevine and Apple Protoplast Using CRISPR/Cas9 Ribonucleoproteins

nature  
protocols

PROTOCOL

<https://doi.org/10.1038/nprot.2016.067>

## CRISPR-Cas9-mediated genome editing in apple and grapevine

Yuriko Osakabe<sup>1,11\*</sup>, Zhenchang Liang<sup>2,11</sup>, Chong Ren<sup>2</sup>, Chikako Nishitani<sup>3</sup>, Keishi Osakabe<sup>1</sup>, Masato Wada<sup>4</sup>, Sadao Komori<sup>5</sup>, Mickael Malnoy<sup>6</sup>, Riccardo Velasco<sup>6,10</sup>, Michele Poli<sup>7</sup>, Min-Hee Jung<sup>8</sup>, Ok-Jae Koo<sup>7,8</sup>, Roberto Viola<sup>9</sup>, Chidananda Nagamangala Kanchiswamy<sup>6,7,11\*</sup>

# Grapevine protoplast regeneration

2019

Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)  
<https://doi.org/10.1007/s11240-019-01619-1>

## ORIGINAL ARTICLE



## Regeneration of plants from embryogenic callus-derived protoplasts of Garganega and Sangiovese grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars

Edoardo Bertini<sup>1</sup> · Giovanni Battista Tornielli<sup>1</sup>  · Mario Pezzotti<sup>1</sup>  · Sara Zenoni<sup>1</sup> 

Received: 17 January 2019 / Accepted: 2 May 2019  
© Springer Nature B.V. 2019

1995

Plant Cell Reports (1995) 15:238–241

### Plant regeneration of grapevine (*Vitis* sp.) protoplasts isolated from embryogenic tissue

Götz Reustle<sup>1</sup>, Margit Harst<sup>2</sup>, and Gerhardt Alleweldt<sup>2</sup>

1997

Plant Science 123 (1997) 151–157

### Highly efficient system of plant regeneration from protoplasts of grapevine (*Vitis vinifera* L.) through somatic embryogenesis by using embryogenic callus culture and activated charcoal

Yan-Ming Zhu<sup>a</sup>, Yoichiro Hoshino<sup>a</sup>, Masaru Nakano<sup>b</sup>, Eikichi Takahashi<sup>c</sup>,  
Masahiro Mori<sup>a,\*</sup>



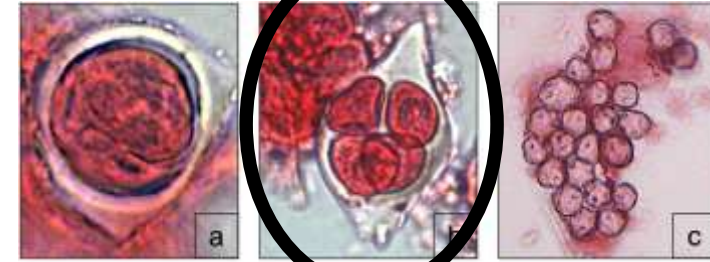
Garganega



Sangiovese

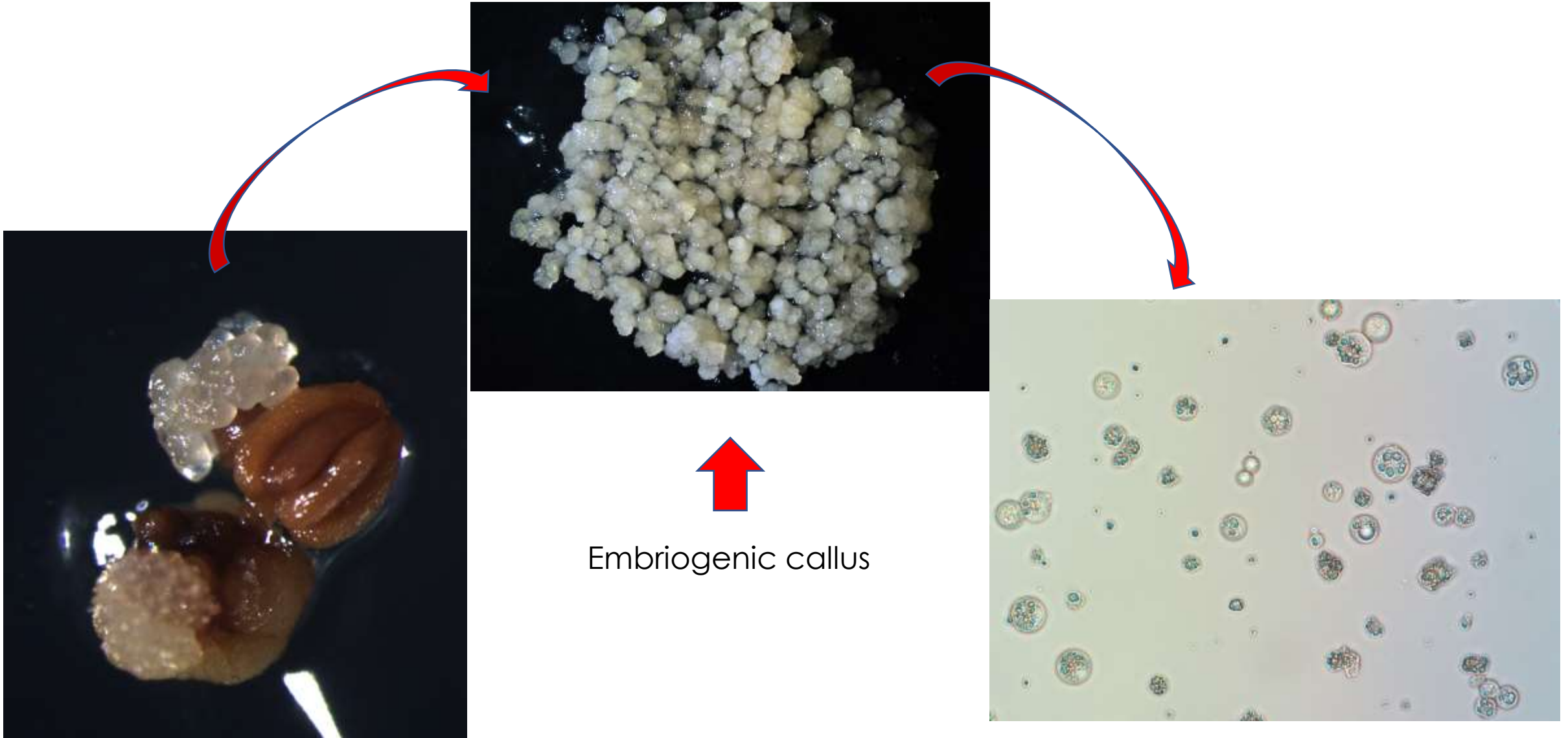


# Embryogenic callus induction



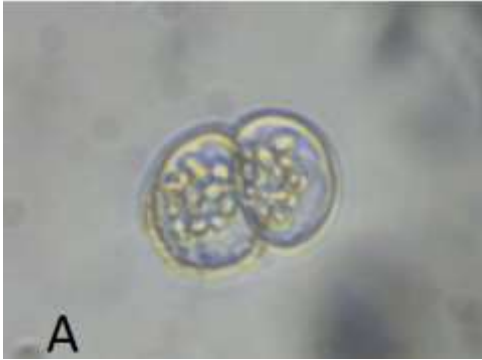


# Embriogenic callus induction



# Protoplasts regeneration through somatic embryogenesis

First cell division



After 10 days

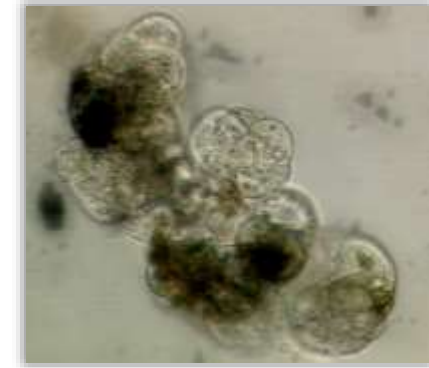
Further cell divisions



After 30 days



Formation of micro-colonies



After ~40 days

Globular stage



After ~60 days

Heart stage



After ~70 days

Torpedo stage



After ~90 days

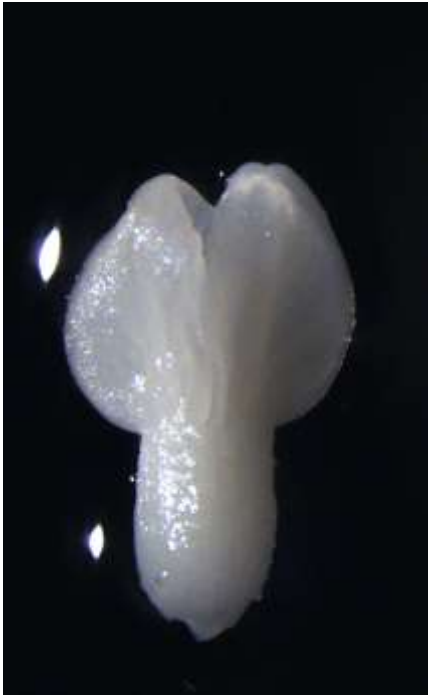
Mature embryo



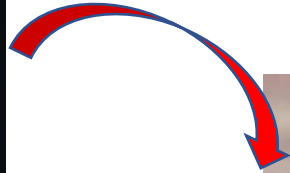
After ~100 days

# Protoplasts regeneration through somatic embryogenesis

Embryo

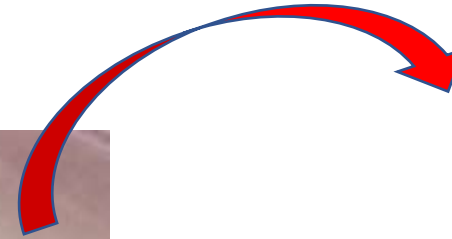


4 weeks in the dark



Germinated somatic embryo

4-5 weeks  
on the light



Shoot and root development

# Protoplasts regeneration through somatic embryogenesis

Final stages of plant regeneration



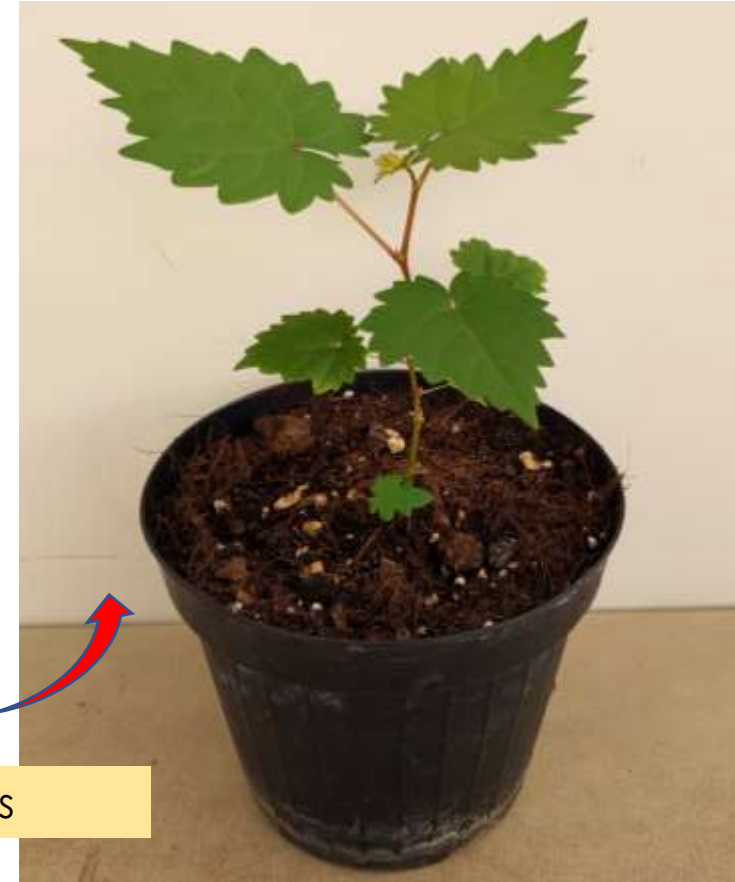
4 weeks

*in-vitro* regenerated plant



8-10 weeks

Regenerated plant

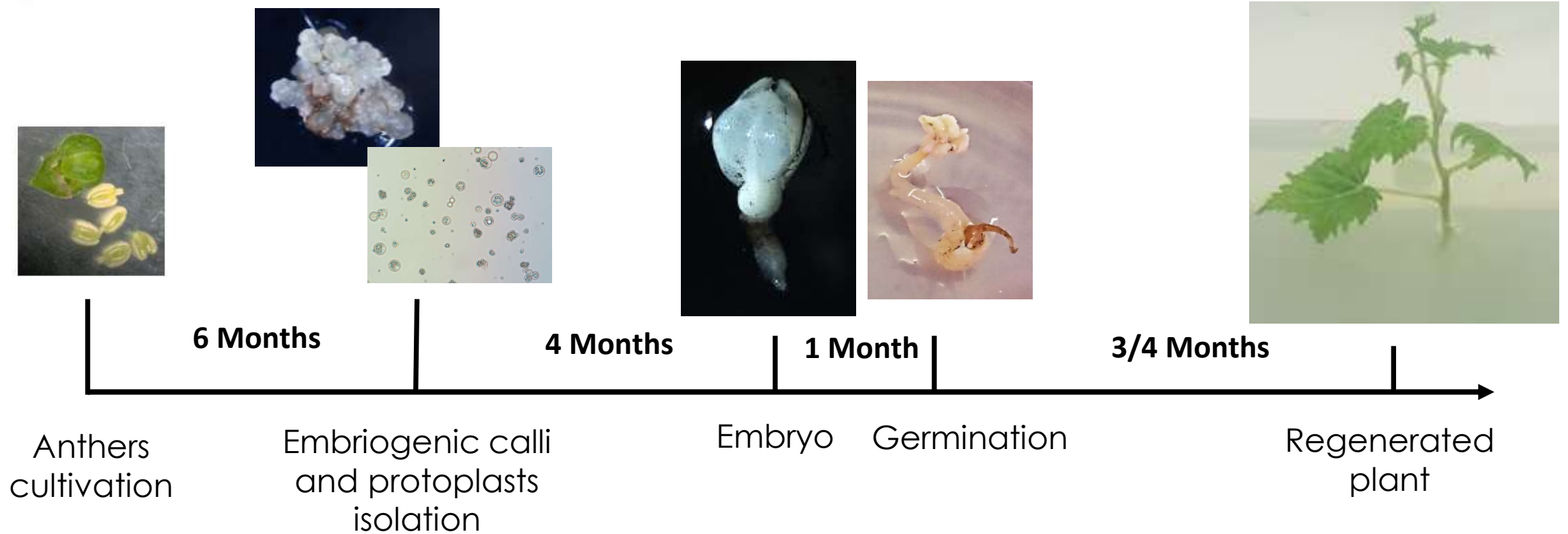




# Grapevine protoplasts regeneration

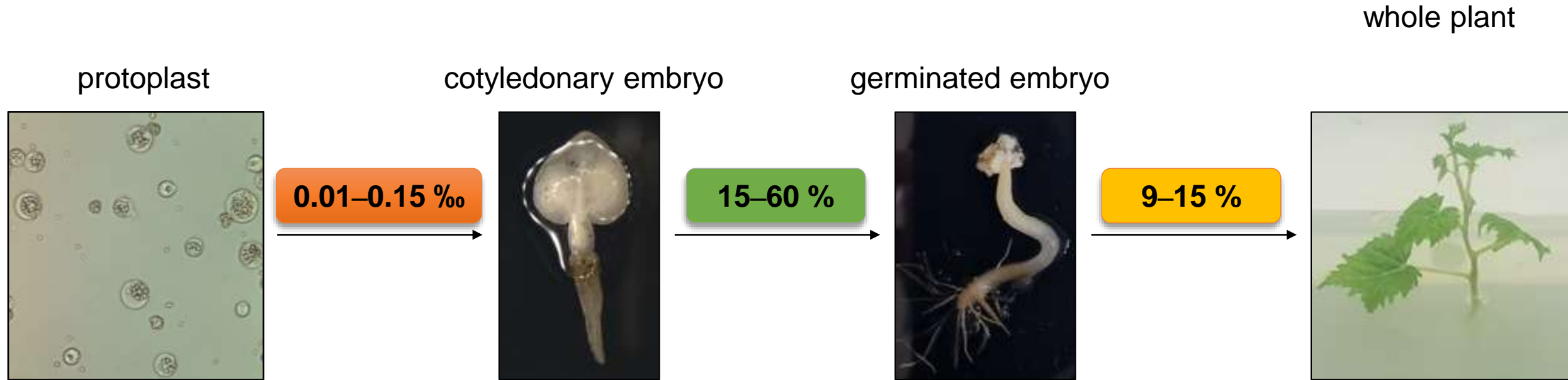


How much time?



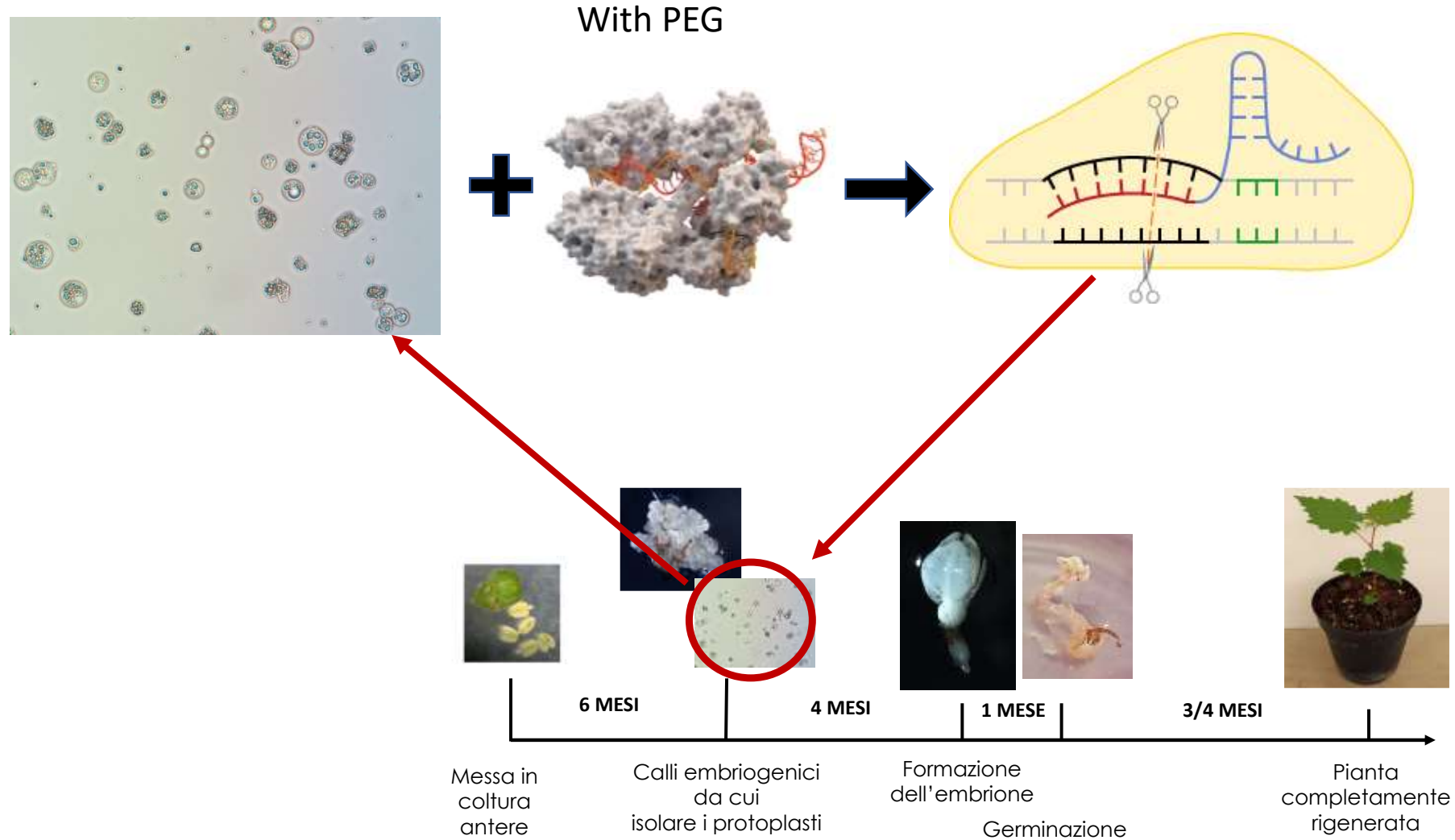
After about **15 months** from anthers cultivation, we obtained a whole plant

# Grapevine protoplasts regeneration



~ 2 million protoplasts → ~ 150–200 germinated embryos → ~ 15–20 whole plants

# Editing induction in grapevine protoplasts



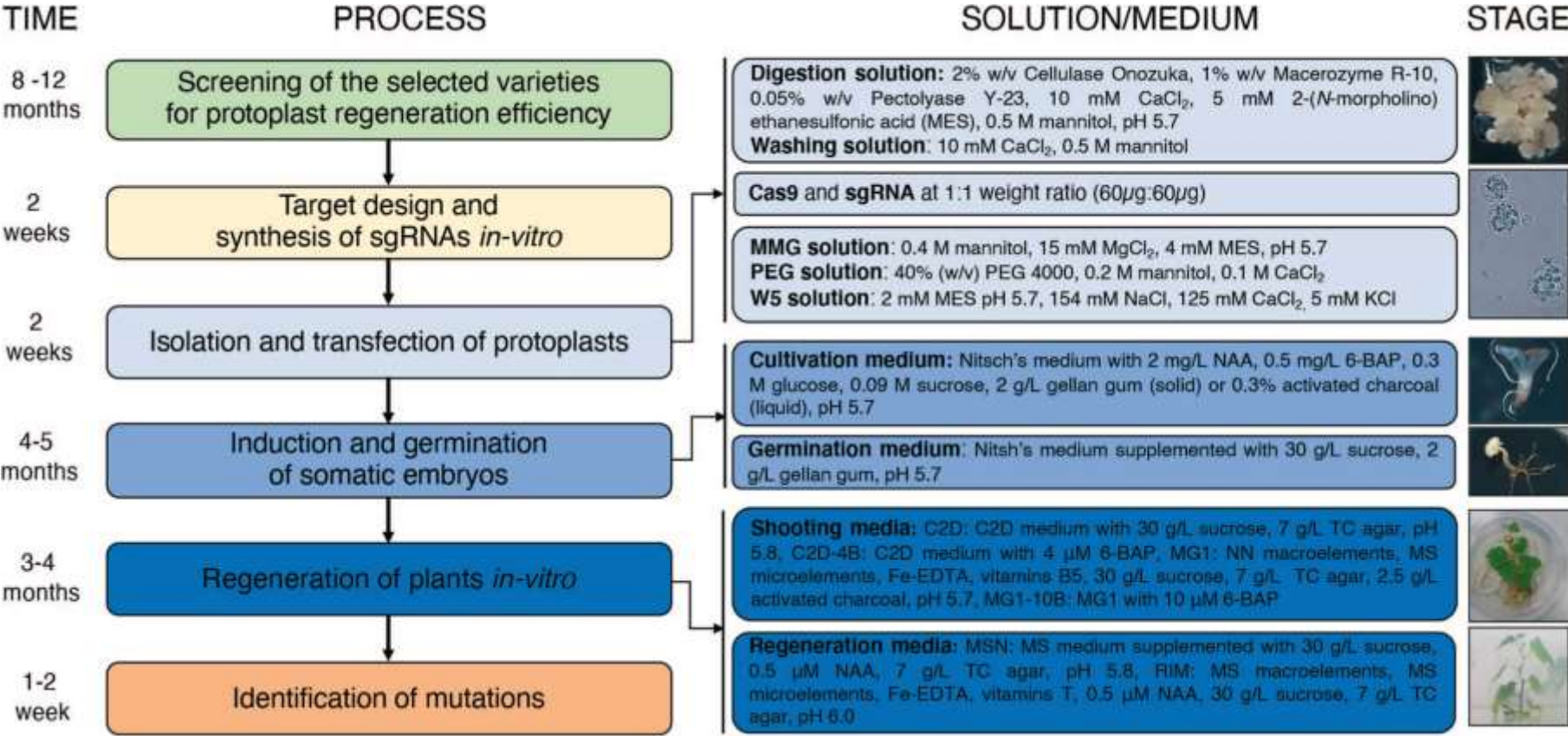
# Editing induction in grapevine protoplasts

Article

## DNA-free genome editing in grapevine using CRISPR/Cas9 ribonucleoprotein complexes followed by protoplast regeneration

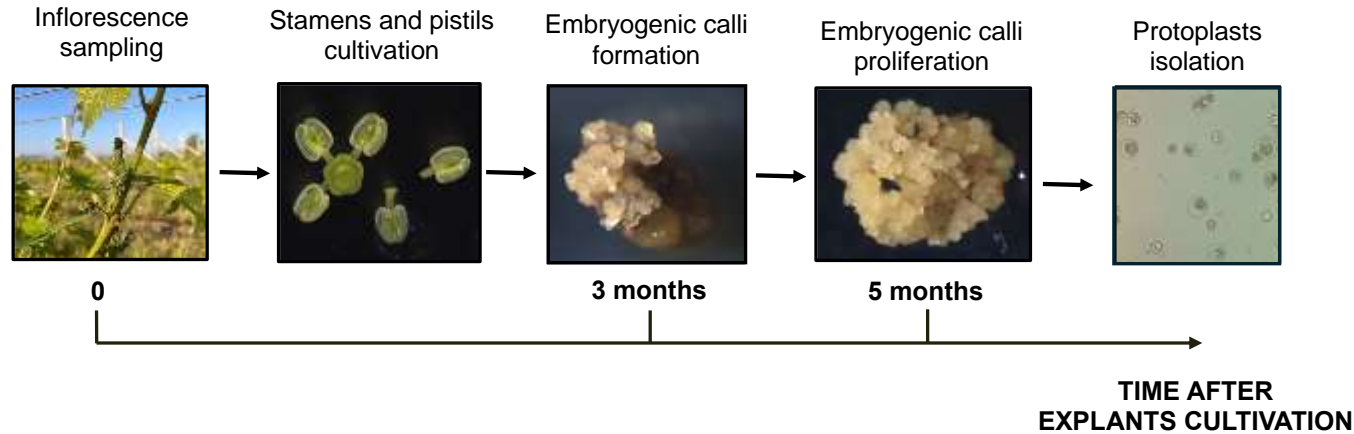
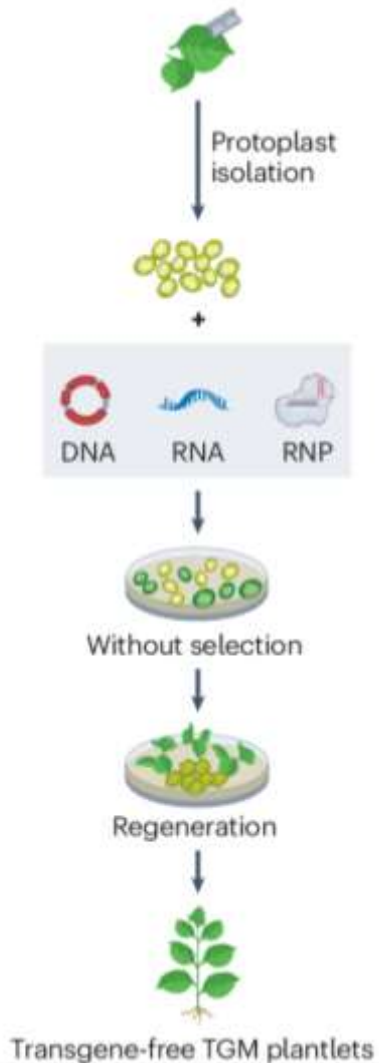
Samaneh Najafi, Edoardo Bertini, Erica D'Incà, Marianna Fasoli and Sara Zenoni   
Department of Biotechnology, University of Verona, 37134 Verona, Italy  
\*Corresponding author. E-mail: sara.zenoni@univr.it

October **2022** we published the first DNA-free edited grapevine obtained by protoplast transfection and regeneration

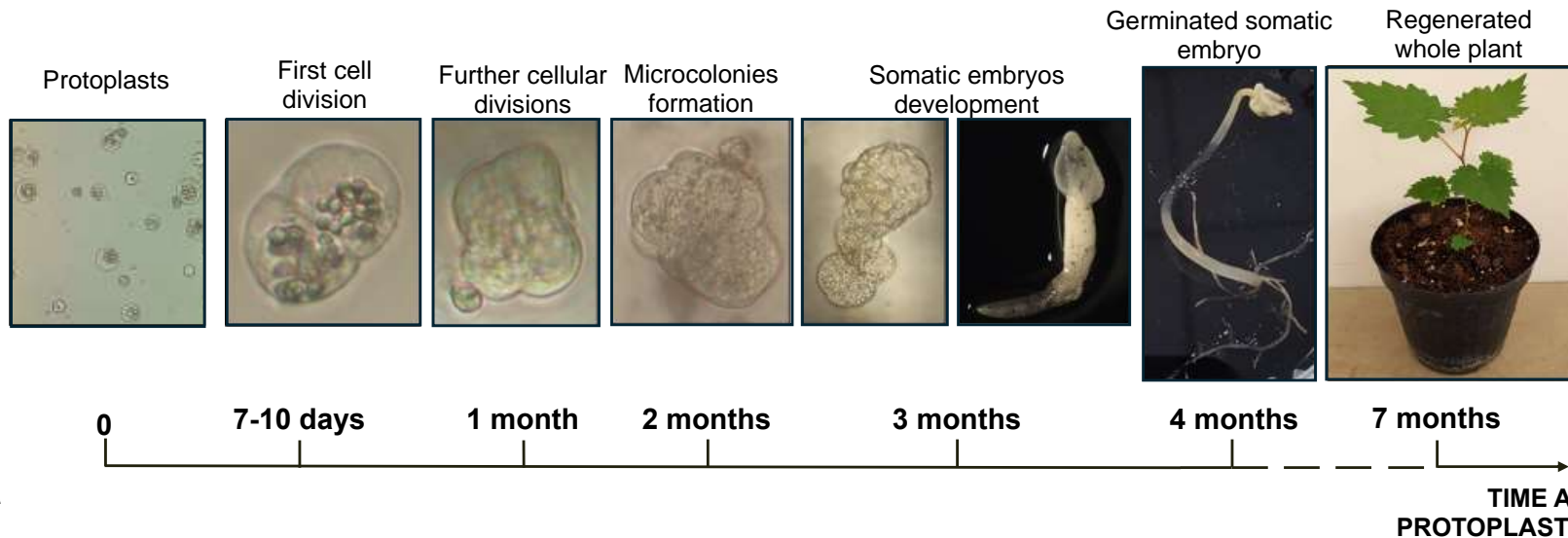




# PROTOPLAST PLATFORM

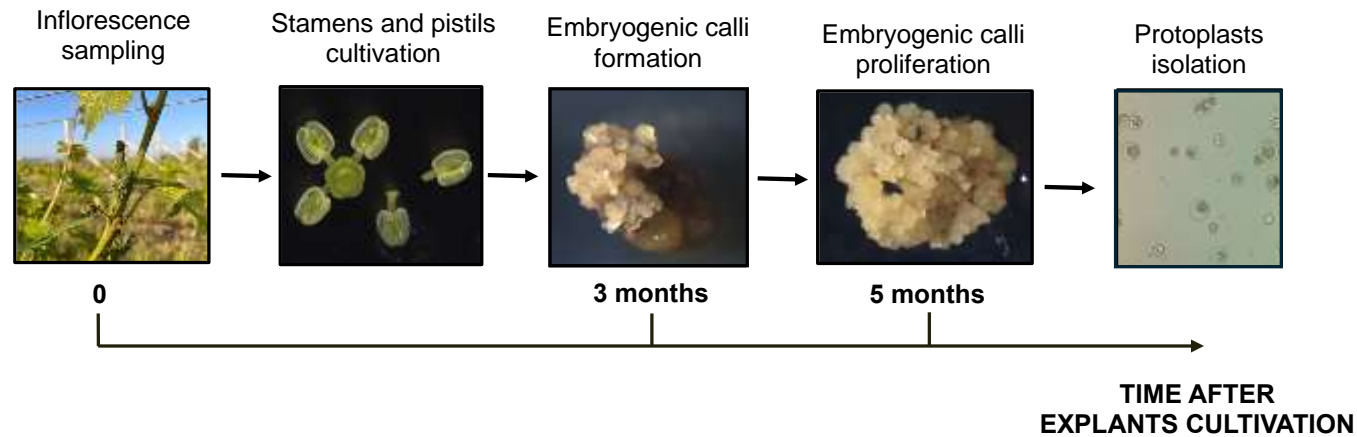


**EMBRYOGENIC CALLI  
INDUCTION AND  
PROLIFERATION**



**SOMATIC  
EMBRYOGENESIS  
AND PLANT  
REGENERATION**

# Adapting the strategy to the genotype



Rank of genotypes performance (1 = best)

1 Chardonnay

2 Merlot

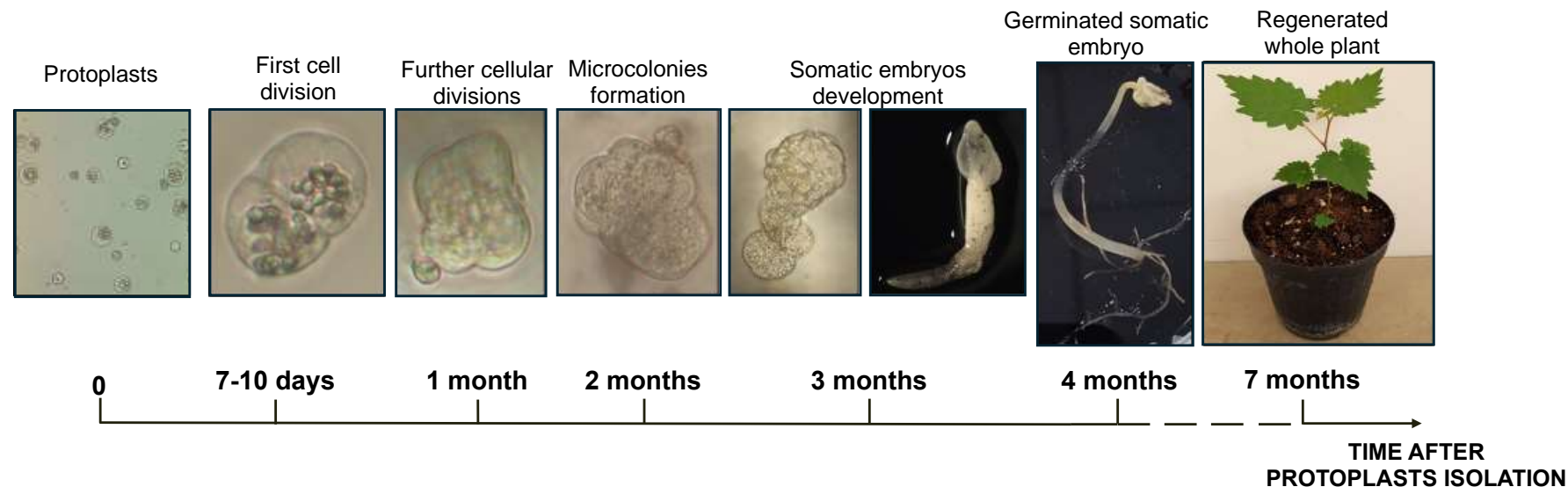
3 Glera

4 Syrah

5 Thomson Seedless

6 Corvina

7 Cabernet



1 Chardonnay

2 Syrah

3 Cabernet

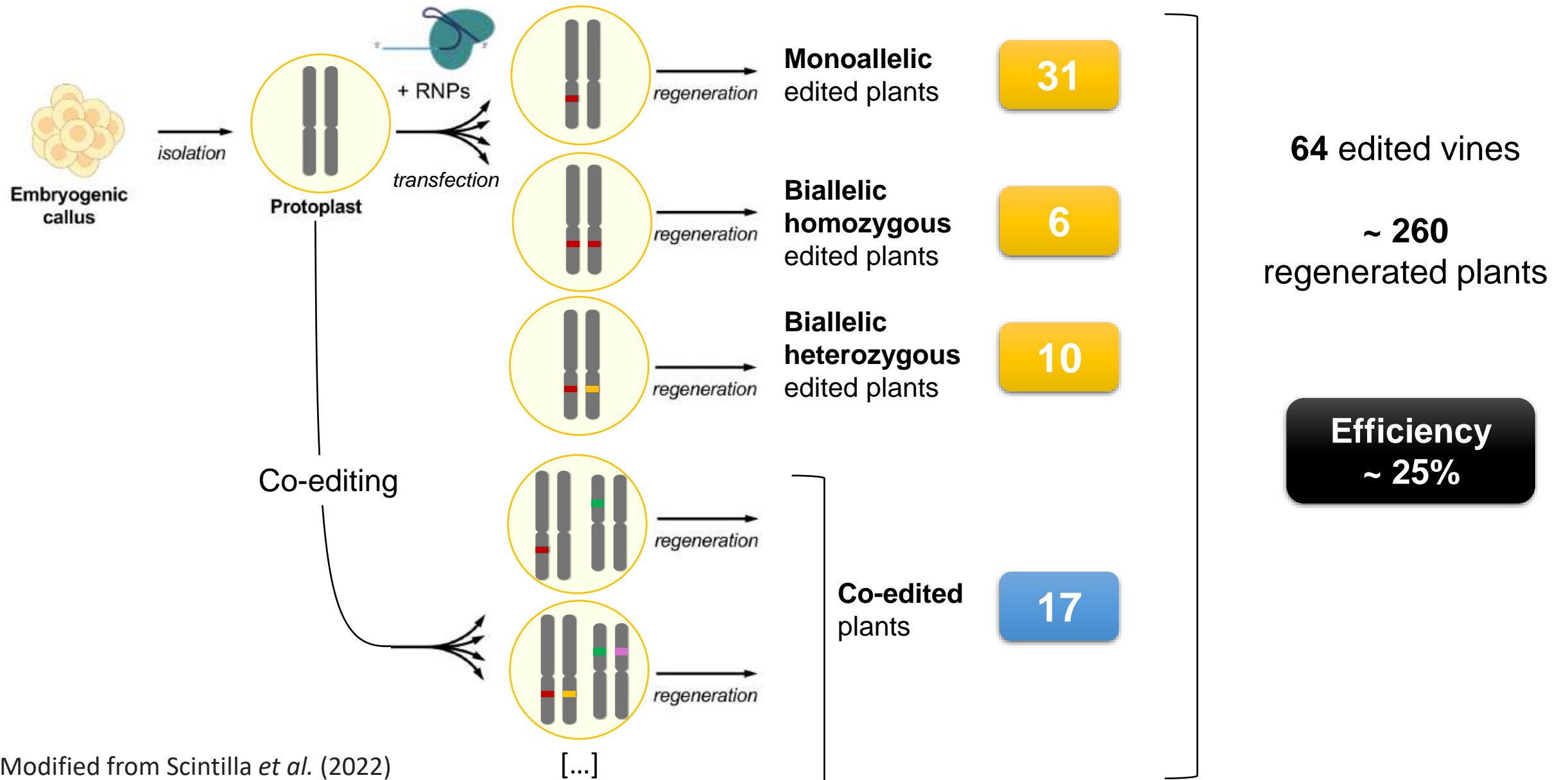
4 Thomson Seedless

5 Corvina

6 Glera

7 Merlot

# Editing events



# Susceptibility genes for downy mildew

## Simultaneous editing of two *DMR6* genes in grapevine results in reduced susceptibility to downy mildew

Lisa Giacomelli<sup>1\*</sup>, Tieme Zeilmaker<sup>2</sup>, Oscar Giovannini<sup>1</sup>, Umberto Salvagnin<sup>1†</sup>, Domenico Masuero<sup>1</sup>, Pietro Franceschi<sup>1</sup>, Urska Vrhovsek<sup>1</sup>, Simone Scintilla<sup>1†</sup>, Jeroen Rouppe van der Voort<sup>2</sup> and Claudio Moser<sup>1</sup>

## Grapevine *DMR6-1* Is a Candidate Gene for Susceptibility to Downy Mildew

by Carlotta Pirrello<sup>1,2,†,‡</sup> , Giulia Malacarne<sup>1</sup> , Marco Moretto<sup>1</sup> , Luisa Lenzi<sup>1</sup> , Michele Perazzolli<sup>1,3</sup> , Tieme Zeilmaker<sup>4</sup> , Guido Van den Ackerveken<sup>5</sup> , Stefania Pilati<sup>1</sup> , Claudio Moser<sup>1</sup>  and Lisa Giacomelli<sup>1,\*,‡</sup> 


the plant journal

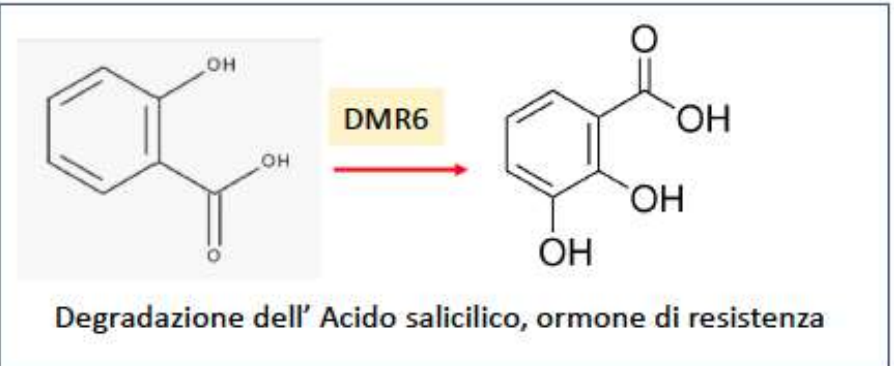
S E B

SOCIETY FOR EXPERIMENTAL BIOLOGY

 Free Access

**Arabidopsis *DMR6* encodes a putative 2OG-Fe(II) oxygenase that is defense-associated but required for susceptibility to downy mildew**

Mireille Van Damme, Robin P. Huibers, Joyce Elberse, Guido Van den Ackerveken 





# DNA-free edited Chardonnay

- Chardonnay plant edited for *DMR6.1*

Genome sequencing

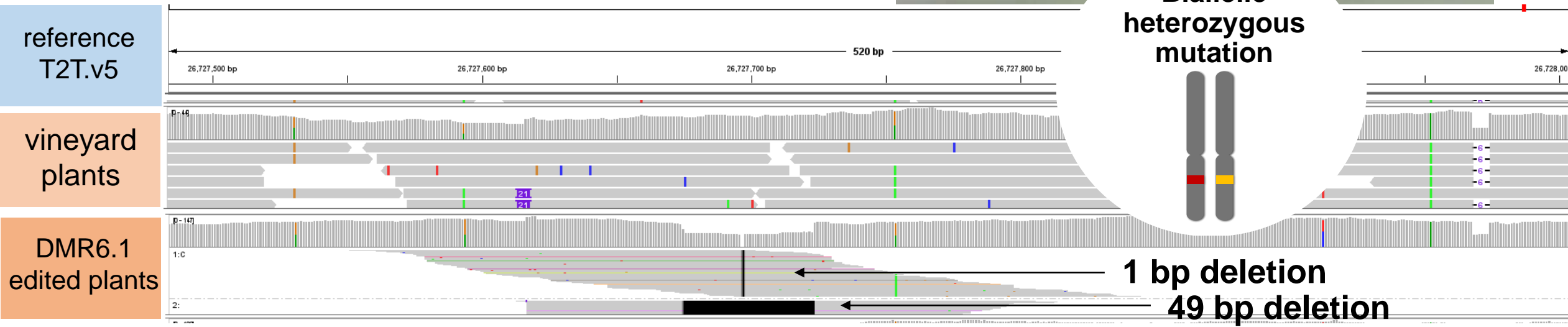
DMR6.1-edited



Non-edited



Biallelic  
heterozygous  
mutation



# Genomic characterization: off targets

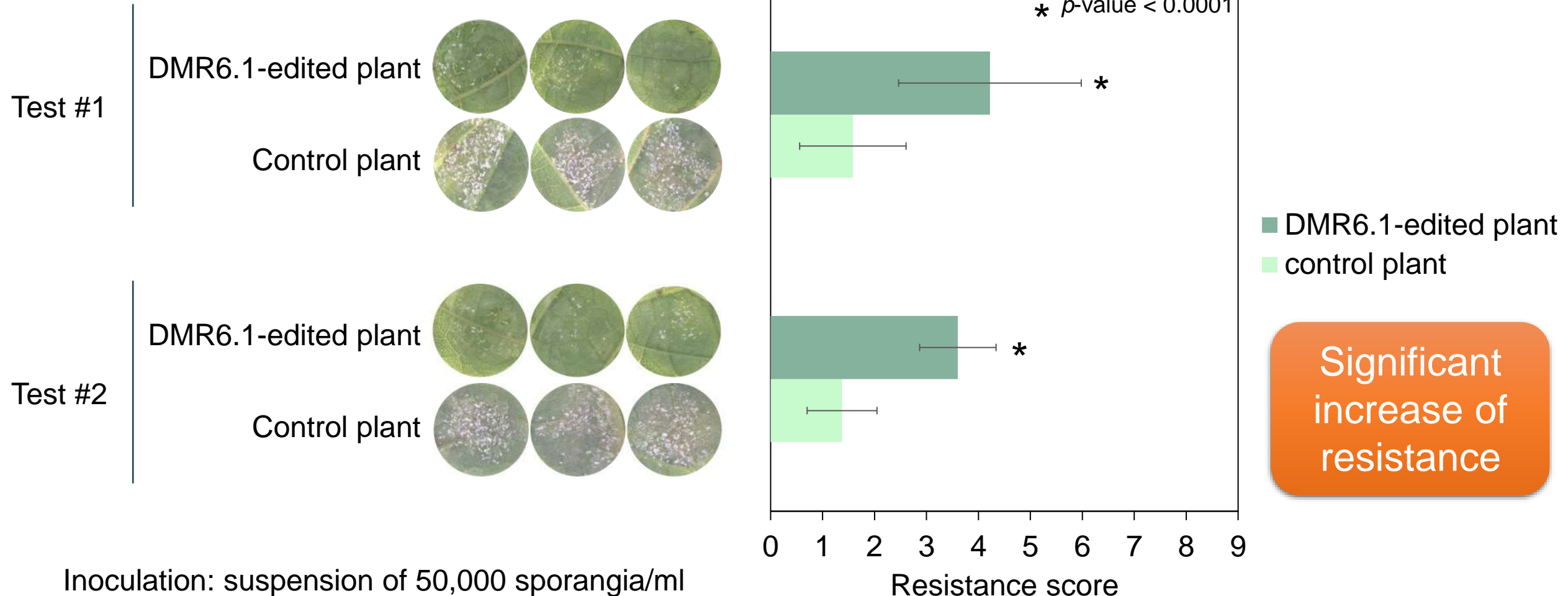
off-target Sequence	Mismatch Position	Locus
TGAATTAGTACAAGCATGAGTGG	..*..*.....*..*....	Intron
TGGATCAGTACATTCCAGACCGG	.....**..*..*	Exon
CCCAACAGTACACGCCTGAGGAG	***.*.....	Exon
TCCATCAGTAAACGGCTGAGTGG	..**.....*...*....	Intron
TGGATCAGTACATTCCGGACCGG	.....**..*..*	Exon
TGGAACAGTCGAGGCCTGAGAGG	....*....**.*.....	Intergenic

No predicted off-target sequence modifications

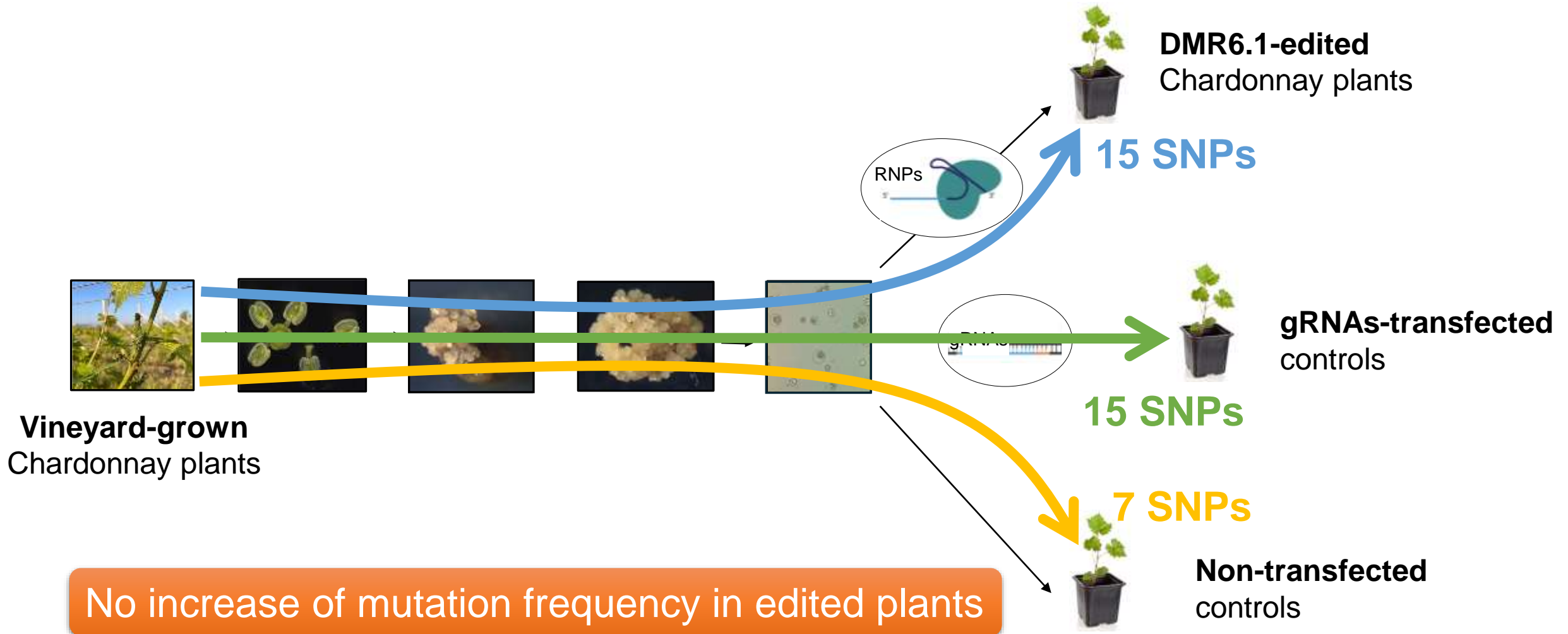
# Resistance assessment

**Leaf disk assay**  
(6 days after inoculation)

**Resistance score**  
(according to OIV 452-1 descriptor)



# Genomic characterization: neo mutations





# Genomic characterization: distribution of neo mutations



**DMR6.1-edited**  
Chardonnay plants

**15 SNPs**



**gRNAs-transfected**  
controls

**15 SNPs**



**Non-transfected**  
controls

**7 SNPs**

	INTERGENIC	CDS	INTRONIC	UTR
DMR6.1-edited Chardonnay plants	12	1	2	0
gRNAs-transfected controls	10	3	1	1
Non-transfected controls	6	0	0	1

No differences in neo mutation distribution in edited plants

# CULTIVATION AND CONSUMPTION OF NGTs CROPS



**On May 30th 2023** an amendment to the Drought Law Decree of 14 April is approved which allows field testing of plants obtained with Assisted Evolution Techniques (TEA)

**On June 13th 2023** the decree becomes law and article 9-bis is inserted

«Art. 9-bis (*Disposizioni urgenti in materia di genetica agraria*). — 1. Per consentire lo svolgimento delle attività di ricerca presso siti sperimentali autorizzati, a sostegno di produzioni vegetali in grado di rispondere in maniera adeguata a condizioni di scarsità idrica e in presenza di *stress* ambientali e biotici di particolare intensità, nelle more dell'adozione, da parte dell'Unione europea, di una disciplina organica in materia, **l'autorizzazione all'emissione deliberata nell'ambiente di organismi prodotti con tecniche di editing genomico mediante mutagenesi sito-diretta o di cisgenesi a fini sperimentali e scientifici** è soggetta, fino al 31 dicembre 2024, alle disposizioni di cui al presente articolo.

2. La richiesta di autorizzazione è notificata all'autorità nazionale competente di cui all'articolo 2 del decreto legislativo 8 luglio 2003, n. 224. L'autorità nazionale competente, entro dieci giorni dal ricevimento della notifica, effettuata l'istruttoria preliminare di cui all'articolo 5, comma 2, lettera *a*), del medesimo decreto legislativo, trasmette copia della notifica al Ministero della salute, al Ministero dell'agricoltura, della sovranità alimentare e delle foreste e a ogni regione e provincia autonoma interessata. L'autorità nazionale competente invia copia della notifica all'Istituto superiore per la protezione e la ricerca ambientale (ISPRA), che svolge i compiti della soppressa Commissione interministeriale di valutazione di cui all'articolo 6 del citato decreto legislativo n. 224 del 2003. **L'ISPRA, entro i successivi quarantacinque giorni, effettua la valutazione della richiesta ed esprime il proprio parere all'autorità nazionale competente** e alle altre amministrazioni interessate. Entro dieci giorni dal ricevimento del parere dell'ISPRA, l'autorità nazionale competente adotta il provvedimento autorizzatorio. Dell'esito della procedura è data comunicazione alle regioni e alle province autonome interessate.

# AUTHORIZATION FOR FIELD TESTING OF EDITED CHARDONNAY



Request made on **5 June 2024**



Authorization received on **5 September 2024**

After a long bureaucratic process

m\_amte.MASE.REGISTRO UFFICIALE USCITA.0161182.05-09-2024



*Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica*

DIREZIONE GENERALE TUTELA DELLA BIODIVERSITA' E DEL MARE

IL DIRETTORE GENERALE

**Oggetto: Notifica B/IT/24/03 per l'emissione deliberata nell'ambiente di OGM per qualsiasi fine diverso dall'immissione sul mercato ai sensi dell'articolo 9-bis, comma 2, del decreto-legge 14 aprile 2023, n. 39, convertito, con modificazioni, dalla legge 13 giugno 2023, n. 68 – Rilascio del provvedimento di autorizzazione**

Si trasmette in allegato il provvedimento in oggetto con cui si autorizza codesta Società a effettuare la sperimentazione in pieno campo di piante di vite (*Vitis vinifera* L.), varietà Chardonnay, modificate con tecniche di *editing* del genoma per resistere alla peronospora della vite, di cui alla notifica B/IT/24/03



# SEPTEMBER 30, 2024 – second Italian trial



## News

### Italy tests first gene-edited vines for winemaking

Europe's first field trial of gene-edited vines began in northern Italy on 30 September 2024. Developed by EdiVite, a spinoff from the University of Verona, these Chardonnay vines have undergone gene inactivation to enable them to better defend themselves against downy mildew, a major fungal disease. The trial is being conducted on university land, with plans to expand to another site in the Veneto region. Researchers aim to gather initial data by 2025, with the potential for experimental winemaking in 2026.

By Anna Meldolesi





**FEBRUARY 13, 2025**



# CONCLUSIONS

- The possibility to apply genome editing via the CRISPR/Cas9 system and produce DNA-free genetically improved grapes have been deonstarted
- NGTs (TEA in Italy) plants currently are classified as **GMOs** even if they are characterized by a precise mutation of the target gene(s) and the absence of exogenous DNA
- At the moment in Europe, the proposed law is being evaluated which classifies these plants as **NGT1**, for which the application of GMO regulations is not expected.
- We have other TEA grapevines in the greenhouse for which we are ready to request authorization for deliberate release for open field testing

**THANK YOU FOR THE ATTENTION**

**Subgroup on New Genomic Techniques  
(NGTs)**

**2nd meeting**

**14 May 2025**

**Item 6**

*Ris8imo: the first NGT field trial in Italy*

University of Milan (Italy)



# Ris8imo: the first NGT field trial in Italy

14.5.25

VITTORIA BRAMBILLA

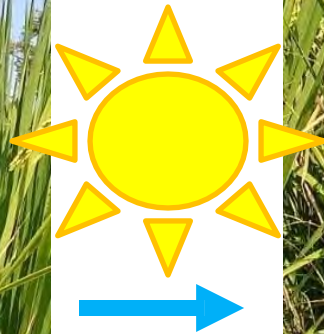


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO



**DiSAA**  
DIPARTIMENTO  
di SCIENZE  
AGRARIE e  
AMBIENTALI

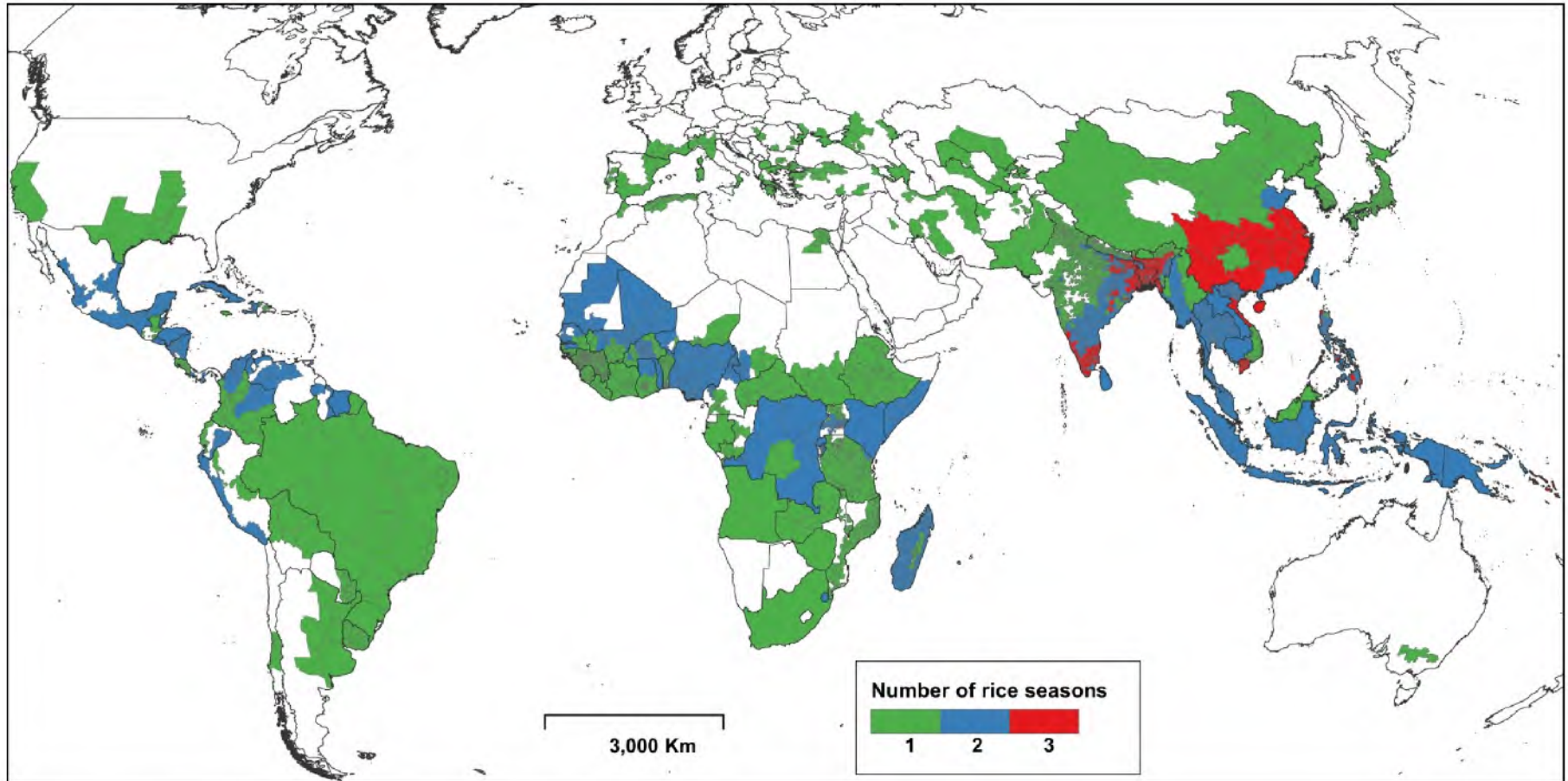
in our lab we are interested in  
studying the molecular bases of  
photoperiodic flowering





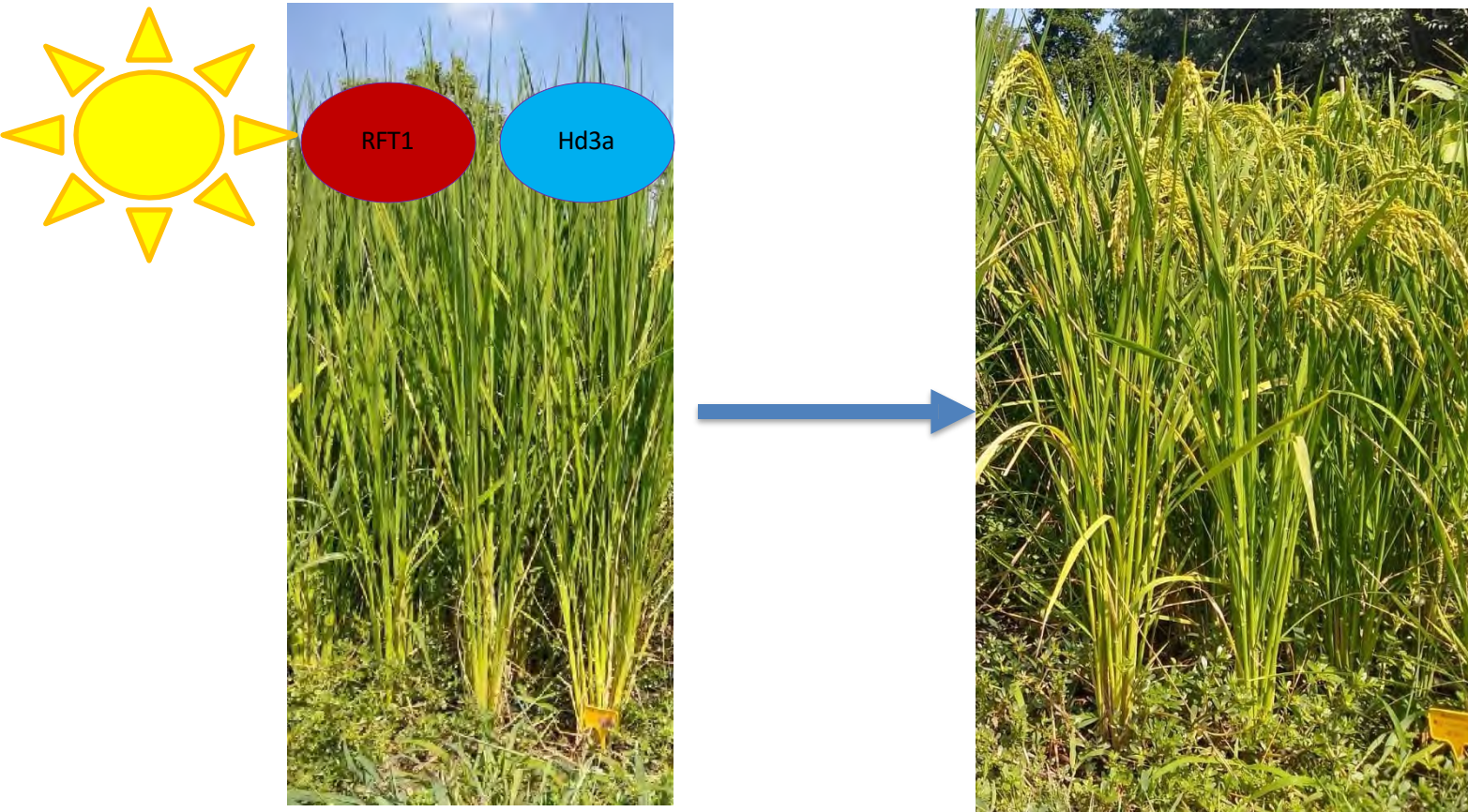
# rice growing areas

From: [RiceAtlas, a spatial database of global rice calendars and production](#)



Spatial units covered in RiceAtlas and the number of rice-growing seasons.

we know that two florigenic proteins, Hd3a and RFT1 are expressed in leaves under photoperiodic inductive conditions



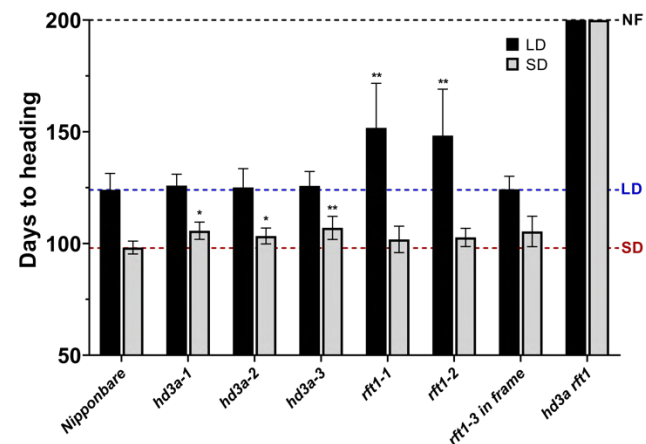
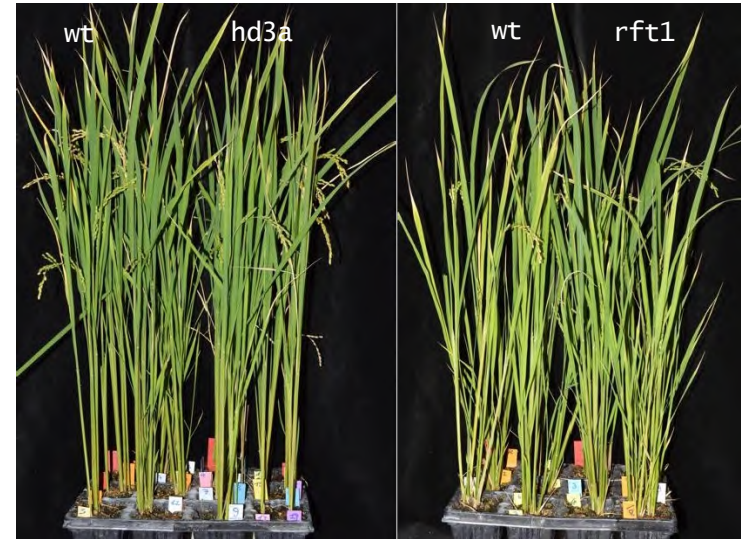


in 2014 we mutated by CRISPR/Cas9 the rice  
florigens to observe how flowering was affected

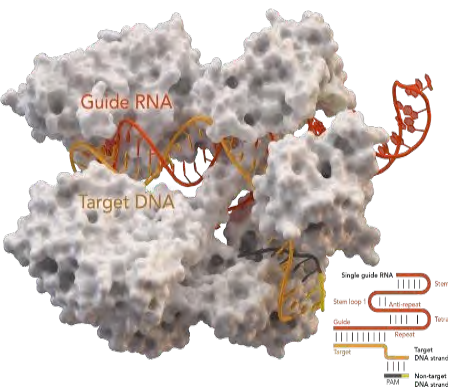
the single mutants have different  
flowering behaviours in growth chambers



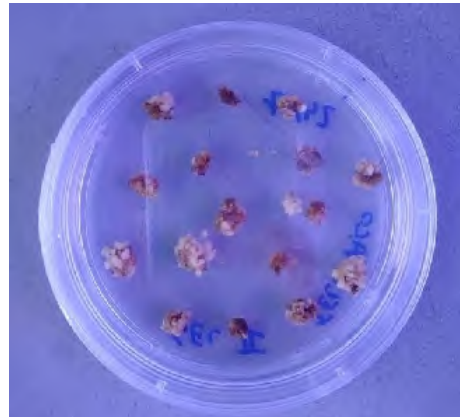
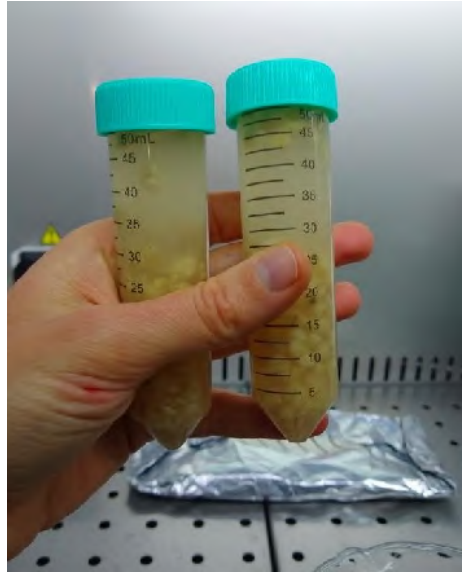
the double mutant is non-  
flowering



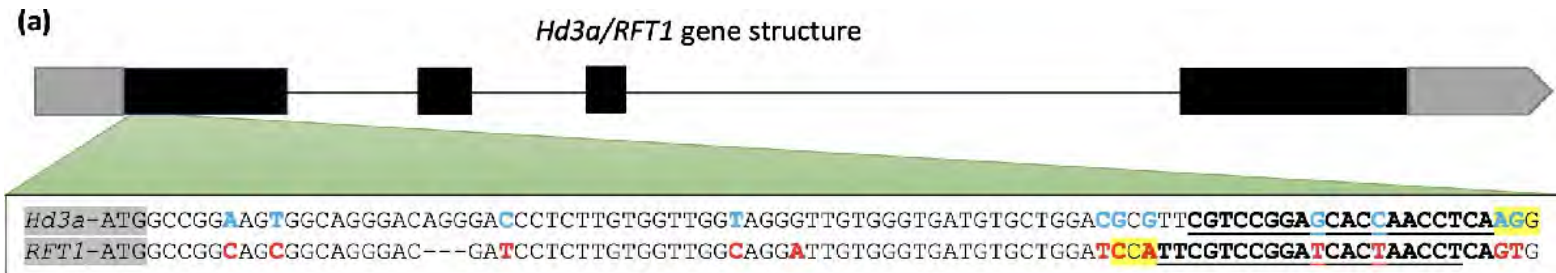




# LAB PROTOCOL



these mutants contained no transgene but only small insertions or deletions, we therefore thought that we could also make field experiments



(b)

(c)

	Hd3a CRISPR alleles (5'-3')	type of mutation
<i>wt</i>	CGTCCGGAGCACCAACC-TCAAGGTCACCTATGGCT	none
<i>hd3a-1</i>	CGTCCGGAGCACCAACCCTCAAGGTCACCTATGGCT	1 C insertion
<i>hd3a-2</i>	CGTCCGGAGCACCAAC--TCAAGGTCACCTATGGCT	1 C deletion
<i>hd3a-3</i>	CGTCCGGAGCACCAACC--CAAGGTCACCTATGGCT	1 T deletion
<i>hd3a-4</i>	CGTCCGGAGCACCC-----TCAAGGTCACCTATGGCT	4 bp deletion
<i>hd3a-5</i>	CGTCCGGAGCACCCCAACCTCAAGGTCACCTATGGCT	1 C insertion
<i>hd3a-6</i>	CG-----GGTCACCTATGGCT	19 bp deletion
<i>hd3a-7 IN FRAME</i>	CGTCCGGAGCACCAAC-----GGCT	15 bp deletion

(d)

	RFT1 CRISPR alleles (5'-3')	type of mutation
<i>wt</i>	CCATTTCG-TCCGGATCACTAACCTCAGTG	none
<i>rft1-1</i>	CCATTTCGATCCGGATCACTAACCTCAGTG	1 A insertion
<i>rft1-2</i>	CCATTTCGTTCGGATCACTAACCTCAGTG	1 T insertion
<i>rft1-3 IN FRAME</i>	CCATTTCG-----TCACTAACCTCAGTG	6 bp deletion





*Ministero dell'Ambiente  
e della Tutela del Territorio e del Mare*  
DIREZIONE GENERALE PER LE VALUTAZIONI  
E LE AUTORIZZAZIONI AMBIENTALI

DIVISIONE IV - VALUTAZIONE E RIDUZIONE DEI RISCHI  
DERIVANTI DA PRODOTTI CHIMICI  
E ORGANISMI GENETICAMENTE MODIFICATI

Al Professor Fabio Fornara  
Università di Milano  
Dipartimento di Bioscienze  
Via Celoria 26  
20133 Milano  
fabio.fornara@unimi.it

e, p.c., Al Ministero della Salute  
Dir. Generale per l'Igiene e la Sicurezza  
degli Alimenti e la Nutrizione  
dgsan@postacert.sanita.it

Al Ministero delle Politiche Agricole,  
Alimentari e Forestali  
Dir. Generale dello Sviluppo Rurale  
cosvir.direzione@pec.politicheagricole.gov.it

Alla Direzione per la Protezione  
della Natura e del Mare  
dg.protezione.natura@pec.minambiente.it

**Oggetto: Richiesta di chiarimenti per il rilascio nell'ambiente a scopo sperimentale di mutanti puntiformi ottenuti tramite CRISPR.**

Si fa riferimento alla Sua richiesta di pari oggetto pervenuta a mezzo posta elettronica in data 13 ottobre c.a. con la quale venivano richiesti chiarimenti in merito all'inquadramento normativo per l'emissione deliberata nell'ambiente a scopo sperimentale di piante ottenute con la tecnologia del *genome editing* CRISPR/Cas9.

Questa Amministrazione ha formulato un quesito alla Commissione europea per sapere se gli organismi ottenuti con la tecnologia in questione ricadano o meno nel campo di applicazione della direttiva 2001/18/CE e, quindi, del decreto legislativo 8 luglio 2003, n. 224, di attuazione a livello nazionale della citata direttiva.

La Commissione europea, con la nota che si allega, ha evidenziato che si è in attesa della sentenza della Corte di giustizia europea in merito alla richiesta di parere avanzata dal Consiglio di Stato francese (Causa pregiudiziale C-528/16) sullo status giuridico degli organismi ottenuti mediante alcune tecniche di miglioramento genetico quali la mutagenesi sito indotta.

Per quanto sopra evidenziato, stante il quadro normativo vigente, potranno pertanto essere fornite informazioni circa i permessi necessari per la coltivazione in campo a scopo sperimentale di piante ottenute con la tecnologia del *genome editing* CRISPR/Cas9 non appena saranno state definite le questioni giuridiche in merito alle nuove tecniche impiegate nel *breeding* vegetale.

**Il Dirigente**

Dott. Carlo Zaghi

(documento informatico firmato digitalmente  
ai sensi dell'art. 24 D.Lgs. 82/2005 e ss.mm.ii)

ID Cliente: 288  
ID Documento: DVA\_T44\_OI\_288\_2016/0019  
Data stesca: 13/12/2016

✓ Resp. Sez.: Andreella M.  
Ufficio: DVA\_T44\_OI  
Data: 13/12/2016

*Tuteliamo l'ambiente! Non stampare se non necessario. Il foglio di carta formato A4 = 7,5g di CO<sub>2</sub>*

Via Cristoforo Colombo, 44 - 00147 Roma Tel. 06-57225017 - Fax 06-57225062 e-mail: dva-4@minambiente.it  
e-mail PEC: DG@scriviposta.Ambiente@PEC.minambiente.it

On November 11,  
2016 Fabio Fornara  
wrote to the  
Italian Ministry of  
the Environment to  
confirm that he  
were allowed to  
grow these mutants  
outdoors

the answer came 1  
month later: we  
were told to wait  
for the ruling of  
the European Court  
of Justice



the Judgement comes 2 years later and says that CRISPR plants should not be exempted from the definition of GMO, whatever mutation they contain



## Reports of Cases

### JUDGMENT OF THE COURT (Grand Chamber)

25 July 2018\*

(Reference for a preliminary ruling — Deliberate release of genetically modified organisms into the environment — Mutagenesis — Directive 2001/18/EC — Articles 2 and 3 — Annexes I A and I B —

Concept of ‘genetically modified organism’ — Techniques/methods of genetic modification conventionally used and deemed to be safe — New techniques/methods of mutagenesis — Risks for human health and the environment — Discretion of the Member States when transposing the directive — Directive 2002/53/EC — Common catalogue of varieties of agricultural plant species — Herbicide-tolerant plant varieties — Article 4 — Acceptability of genetically modified varieties obtained by mutagenesis for inclusion in the common catalogue — Human health and environmental protection requirement — Exemption)

In Case C-528/16,

On November  
16, 2018,  
Fabio  
receives the  
final answer  
from the  
Italian  
Ministry:  
our CRISPR  
plants will  
not be able  
to go into  
the field



IL DIRETTORE GENERALE

Al Professor Fabio Fornara  
Università di Milano  
Dipartimento di Bioscienze  
Via Celoria 26  
20133 Milano  
fabio.fornara@unimi.it

c. p.c., Al Ministero delle Politiche Agricole,  
Alimentari e Forestali  
Direzione Generale dello Sviluppo Rurale  
cosvir.direzione@pec.politicheagricole.gov.it  
DISR V - Servizio fitosanitario centrale, produzioni vegetali  
cosvir5@pec.politicheagricole.gov.it  
DISR IV - Ricerca e sperimentazione  
cosvir4@pec.politicheagricole.gov.it

**Oggetto: Coltivazione sperimentale mutanti CRISPR.**

Con riferimento alla Sua richiesta di pari oggetto pervenuta a mezzo posta elettronica in data 11 novembre c.a. si evidenzia quanto segue.

In Italia l'emissione deliberata nell'ambiente di OGM per qualsiasi fine diverso dell'immissione sul mercato, ovvero per scopi sperimentali, è regolata dal Titolo II del D.L.vo n. 224/2003 di attuazione della direttiva 2001/18/CE.

Chiunque intenda effettuare un'emissione deliberata nell'ambiente di un OGM è tenuto a presentare preventivamente una notifica (una copia elettronica in lingua italiana ed una in lingua inglese) all'Autorità Nazionale Competente:

Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare  
Direzione generale per le valutazioni e le autorizzazioni ambientali (DVA)  
Via Cristoforo Colombo, 44  
Cap.00147, Roma, Italia  
PEC: DGSalvaguardia.Ambientale@PEC.minambiente.it

Ai sensi dell' articolo 8 del D.L.vo n. 224/2003, la notifica deve comprendere:

- a. un fascicolo tecnico, su supporto cartaceo ed informatico, contenente le informazioni di cui all'allegato III del D.L.vo n. 224/2003, "Informazioni obbligatorie per la notifica", necessario per valutare il rischio ambientale connesso all'emissione deliberata dell'OGM e in particolare:
  - 1) informazioni generali, comprese quelle relative al personale e alla sua formazione;
  - 2) informazioni relative all'OGM;

ID Utente: 7106

ID Documento: DVA-D4-017106\_2018-0119

Data: 16/11/2018

✓ Resp. Sez. Andreola M.  
Ufficio: DVA-D4-01  
Data: 16/11/2018

✓ Resp. Diva Zaghi C.  
Ufficio: DVA-D4  
Data: 16/11/2018

*Tutelaiana (l'ambiente) Non stampare se non necessario. 1 foglio di carta formata A4 - 7,5g di CO<sub>2</sub>.*

Via Cristoforo Colombo, 44 - 00147 Roma Tel. 06-57223001 - Fax 06-57223040 e-mail: dva-edg@minambiente.it  
e-mail PEC: DGSalvaguardia.Ambientale@PEC.minambiente.it

Firmato digitalmente in data 16/11/2018 alle ore 15:09

Fabio Fornara





We are interested in flowering: but what are the main concerns of rice farmers?



rice blast is the main problem for rice cultivation worldwide, caused by the fungal pathogen *Magnaporthae oryzae*



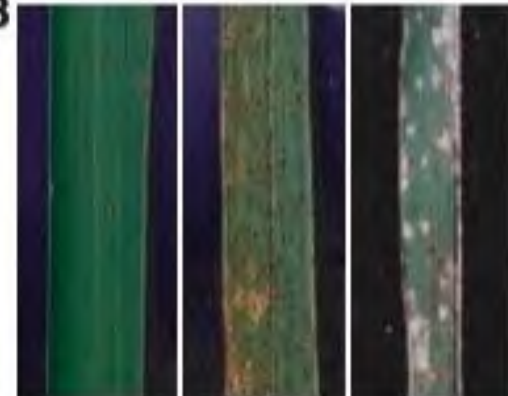
it is known that mutations in *Pi21* gene cause durable resistance to rice blast

21 AUGUST 2009 VOL 325 SCIENCE www.sciencemag.org

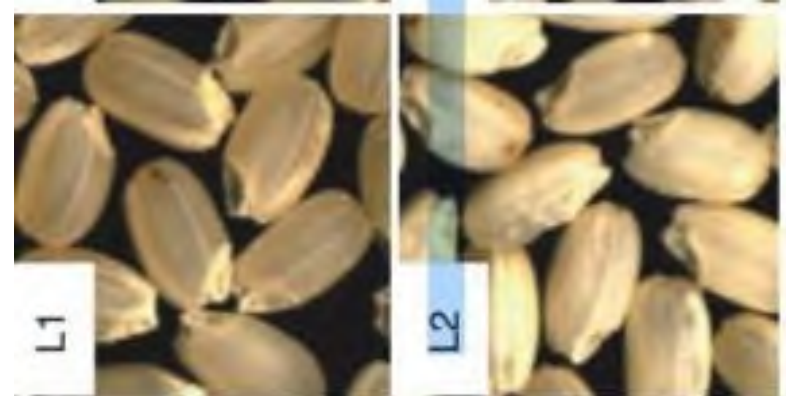
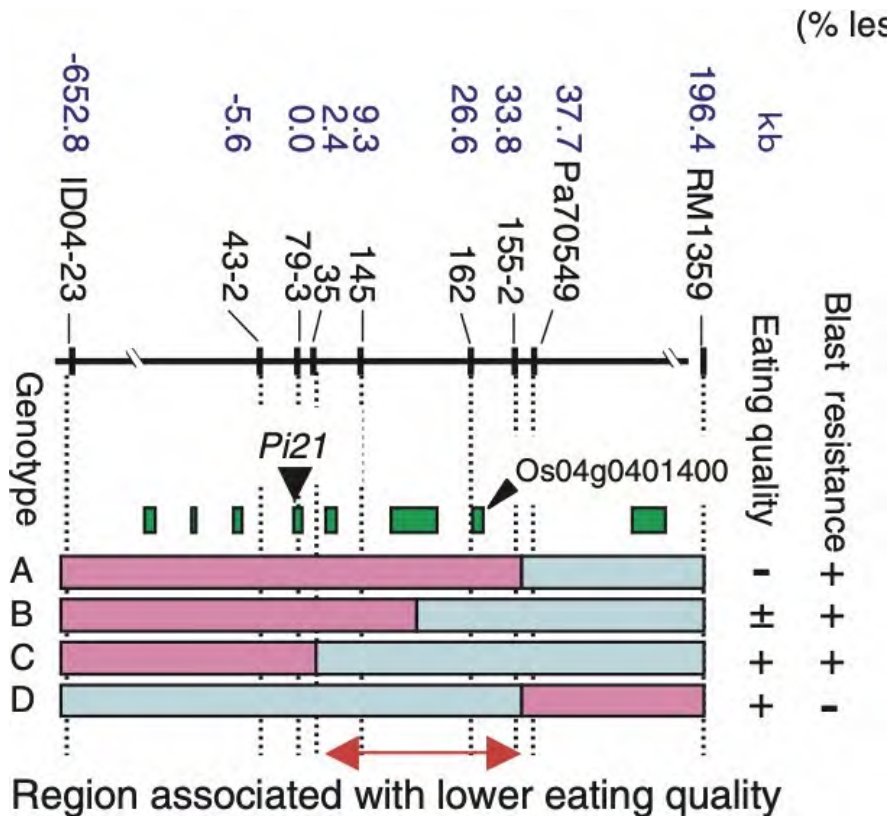
## Loss of Function of a Proline-Containing Protein Confers Durable Disease Resistance in Rice

Shuichi Fukuoka,<sup>1\*</sup> Norikuni Saka,<sup>2</sup> Hironori Koga,<sup>3</sup> Kazuko Ono,<sup>1</sup> Takehiko Shimizu,<sup>4</sup> Kaworu Ebana,<sup>1</sup> Nagao Hayashi,<sup>5</sup> Akira Takahashi,<sup>5</sup> Hirohiko Hirochika,<sup>6</sup> Kazutoshi Okuno,<sup>7</sup> Masahiro Yano<sup>1</sup>

Blast disease is a devastating fungal disease of rice, one of the world's staple foods. Race-specific resistance to blast disease has usually not been durable. Here, we report the cloning of a previously unknown type of gene that confers non-race-specific resistance and its successful use in breeding. *Pi21* encodes a proline-rich protein that includes a putative heavy metal-binding domain and putative protein-protein interaction motifs. Wild-type *Pi21* appears to slow the plant's defense responses, which may support optimization of defense mechanisms. Deletions in its proline-rich motif inhibit this slowing. *Pi21* is separable from a closely linked gene conferring poor flavor. The resistant *pi21* allele, which is found in some strains of *japonica* rice, could improve blast resistance of rice worldwide.



mutations in *Pi21* were not introgressed into Italian varieties by breeders because the gene is within a region that confers lower eating quality



In 2017 we simultaneously mutated by CRISPR/Cas9 *Pi21* (OSHIPP5), *HMA1* (OSHIPP19) and *HMA2* (OSHIPP20), that are two other genes important for *M.oryzae* penetration into the plant cell

Sophien Kamoun Thorsten Langner

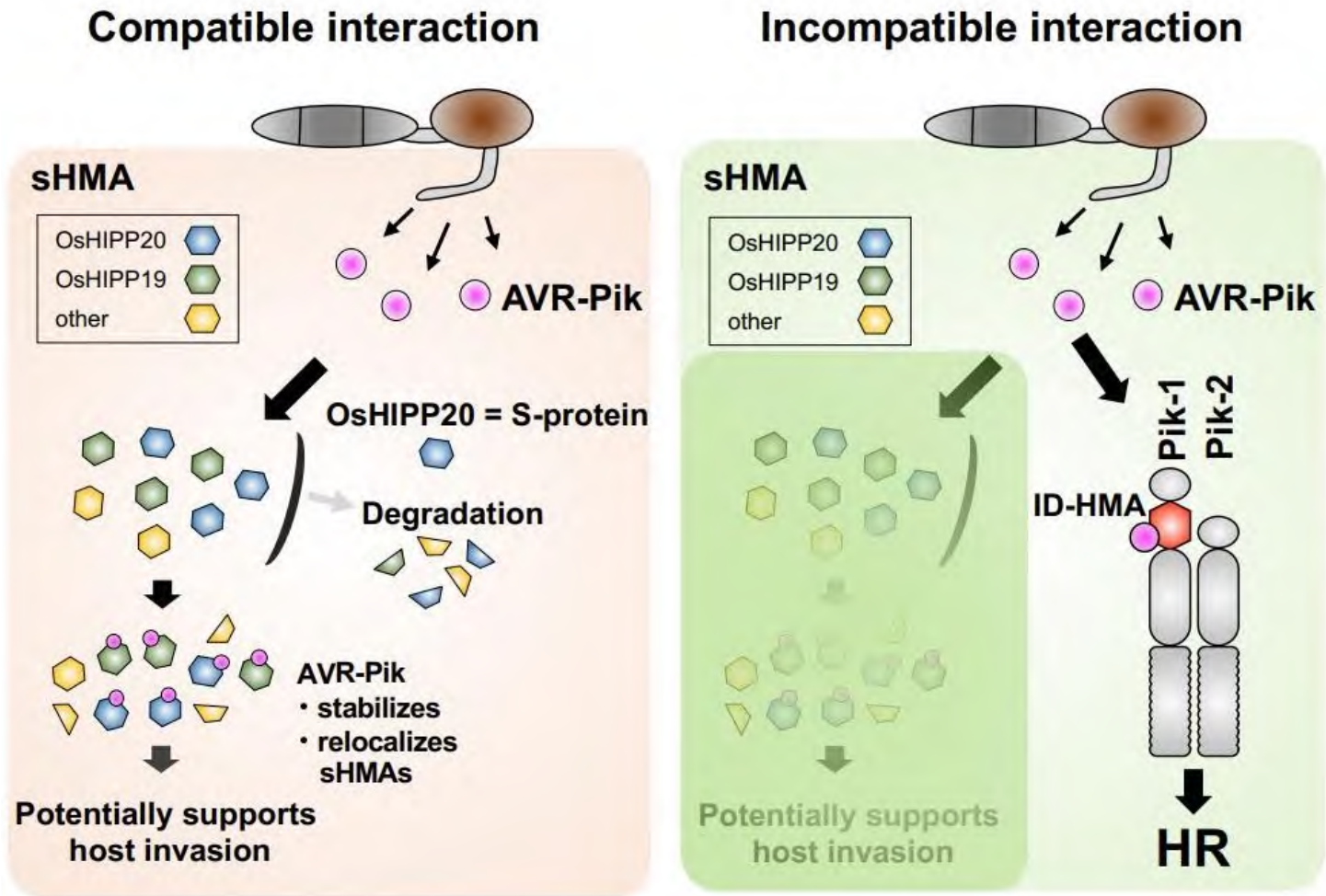


MAX PLANCK INSTITUTE  
FOR BIOLOGY TüBINGEN



The project was developed in collaboration with plant pathologists Sophien Kamoun and Thorsten Langner

# HMA1 (OsHIPP19) and HMA2 (OsHIPP20) can stabilize AVR-Pik effector to improve fungal penetration in the rice cells



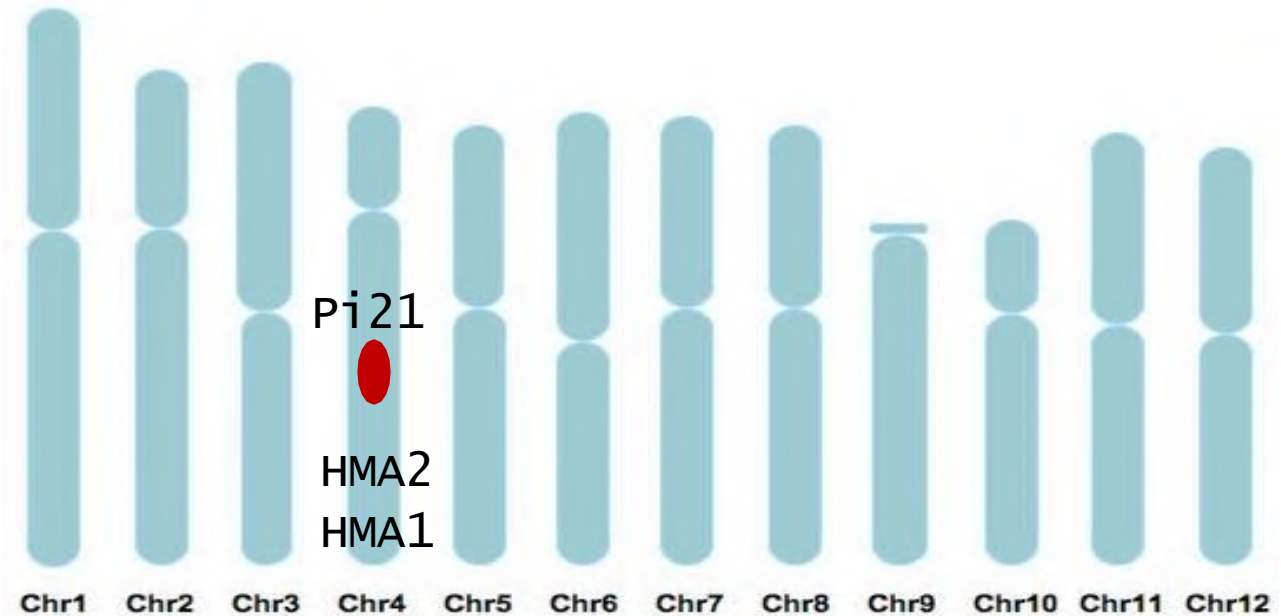
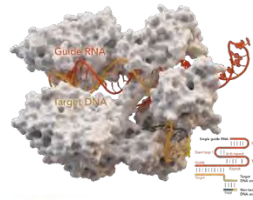
OIKAWA ET AL., 2020 [HTTPS://DOI.ORG/10.1101/2020.12.01.406389](https://doi.org/10.1101/2020.12.01.406389)

OIKAWA K, ET AL., 2024 DOI: 10.1371/JOURNAL.PPAT.1012647.



We chose a widely grown (in 2016) Italian  
blast susceptible elite variety named  
Telemaco of the Arborio risotto type

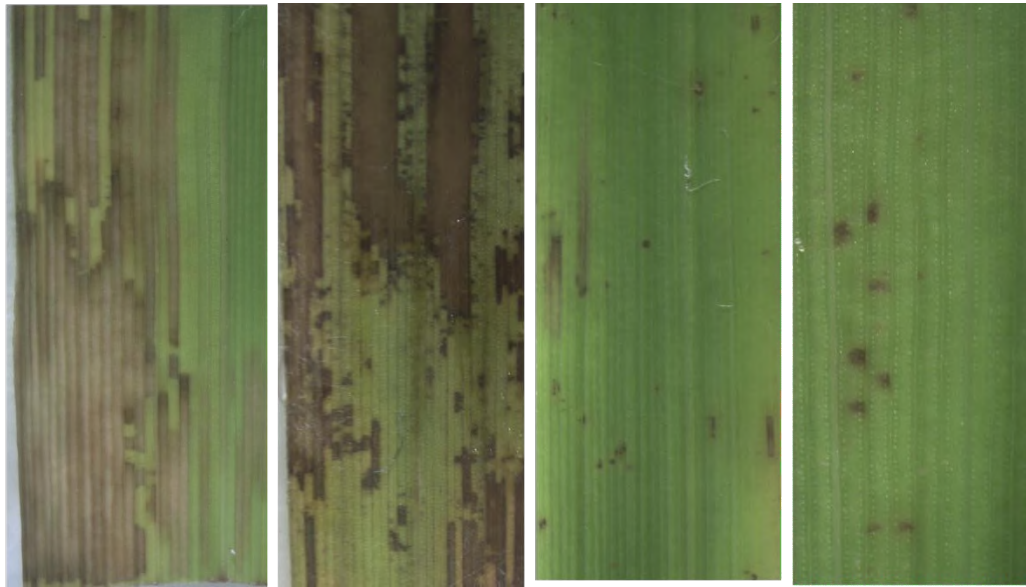
Telemaco variety  
Arborio type



● lower eating quality region

TELEMACO TEA Ris8imo

Laboratory tests proved a reduced susceptibility to blast after leaf inoculation



---

TELEMACO

---

TELEMACO TEA Ris8imo

We chose and propagated two  
«TELEMACO TEA» lines without  
transgene  
These contain the following  
mutations:

- **Nome linea: TELEMACO TEA 1**
- -gene *Pi2l*: delezione di 4 bp + inserzione di 1A frameshift
- -gene *HMA1*: delezione di 19 bp + inserzione di 1T frameshift
- -gene *HMA2*: inserzione di 1T e di 1 A frameshift
- 
- **Nome linea: TELEMACO TEA 2**
- -gene *Pi2l*: delezione di 4 bp + inserzione di 1A frameshift
- -gene *HMA1*: inserzione di 1T + inserzione di 1T frameshift
- -gene *HMA2*: delezione di 74 bp – frameshift



# Regione Lombardia

## LA GIUNTA

---

DELIBERAZIONE N° XI / 7526

Seduta del 15/12/2022

---

Presidente

**ATTILIO FONTANA**

Assessori regionali FABRIZIO SALA *Vicepresidente*

GUIDO BERTOLASO

STEFANO BOLOGNINI

DAVIDE CARLO CAPARINI

RAFFAELE CATTANEO

MELANIA DE NICHILLO RIZZOLI

PIETRO FORONI

STEFANO BRUNO GALLI

GUIDO GUIDESI

ROMANO MARIA LA RUSSA

ELENA LUCCHINI

LARA MAGONI

ALAN CHRISTIAN RIZZI

FABIO ROLFI

MASSIMO SERTORI

CLAUDIA MARIA TERZI

Con l'assistenza del Segretario Enrico Gasparini

Su proposta dell'Assessore Fabio Rolfi

Oggetto

DETERMINAZIONI IN ORDINE ALLA SPERIMENTAZIONE IN CAMPO APERTO DI NUOVE VARIETA' VEGETALI D'INTERESSE AGRARIO OTTENUTE CON NUOVE TECNICHE GENETICHE (NGT)



# LEGGI ED ALTRI ATTI NORMATIVI

DECRETO-LEGGE 14 aprile 2023, n. 39.

Disposizioni urgenti per il contrasto della scarsità idrica e per il potenziamento e l'adeguamento delle infrastrutture idriche.

Testo in vigore dal: 14-6-2023

[aggiornamenti all'articolo](#)

since 2023 in Italy fields trials are allowed

Art. 9-bis

(( *(Disposizioni urgenti in materia di genetica agraria).* ))

((1. Per consentire lo svolgimento delle attività di ricerca presso siti sperimentali autorizzati, a sostegno di produzioni vegetali in grado di rispondere in maniera adeguata a condizioni di scarsità idrica e in presenza di stress ambientali e biotici di particolare intensità, nelle more dell'adozione, da parte dell'Unione europea, di una disciplina organica in materia, l'autorizzazione all'emissione deliberata nell'ambiente di organismi prodotti con tecniche di editing genomico mediante mutagenesi sito-diretta o di cisgenesi a fini sperimentali e scientifici è soggetta, fino al 31 dicembre 2024, alle disposizioni di cui al presente articolo.

# To notify the field trial the procedure is the same as that for GMOs except that there no need to provide risk evaluation for agrobiodivesity

## La notifica deve comprendere:

- a. un **fascicolo tecnico** contenente le informazioni di cui all'allegato III del decreto legislativo 8 luglio 2003, n. 224, "*Informazioni obbligatorie per la notifica*", necessarie per valutare il rischio ambientale connesso all'emissione deliberata dell'OGM, e in particolare:
  - 1) informazioni generali, comprese quelle relative al personale e alla sua formazione;
  - 2) informazioni relative all'OGM;
  - 3) informazioni relative alle condizioni di emissione e al potenziale ambiente ospite;
  - 4) informazioni sulle interazioni tra OGM e ambiente;
  - 5) un piano di monitoraggio conforme alle pertinenti parti dell'allegato III e diretto a individuare gli effetti dell'OGM sulla salute umana, animale e sull'ambiente;
  - 6) informazioni relative ai piani di controllo, ai metodi di bonifica, al trattamento dei rifiuti e ai piani di intervento in caso di emergenza;
  - 7) una **sintesi delle informazioni (SNIF)** di cui ai punti precedenti, redatta in lingua [italiana](#) e in lingua [inglese](#) in conformità alla [decisione 2002/813/CE del Consiglio del 3 ottobre 2002](#), che contenga anche tutte le informazioni di cui all'articolo 27, comma 4, del decreto legislativo 8 luglio 2003, n. 224;
- b. la **valutazione del rischio ambientale e le conclusioni** prescritte dall'allegato II, parte D del decreto legislativo 8 luglio 2003, n. 224, con i riferimenti bibliografici e l'indicazione dei metodi utilizzati, su supporto cartaceo ed informatico;
- c. la **valutazione del rischio per l'agrobiodiversità, i sistemi agrari e la filiera agroalimentare**, solo nel caso in cui la sperimentazione riguardasse una specie vegetale di interesse agronomico, secondo quanto stabilito dal decreto 19 gennaio 2005 "Prescrizioni per la valutazione del rischio per l'agrobiodiversità, i sistemi agrari e la filiera agroalimentare, relativamente alle attività di rilascio deliberato nell'ambiente di OGM per qualsiasi fine diverso dall'immissione sul mercato".

Stante quanto disposto dal comma 5 dell'articolo 9-bis, della [legge 13 giugno 2023, n. 68](#), per l'autorizzazione all'emissione deliberata nell'ambiente di organismi vegetali prodotti con tecniche di editing genomico mediante mutagenesi sito-diretta o di cisgenesi a fini sperimentali e scientifici, il notificante non deve fornire la sopracitata valutazione del rischio per l'agrobiodiversità, i sistemi agrari e la filiera agroalimentare, prevista dal decreto 19 gennaio 2005.

to send a notification it is required to pay  
1549,37 euro

## Tariffe e modalità di pagamento

---

### Emissione deliberata nell'ambiente di OGM per qualsiasi fine diverso dell'immissione sul mercato

La presentazione di una notifica al Ministero dell'ambiente e della sicurezza energetica per l'emissione deliberata nell'ambiente di un OGM a scopo sperimentale prevede il pagamento di due distinte tariffe.

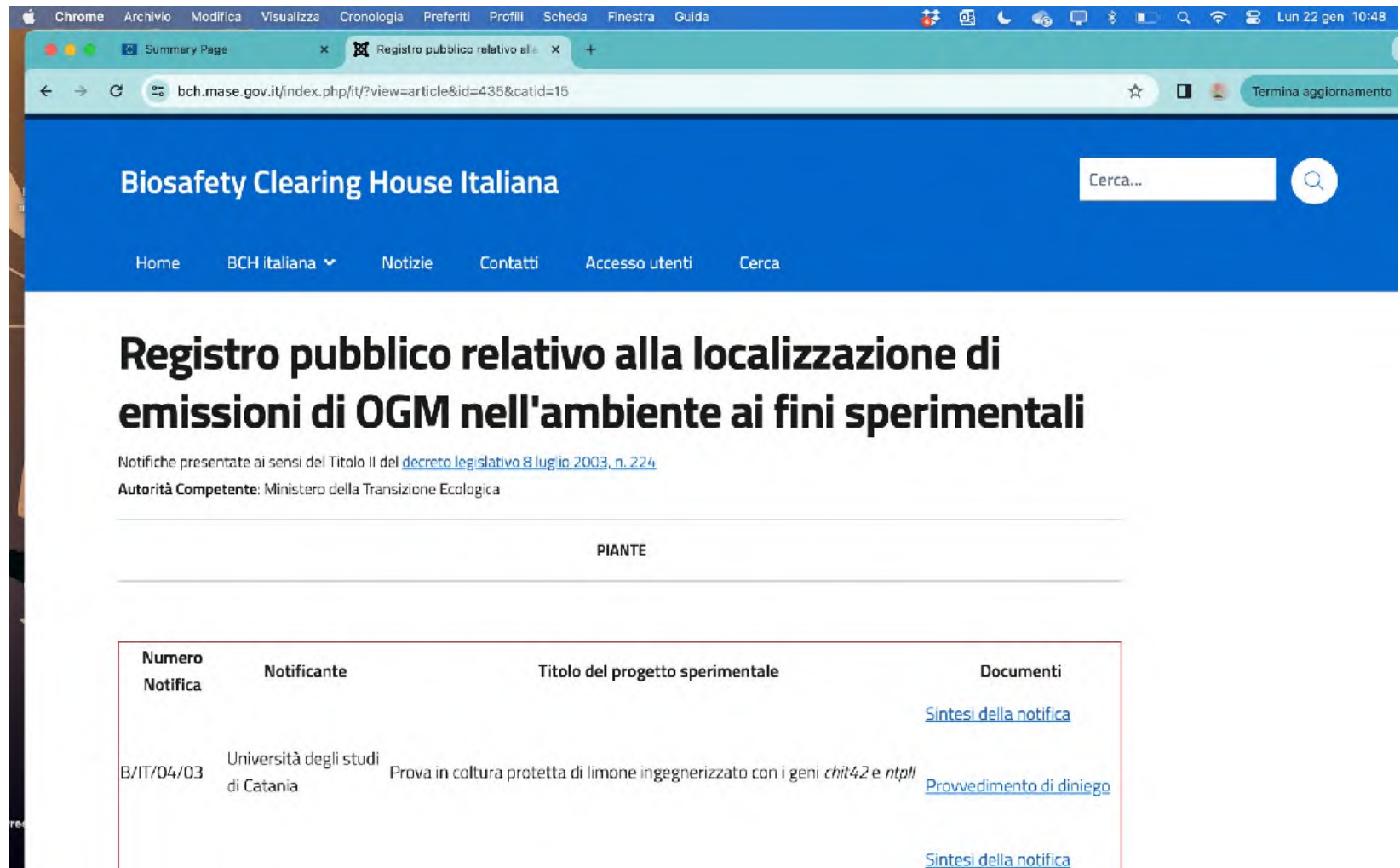
Dal 1° gennaio 2025, secondo quanto disposto con [Circolare RGS del 16/12/2024, n. 41](#), tali pagamenti devono essere effettuati sul conto corrente della Tesoreria Unica della Banca d'Italia:

1. **Pagamento di € 1549,37**, per l'istruttoria della notifica, effettuato a cura del notificante sul conto corrente della Tesoreria Unica della Banca d'Italia (Capitolo 2592/12 CAPO 32, CODICE IBAN IT98T0100003245BE00000001ZM);
2. **Pagamento di € 51,65**, per il rilascio del provvedimento di autorizzazione o diniego, effettuato a cura del notificante sul conto corrente della Tesoreria Unica della Banca d'Italia (Capitolo 2592/12 CAPO 32, CODICE IBAN IT98T0100003245BE00000001ZM).

Per entrambi i pagamenti deve essere riportata la seguente causale: ***Notifica di emissione deliberata nell'ambiente di OGM a scopo di ricerca e sviluppo (art. 38 D.L.vo n. 224/2003), cap. 2592, art. 12, Ministero dell'Ambiente e della sicurezza energetica.***



Last notification of GMO plants before ours was from 2004 and was rejected






The screenshot shows a web browser window with the address bar displaying `bch.mase.gov.it/index.php/it/?view=article&id=435&catid=15`. The page title is "Registro pubblico relativo alla localizzazione di emissioni di OGM nell'ambiente ai fini sperimentali". The page content includes a table with the following data:

Numero Notifica	Notificante	Titolo del progetto sperimentale	Documenti
B/IT/04/03	Università degli studi di Catania	Prova in coltura protetta di limone ingegnerizzato con i geni <i>chit42</i> e <i>ntpII</i>	<a href="#">Sintesi della notifica</a> <a href="#">Provvedimento di diniego</a> <a href="#">Sintesi della notifica</a>

exact location of experimental field has  
to be published online even before  
approval- requirement of the Italian law

webgate.ec.europa.eu/fip/GMO\_Registers/GMO\_Part\_B\_Plants.php

Official EU website of the European Union How do you know? ▾

 European Commission | GMO Log in  English 

Live, work, travel in the EU

**Deliberate Release into the environment of plants GMOs**

**for any other purposes than placing on the market (experimental releases)**

European Commission > Food, Farming, Fisheries > Food Safety > Plants > Genetically Modified Organisms > GMO registers > Part B - Plants

Filter by

Keyword

Additional filters

Notification Number

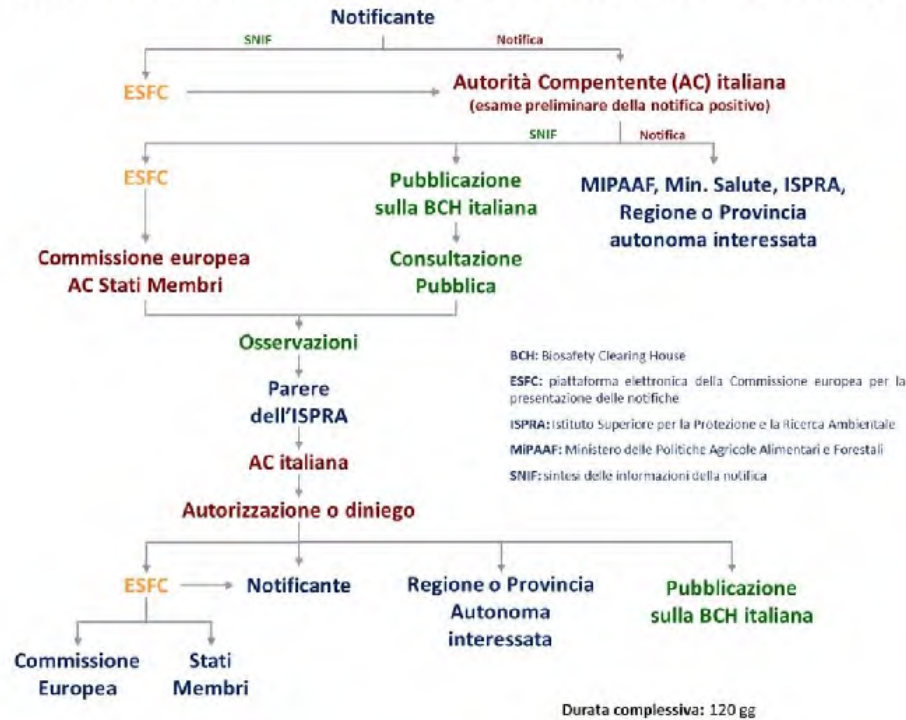
**List of SNIFs submitted to the Member State's Competent Authorities under Directive 2001/18/EC (after 17 October 2002)**

Showing result 1 to 25 of total 930 records Previous page | Next page

Notification Number: BAT/24/01	Member State: Italy	Publication: 20/01/2024	Consent given by the Member State Competent Authority: Not known
Name of the Institutes or Companies: Università degli Studi di Milano			
Project title: Field trial of NGT1/TEA rice experimental lines for resistance to rice blast			

subsequently, the EXACT location is also published on the Ministry of the Environment website

PROCEDURA DI AUTORIZZAZIONE AI SENSI DEL TITOLO II DEL DECRETO LEGISLATIVO n. 224/2003



- [Pubblico registro delle notifiche presentate in Italia](#) (vedi anche [GMO Register della Commissione europea](#))
- [Modalità di presentazione delle notifiche per l'emissione deliberata nell'ambiente di OGM a scopo sperimentale](#)

1a  
GEOLOCALIZZAZIONE  
è richiesta da:  
- [decreto legislativo](#) n.  
224/2003 - art.  
12, comma 6, art.  
27, comma 4,  
articolo 30,  
comma 1, e  
allegato III B e  
- [Consiglio](#) 813  
del 2002 che  
stabilisce il  
modello del  
Summary  
Notification  
Information  
Format



On the 2nd of January we submitted an application to plant our Ris8imo rice plants in Federico Radice Fossati farm in Lomellina (PAVIA)



FONDAZIONE BUSSOLERA BRANCA



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO  
DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE  
E AMBIENTALI - PRODUZIONE,  
TERRITORIO, AGROENERGIA



DiSAA



Pi21  
HMA2  
HMA1

**AL Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica**  
DIREZIONE GENERALE PATRIMONIO NATURALISTICO E MARE  
**Al Capo Dipartimento amministrazione generale, pianificazione e patrimonio naturale (DiAG) dott.ssa Loredana Gulino DiAG@mase.gov.it**

**NOTIFICA RELATIVA ALLA RICHIESTA DI EMISSIONE IN PIENO CAMPO DI PIANTE DI RISO TEA (prodotto tramite Tecniche di Evoluzione Assistita) DEL TIPO NGT-1 (New Genomic Techniques di categoria 1) , in coerenza con il Titolo II del decreto legislativo 8 luglio 2003, n. 224, per organismi prodotti con tecniche di editing genomico e del comma 5 dell'articolo 9-bis, della legge 13 giugno 2023, n. 68, per l'autorizzazione all'emissione deliberata nell'ambiente di organismi prodotti mediante mutagenesi sito-diretta o di cisgenesi a fini sperimentali e scientifici.**  
Secondo le indicazioni contenute nell'allegato III del decreto legislativo 8 luglio 2003 numero 224.

ACRONIMO: ***RIS8imo***

**Richiesta di sperimentazione in pieno campo con riso (*Oryza sativa*) della tipologia NGT-1, varietà Telemaco con delezioni in nei geni *Pi21*, *HMA1* e *HMA2*.**  
**In coerenza con la legge 68/2023 che recita "Per consentire lo svolgimento delle attività di ricerca presso siti sperimentali autorizzati, a sostegno di produzioni vegetali in grado di rispondere in maniera adeguata a condizioni di scarsità idrica e in presenza di stress ambientali e biotici di particolare intensità, nelle more dell'adozione, da parte dell'Unione europea, di una disciplina organica in materia"**  
**In coerenza con la Deliberazione N° XI / 7526 Seduta del 15/dicembre/2022 della Regione Lombardia**

on the 27th of march we received authorization



All'Università degli Studi di Milano  
Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali,  
Produzione, Territorio e Agroenergia  
c.a. responsabile della sperimentazione prof.ssa Vittoria Francesca Brambilla  
direzione.disaa@pec.unimi.it  
direttore.disaa@unimi.it  
vittoria.brambilla@unimi.it

Alla Regione Lombardia  
Direzione Generale Agricoltura, Sovranità Alimentare e Foreste  
c.a. dott. Andrea Massari  
agricoltura@pec.regione.lombardia.it

c.a. dott.ssa Elena Brugna  
elena\_brugna@regione.lombardia.it

e, p.c., Al Ministero dell'agricoltura, della sovranità alimentare e delle foreste  
Direzione generale dello sviluppo rurale  
c.a. dott.ssa Simona Angelini  
cosvir.direzione@pec.politicheagricole.gov.it

Al Ministero della Salute  
Direzione generale per l'igiene e la sicurezza degli alimenti e la nutrizione  
c.a. dott. Ugo Della Marta  
dgsan@postacert.sanita.it

**Oggetto: Notifica B/IT/24/01 per l'emissione deliberata nell'ambiente di OGM per qualsiasi fine diverso dall'immissione sul mercato ai sensi dell'articolo 9-bis del decreto-legge 14 aprile 2023, n. 39, convertito con modificazioni dalla legge 13 giugno 2023, n. 68 – Rilascio del provvedimento di autorizzazione**

Si trasmette in allegato il provvedimento in oggetto con cui si autorizza codesto Dipartimento a effettuare la sperimentazione concernente prove in pieno campo con piante di riso varietà "Telemaco", modificate con tecniche di *editing* del genoma in grado di incrementarne la tolleranza

Div. IV/MA/mb  
ID Utente: 7106  
ID Documento: PNM\_04-7106\_2024-0025  
Data stesura: 11/03/2024

✓ Resp. Div.: Andreella M.  
Ufficio: PNM\_04  
Data: 26/03/2024



FONDAZIONE BUSSOLERA BRANCA



**DiSAA**  
DIPARTIMENTO  
di SCIENZE  
AGRARIE e  
AMBIENTALI



# **SPERIMENTAZIONE DI RISO «RIS8imo» TEA**

Notifica «B/IT/24/01» autorizzata dal  
Ministero dell'Ambiente e della  
Sicurezza Energetica in data 27 marzo  
2024 per l'emissione deliberata  
nell'ambiente di OGM per qualsiasi  
fine diverso dall'immissione sul  
mercato ai sensi dell'articolo 9-bis  
del decreto-legge 14 aprile 2023, n.  
39, convertito con modificazioni  
dalla legge 13 giugno 2023, n. 68



on the 13th of may be brought the plants to the field









NEWS | 28 January 2024

## Green shoots of hope for Italy's first gene-edited crop field trial

Temporary relaxing of regulations brings request for outdoor trial of fungus-resistant rice variety.

By [Anna Meldolesi](#)[Leggi in italiano](#)

Rai Radio 3 | Canale | RaiPlay Sound

Cultura, musica e approfondimenti. Segui la diretta di Rai Radio 3, scopri i podcast e i tuoi programmi preferiti.

[www.raiplaysound.it](http://www.raiplaysound.it)dalle 11.30 in poi Vittoria a Radio 3 Scienza: <https://www.raiplaysound.it/radio3>

11:54

# CI VUOLE UNA SCIENZA

il POST

**Cosa vuol dire davvero "farmaco carente"**

Listen to this episode from Ci vuole una scienza on Spotify. Negli ultimi giorni si è parlato molto della... [open.spotify.com](https://open.spotify.com)

## IL FOGLIO

grafico

Israele Governo Meloni

Editoriali [Leggi il Foglio](#) News

L'ANALISI

## Il riso della vittoria. Dopo aver perso il treno degli ogm, l'italia prenda quello delle Tea

DI ROBERTO DEFEZ / 31 GEN 2024





DUE PUNTI



BIOINGEGNERIA

# LA GENETISTA E IL CORAGGIO DI SPERIMENTARE IL RISO CHE NON SI AMMALA

Dopo il furioso dibattito sugli Ogm, da vent'anni in Italia nessuno aveva più osato chiedere l'autorizzazione per seminare in campo aperto piante con il DNA ritoccato. Il salto nel futuro lo ha fatto Vittoria Brambilla, dell'Università di Milano: il suo passo lascia sperare che nel 2024 biotecnologie ed ecologia possano finalmente essere alleate

DI ANNA MELDOLESI

Chi si ferma è perduto, perché alla fine è tutta una questione di evoluzione. Mutando, gli organismi

DOMANDE &  
RISPOSTE  
Anna Meldolesi

DI CHIARA LALLI

L'agricoltura è una delle cose più innaturali che ci siano. Eppure, specialmente per chi in campagna

(segue dalla prima pagina)

Dopo un lungo percorso, i deputati europei hanno approvato l'inizio della deregolamentazione dei "nuovi Ogm" o dei "non Ogm", a seconda dei punti di vista. Si tratta delle nuove biotecnologie, chiamate Ngt (Nuove tecniche genomiche) o nella definizione italiana Tea (Tecniche di evoluzione assistita), che modificano il materiale genetico delle piante per sviluppare piante più resistenti alle malattie. Queste nuove tecniche, come ad esempio l'editing genomico, si differenziano dai "vecchi" Ogm (perché ad esempio non si usa materiale genetico esterno alla pianta o di altra specie) ma in sostanza puntano allo stesso obiettivo: avere piante geneticamente "migliori", cioè più resilienti e che possano ridurre l'uso di fitofarmaci. Attualmente, le piante ottenute con le Ngt-Tea sono soggette alle stesse regole degli Ogm e, pertanto, l'obiettivo della nuova regolamentazione è quello di separare il destino di queste due biotecnologie in modo da consentire lo sviluppo di questo promettente filone di ricerca per, appunto, rendere il sistema alimentare più sostenibile sia dal punto di vista ambientale che economico.

Avere, ad esempio, un riso resi-

## Campo largo ogm

La protesta dei trattori manda in cortocircuito la eco-sinistra. Il caso del voto Ue sulle Ngt/Tea

Foto: L'Espresso / Contrasto  
Dopo il voto del Parlamento europeo, la protesta dei trattori ha messo in cortocircuito la eco-sinistra. Il caso del voto Ue sulle Ngt/Tea

## Campo largo ogm

Pd spaccato e M5s smentito da Beppe Grillo sulle nuove biotecnologie in agricoltura

vo, in generale, è quello di avere un quadro regolatorio più moderno e aperto all'innovazione per proteggere le varietà tradizionali dal cambiamento climatico e dalle malattie. Il Parlamento europeo ha votato per questa proposta, che ora passa al Consiglio e ai ministri dei 27 paesi membri, con 307 voti favorevoli, 263 contrari e 41 astensioni. Da un lato la posizione di chi dice sì alle nuove tecniche "buone" perché diverse dalle vecchie "cattive", dall'altro quella di chi dice no a tutto. La destra italiana ha votato compattamente a favore, mentre il quadro nel campo delle opposizioni è molto più complicato. Per non dire incomprensibile. Il M5s, ad esempio, ha votato contro. Il problema, però, è che il gruppo grillino a Strasburgo è stato smentito praticamente in diretta dal Garante del Movimento. Ieri Beppe Grillo, in un post sul suo blog, solidarizzando con le ragioni degli agricoltori stretti nella morsa tra sostenibilità economica e regole ambientali ha elencato le misure per affrontare il problema. Al primo posto c'è: "Sostenere la ricerca delle Ngt (tecniche genomiche non Ogm) che potranno consentire di avere produzioni meno fragili e con minor richiesta di input ambientali".

Patuanelli. E, non a caso, nella scorsa legislatura il M5s aveva depositato una proposta di legge (Gallinella) che apriva alle nuove biotecnologie, poi ripresa quasi integralmente dal Fratelli d'Italia (De Carlo) e presentata in questa legislatura. Non è più chiara la posizione del Pd che, come spesso accade, ha votato metà a favore e metà contro. Da un lato c'è stato il sì del massimo esperto dei temi dell'agricoltura Paolo De Castro (insieme a Bresso, Gualmini, Picerno, Rondinelli e Variati), dall'altro il no del capodelegazione dem Brando Benifei (insieme a Bartolo, Covassi, Laureti e Moretti, più Pisapia, Smeriglio e Cozzolino che ora è fuori dal gruppo). Ciò che è paradossale, in questa storia, è che le associazioni degli agricoltori sono favorevoli alle nuove biotecnologie, sia quelle come Confagricoltura storicamente pro Ogm, ma anche la stessa Coldiretti che negli anni ha condotto un'oscurantista battaglia contro gli Ogm. Ciò che a sinistra si sente è il richiamo delle organizzazioni ambientaliste, da Legambiente a Greenpeace passando per il Wwf e Slow food, che sono assolutamente contrarie sia ai vecchi sia ai nuovi Ogm. Il problema, però, è che se agli agricoltori

IL FOGLIO

Diffusione: 25.000





in the night of the 21st of June 2024 unknown  
vandals destroyed the field





# Distrutto! Vandals destroy experimental rice field in Italy



KamounLab · Follow

6 min read · 3 days ago



FAMIGLIA VITA ECONOMIA CIVILE OPINIONI NEWSLETTER PODCAST

Home Economia Beni Lavoro Motori Risparmio Sviluppo Isiti

## Agricoltura. Un attacco vandalico ha compromesso la sperimentazione del riso Tea

Paolo Vena venerdì 23 giugno 2024

SENZA ECONOMIA CULTURA GADGET SECURITY SCRITTI IDEE VIDEO PODCAST WIREO CONSIGLI

PIETRO DERAGNI

IL CASO 21.06.2024

## Riso Tea, il primo campo in Italia è stato distrutto

Si trova in provincia di Pavia, è gestito dalla Statale di Milano e serve a sperimentare le potenzialità di questa tecnologia, alternativa agli ogm

IL FOGLIO

quotidiano

zioni europee

Podcast Editoriali Leggi il Foglio

RISO AMARO

## Gli ecoterroristi responsabili di aver distrutto i campi sperimentali di riso Tea non prevarranno

DI ROBERTO DEFEZ / 22 GIU 2024



Prima pagina 19/06

## Sconcerto e tristezza: distrutto il primo campo TEA italiano



POST

Shoo

ITALIA Venerdì 23 giugno 2024

## È stata distrutta una coltivazione sperimentale di riso in provincia di Pavia

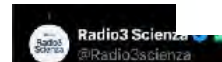
Era stata realizzata dall'Università Statale di Milano ed era il primo esperimento in campo autorizzato sui nuovi metodi di modifica genetica: qualcuno ha rimosso le protezioni e distrutto le piante

Condividi



## DISTRUTTA LA RISAIA TEA

da admin | 21 Giu 2024 | NEWS



"Il riso Telemaco #Ris8imo è stato ottenuto con le tecniche di evoluzione assistita, non è un OGM. In una notte è stato distrutto il campo frutto del lavoro di anni del nostro gruppo e degli agricoltori, per cui questo riso è stato pensato" @vittoriabr @LaStatale





some plants survived but the  
experiment was not significant



15th of July 2024



17th of September 2024

«La Commissione Industria e Agricoltura del Senato ha accolto l'emendamento del DL Agricoltura presentato da Luca De Carlo e Giorgio Bergesio che proroga la sperimentazione in campo delle Tecniche di Evoluzione Assistita (TEA) fino al 31 dicembre 2025»



we collected seeds and started  
working for a Ris8imo - bis



# We applied for a Ris8imo bis with more varieties

- **Nome linea: VIALONE NANO TEA 1\***
- -gene *Os04g0621500*: delezione di 2bp
- 
- **Nome linea: TOMMASO TEA 1**
- -gene *Pi21*: inserzione di 1A;
- -gene *Gn1a/OsCKX2* delezione di 5bp;
- 
- **Nome linea: TOMMASO TEA 2**
- -gene *Pi21*: inserzione di 1A;
- -gene *Gn1a*: delezione di 2bp
- 
- **Nome linea: TOMMASO TEA 3**
- -gene *Pi21*: inserzione di 1A;
- -gene *Gn1a* delezione di 5 bp
- 
- **Nome linea: PACIFICO TEA 1**
- -gene *Pi21*: inserzione di 1G;
- -gene *Gn1a*: sequenza identica al *wt*
- 
- **Nome linea: PACIFICO TEA 2**
- -gene *Pi21*: inserzione di 1A;
- -gene *Gn1a*: inserzione di 1C;

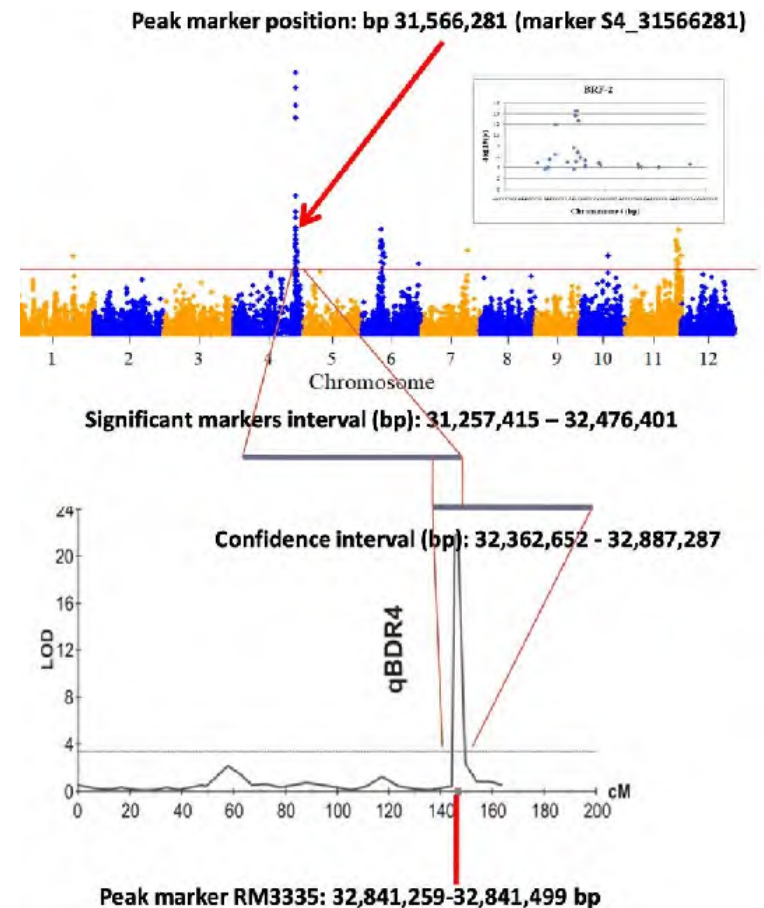
APPLICATION NUMBER: B/IT/25/01



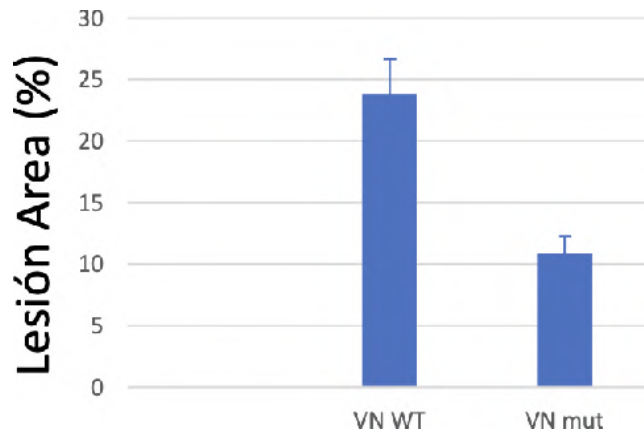
# \*Another gene possibly involved in blast resistance

collaboration with:

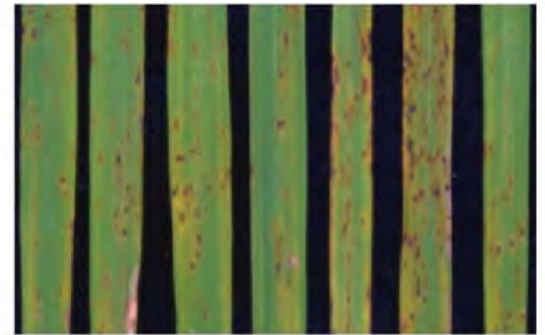
- Giampiero Valè Università del Piemonte Orientale, Vercelli
- Blanca San Segundo CRAG, Bacellona, Spagna



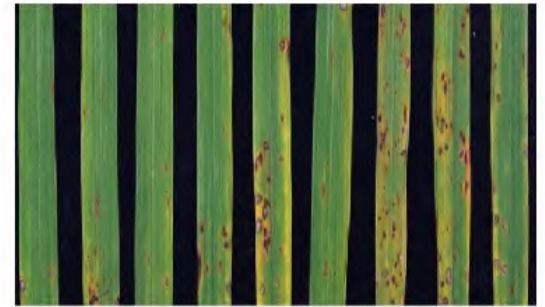
# CRISPR lines show increased resistance to leaf inoculation in the lab



VN  
(Azy)



CRISPR



ec.europa.eu/food/food-feed-portal/screen/gmob/search/details/POL-OMOB-12341


<p><b>General information</b></p>	<p>Is the recipient or parental plant a forest tree species? <input type="checkbox"/> No</p>
<p>Genetically modified plant</p>	
<p>Genetic modification</p>	
<p>Experimental release</p>	
<p>Environmental Impact and Risk Management</p>	
<p>European Commission Administrative Information</p>	
<p>Final report</p>	









  

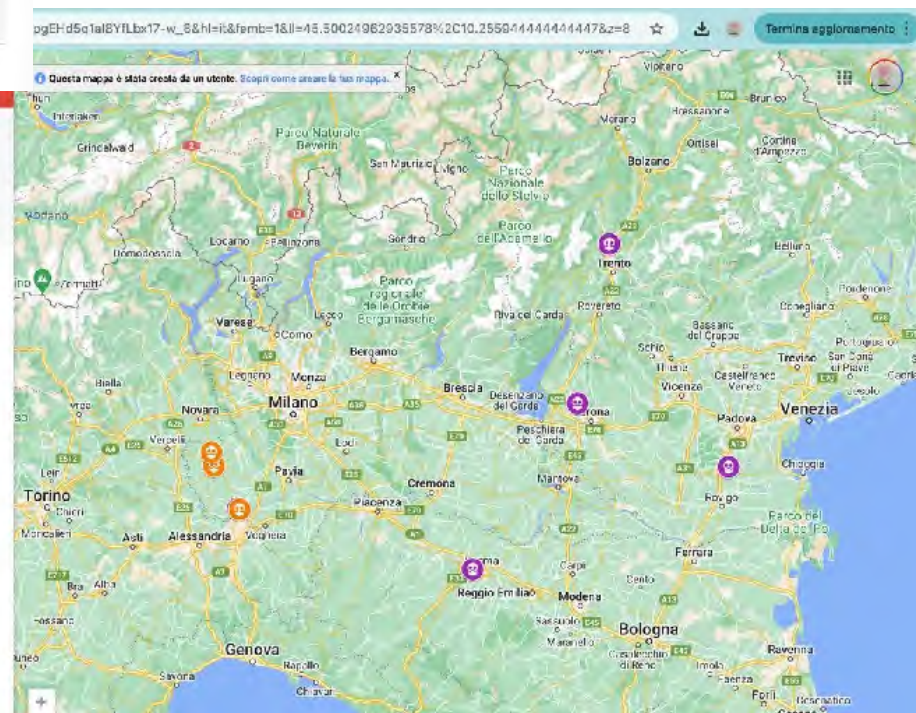
<p><b>Purpose of the release</b></p>	<p>The purpose of the release is to verify in a field trial the tolerance to rice blast of plants carrying deletions compared to their parental lines, when no fungicides are applied during the cultivation period.</p>
<p><b>Geographical location of the site</b></p>	<p>Società Agricola Federico Radice Fossati, Mezzana Bigli (PV), Lombardia - 45°03'38.5"N 8°E1'10.5"E; Ente Risi, azienda agricola di Castello d'Agogna (PV), Lombardia - 45°14'46.1"N 8°41'58.2"E; Società Agricola Lovati S.S., Cascina Cavallina, Borgolavezzare (NO), Piemonte - 45°18'22.8"N 8°41'01.1"E.</p>
<p><b>Size of the site (m²)</b></p>	<p>304m2 per site</p>
<p><b>Relevant data regarding previous releases carried out with the same GM-plant, if any, specifically related to the potential environmental and human health impacts from the release</b></p>	<p>Isolemaco 1EA1 and Isolemaco 1EA2 plants have already been released following authorization from the Italian Ministry of environment (MASL-notification B/11/24/01).</p>

## Environmental Impact and Risk Management

Questa mappa riporta le coordinate geografiche così come dichiarate nelle richieste depositate al Ministero dell'Ambiente da enti pubblici e ZIR visualizzazioni  
Pubblicato 13 giorni fa  
[CONDIVIDI](#)

 **Sperimentazioni di nuovi OGM/TEA (NGT)**

-  Vite OGM/TEA
-  Pomodoro OGM/TEA
-  Vite OGM/TEA
-  Vite OGM/TEA
-  Riso OGM/TEA
-  Riso OGM/TEA
-  Riso OGM/TEA
-  Riso OGM/TEA





on the 30th of September 2024 the group of Sara Zenoni and Mario Pezzotti planted in Valpolcella (VR) the first field trial with genome edited grapevine, resistant to downy mildew



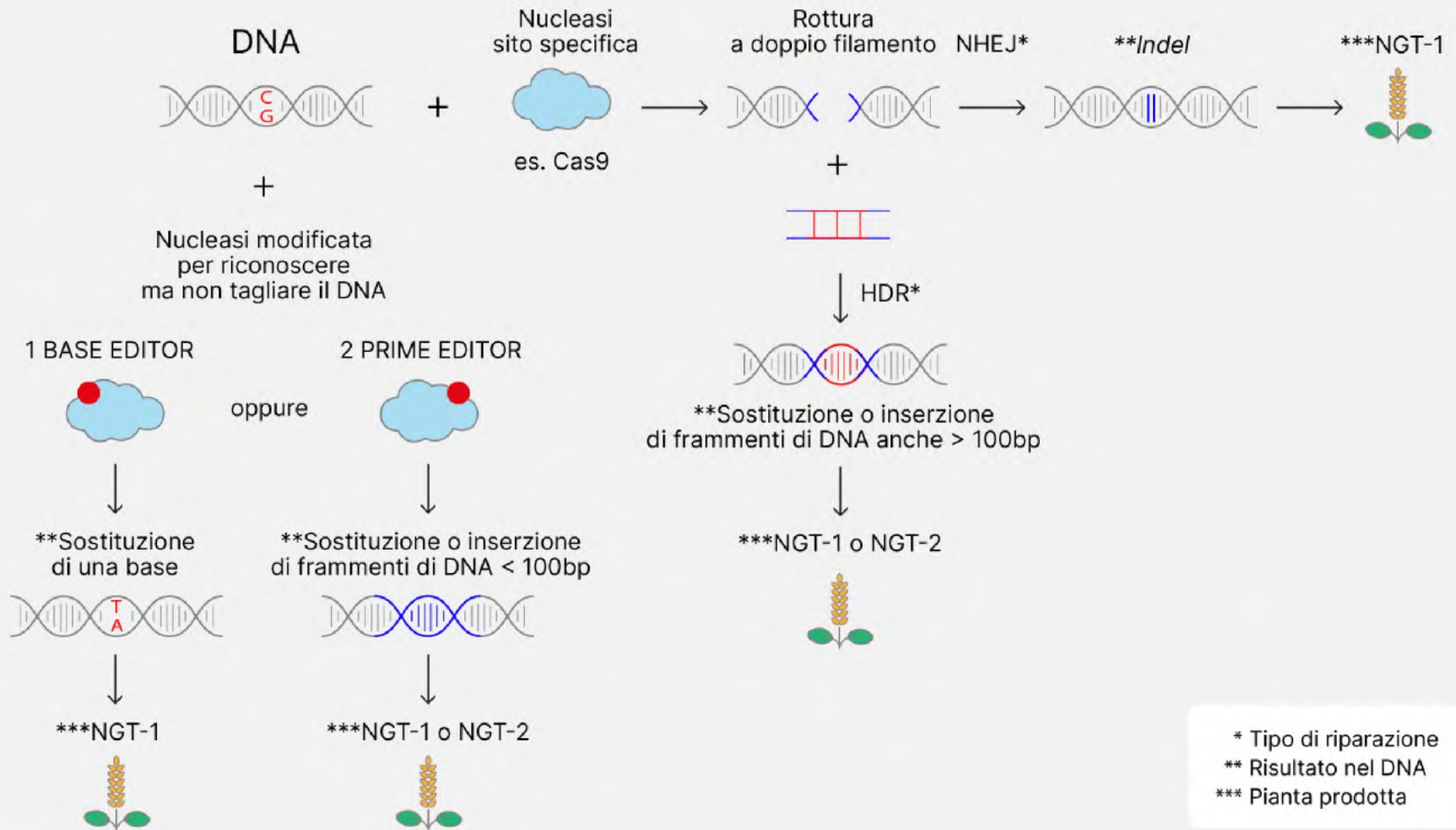
november 2024

Destroyed by  
unknown  
vandals on  
the 13th of  
February 2025





# BEYOND SINGLE GENES KNOCK OUT

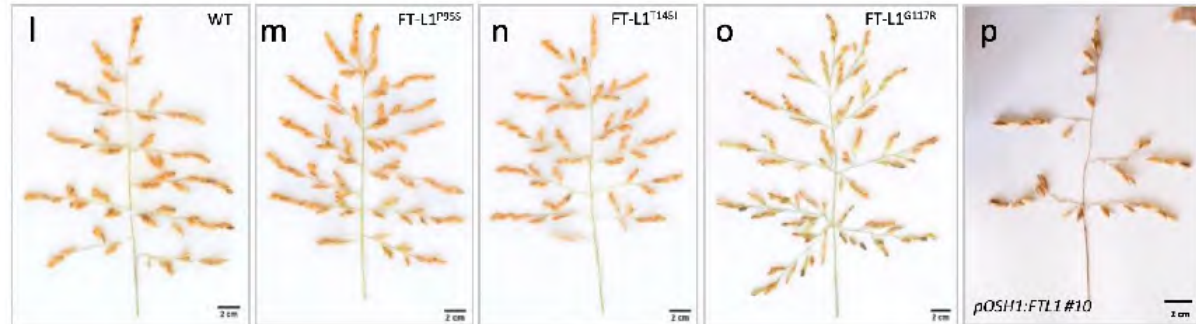




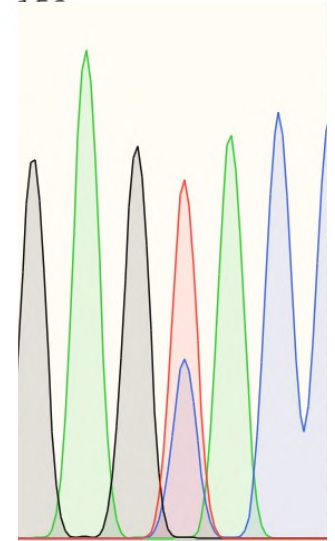
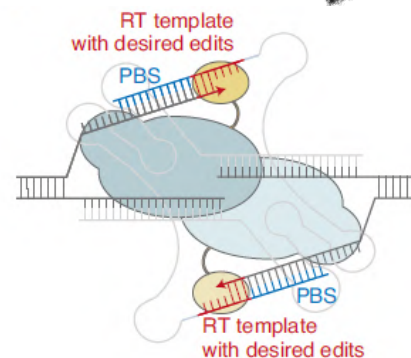
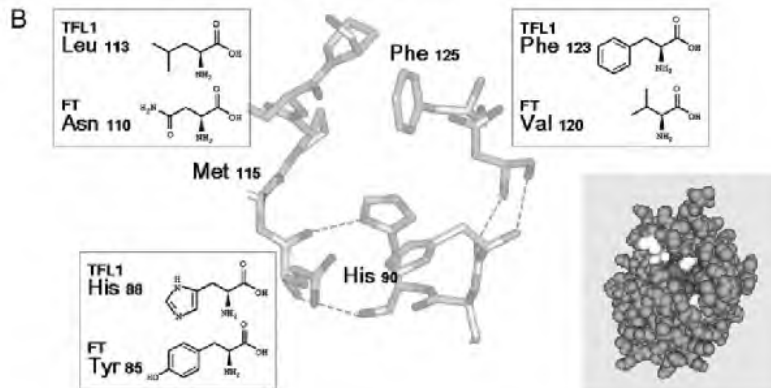
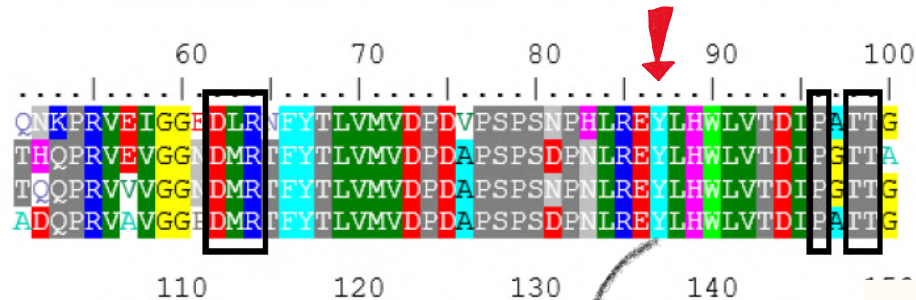
# PRIME EDITING TO ACHIEVE AN AMINOACIDIC SUBSTITUTION IN OSFT-L1 AND IMPROVE SEED NUMBER PER PANICLE



Giulia Ave Bono



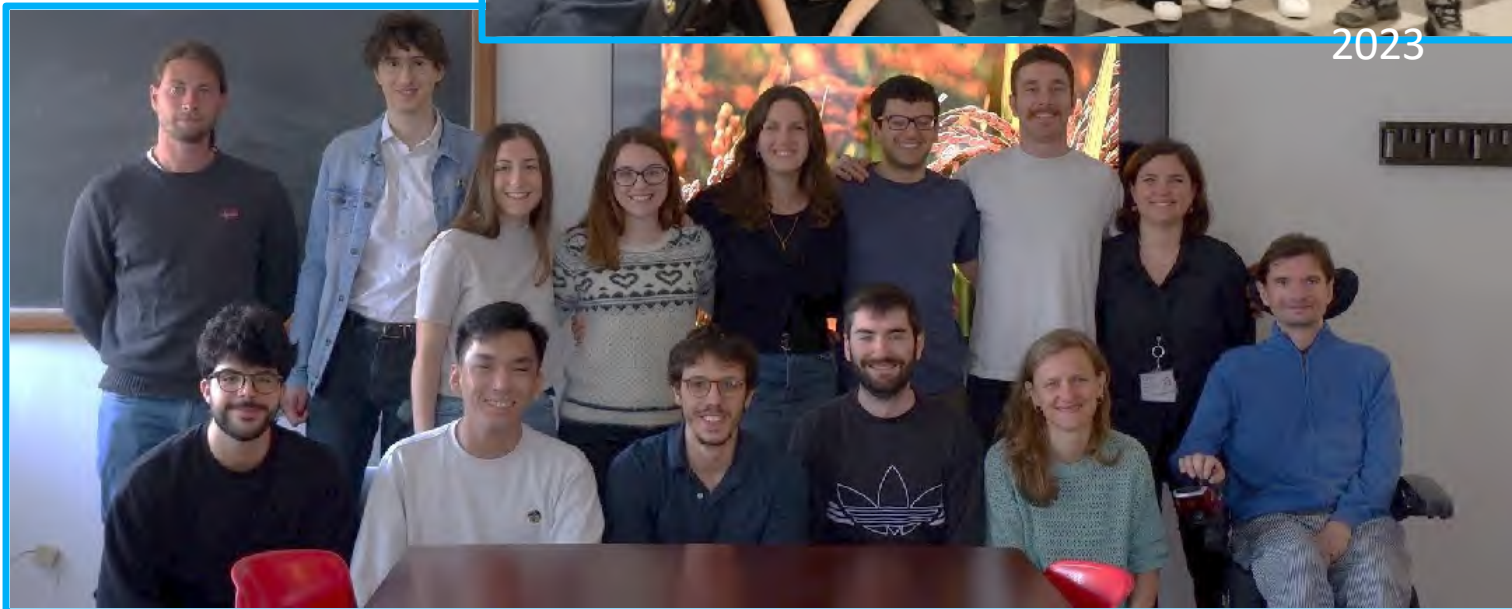
FT (*Arabidopsis thaliana*)  
Hd3a (*Oryza sativa*)  
RFT1 (*Oryza sativa*)  
FT-L1 (*Oryza sativa*)



thanks to the young researches of the lab and  
to you for your attention



2023



WEBSITE (soon online) [www.ricelab.unimi.it](http://www.ricelab.unimi.it)

**Subgroup on New Genomic Techniques  
(NGTs)**

**2nd meeting**

**14 May 2025**

**Item 8**

*Considerations for developing a proportionate  
and science-based risk assessment of NGT  
plants in the light of the Commission's proposal*

Federal Office of Consumer Protection and  
Food Safety (BVL) (Germany)





Federal Office of  
Consumer Protection  
and Food Safety

# Considerations for developing a proportionate and science-based risk assessment of NGT category 2 plants in the light of the Commission's proposal

Anastasia Matthies, Department Genetic Engineering and other Biotechnological Processes

### Can we use existing guidelines and adapt them to the new regulation by simply omitting certain requirements?

- Exercise on ticking the requirements of the guidance material using NGT plant case studies
- did not work well - too many "if" and "in case of" - impossible to omit requirements in general due to big variety of possible traits/editings .
- Actual guidance materials are based on the assumption that a transgene is always introduced, i.e. that there is a specific, characterized hazard . This allows for certain test hypotheses and thus specific requirements for risk assessment.



For the NGT, we need a separate approach that is more case specific.  
Generally applicable requirements will not be possible.

## Consideration of scientific and regulatory frameworks for tailoring of appropriate risk assessment

### Scientific principles of risk assessment

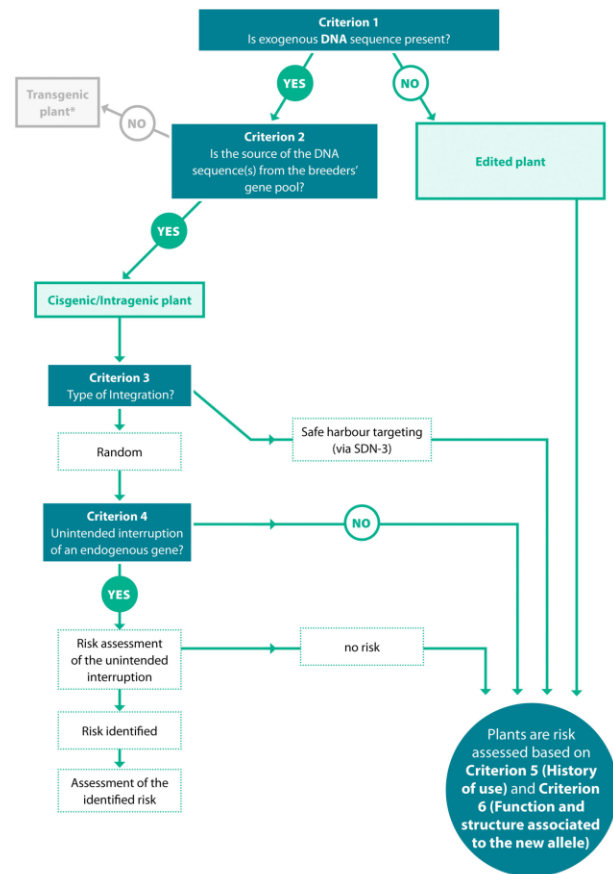
- A science-based approach
- Case-specific
- Principle of problem formulation and hazard identification
- Tiered approach

### Regulatory circumstances

- Political reality reflected in compromises
- Possible strict specifications for risk profiles
- Exemptions/specific regulatory requirements for certain NGT-traits, e.g. HR



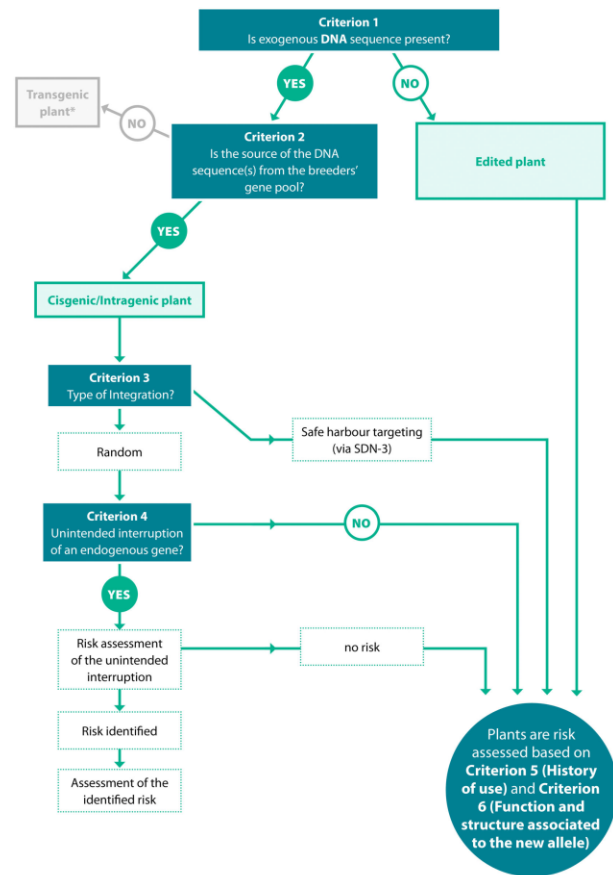
## Consideration of scientific and regulatory frameworks for tailoring of appropriate risk assessment



Proposal for a

**REGULATION OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL**  
**on plants obtained by certain new genomic techniques and their food and feed, and**  
**amending Regulation (EU) 2017/625**

## Consideration of scientific and regulatory frameworks for tailoring of appropriate risk assessment

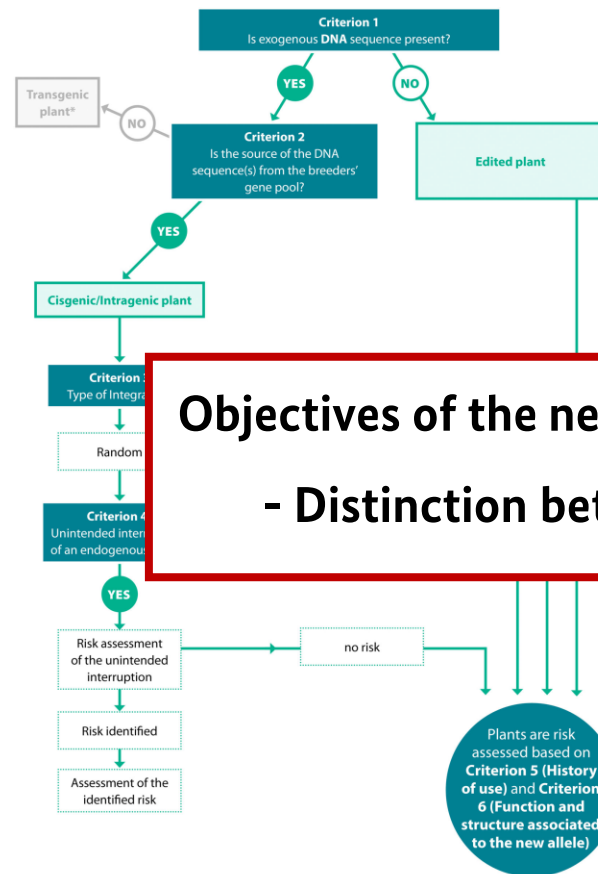


Proposal for a

**REGULATION OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL**  
**on plants obtained by certain new genomic techniques and their food and feed, and**  
**amending Regulation (EU) 2017/625**

- provides a basic structure within risk assessment should take place.
- set out in Annexes I and II.

## Consideration of scientific and regulatory frameworks for tailoring of appropriate risk assessment



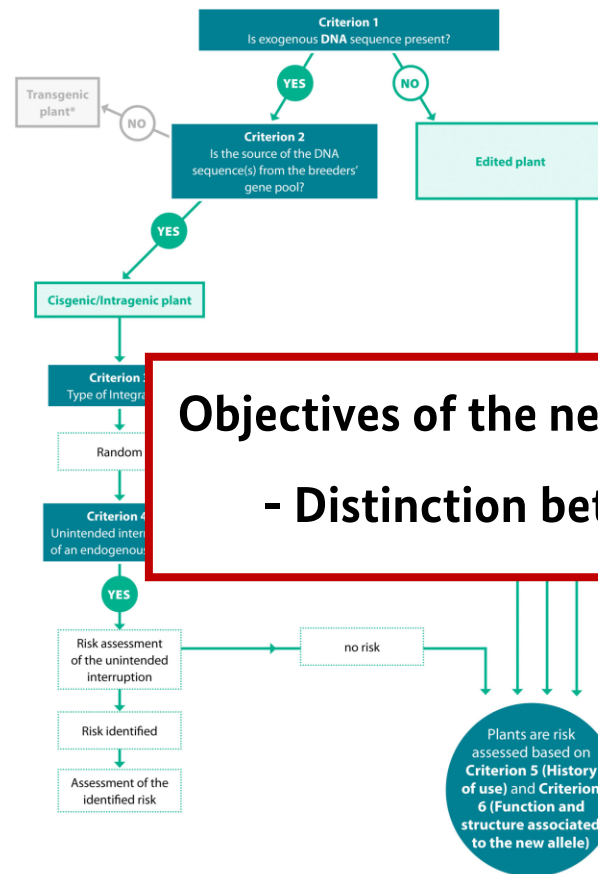
**Objectives of the new regulation: to be appropriate to certain risk profiles**  
**- Distinction between NGT Category 1 and NGT Category 2 plants**

should take place.

- set out in Annexes I and II.



## Consideration of scientific and regulatory frameworks for tailoring of appropriate risk assessment



Proposal for a  
REGULATION OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL

**Objectives of the new regulation: to be appropriate to certain risk profiles**  
**- Distinction between NGT Category 1 and NGT Category 2 plants**

What is the framework for a proportionate risk assessment for NGT category 2 plants set out in the Commission proposal?

## General framework and principles for risk assessment of NGT category 2 plants

### Part 1

- defines general principles of risk assessment (hazard identification and characterization, exposure assessment, risk characterization)
- defines the mandatory and optional requirements
- specifies the conditions under which optional data may be required in addition to the mandatory requirements.

### Parts 2 and 3

- describe optional data requirements

### General framework and principles for risk assessment of NGT category 2 plants

**General principles of risk assessment according to the Directive 2001/18/EC remain:**

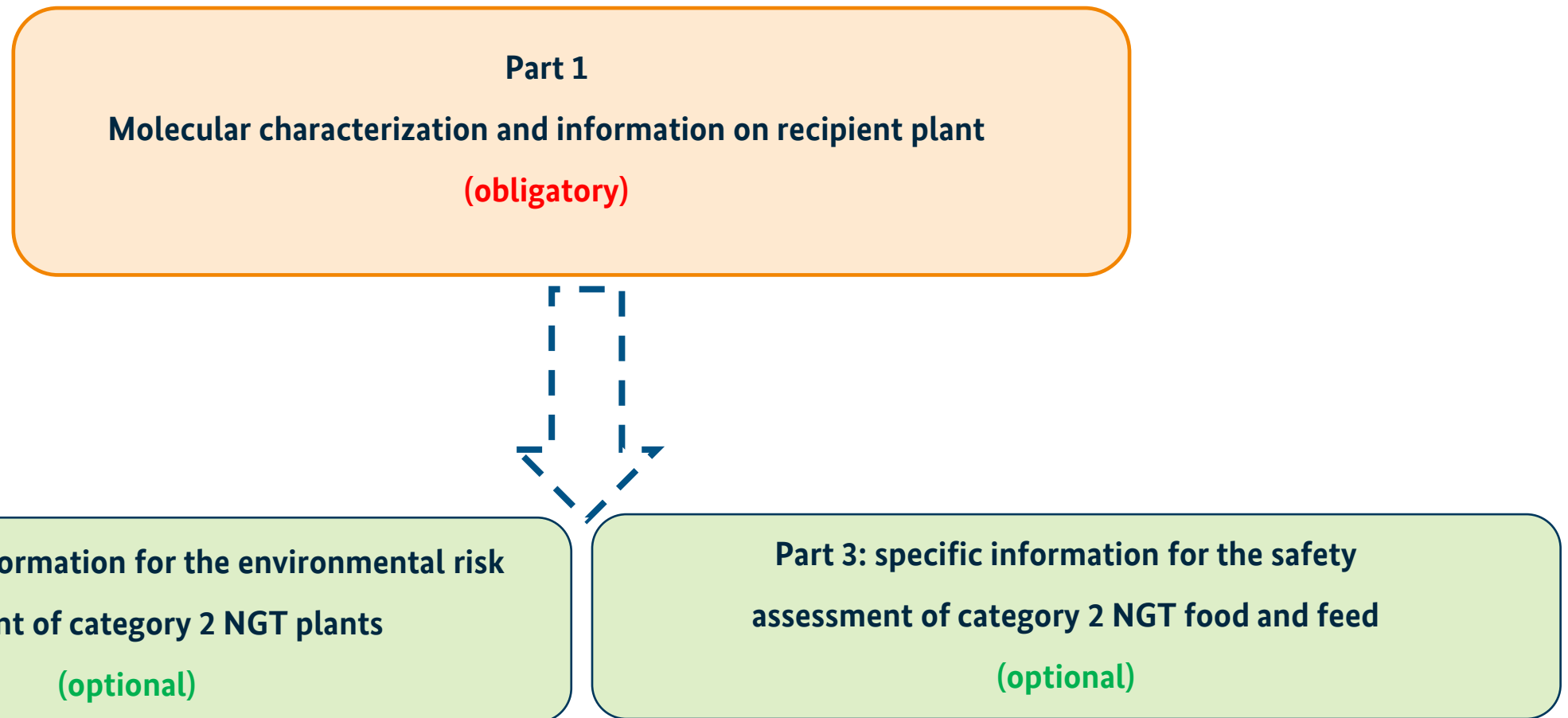
- Hazard identification and characterization
- Exposure assessment
- Risk characterization

**The type and scope of the requirement are adapted to the respective risk profile:**

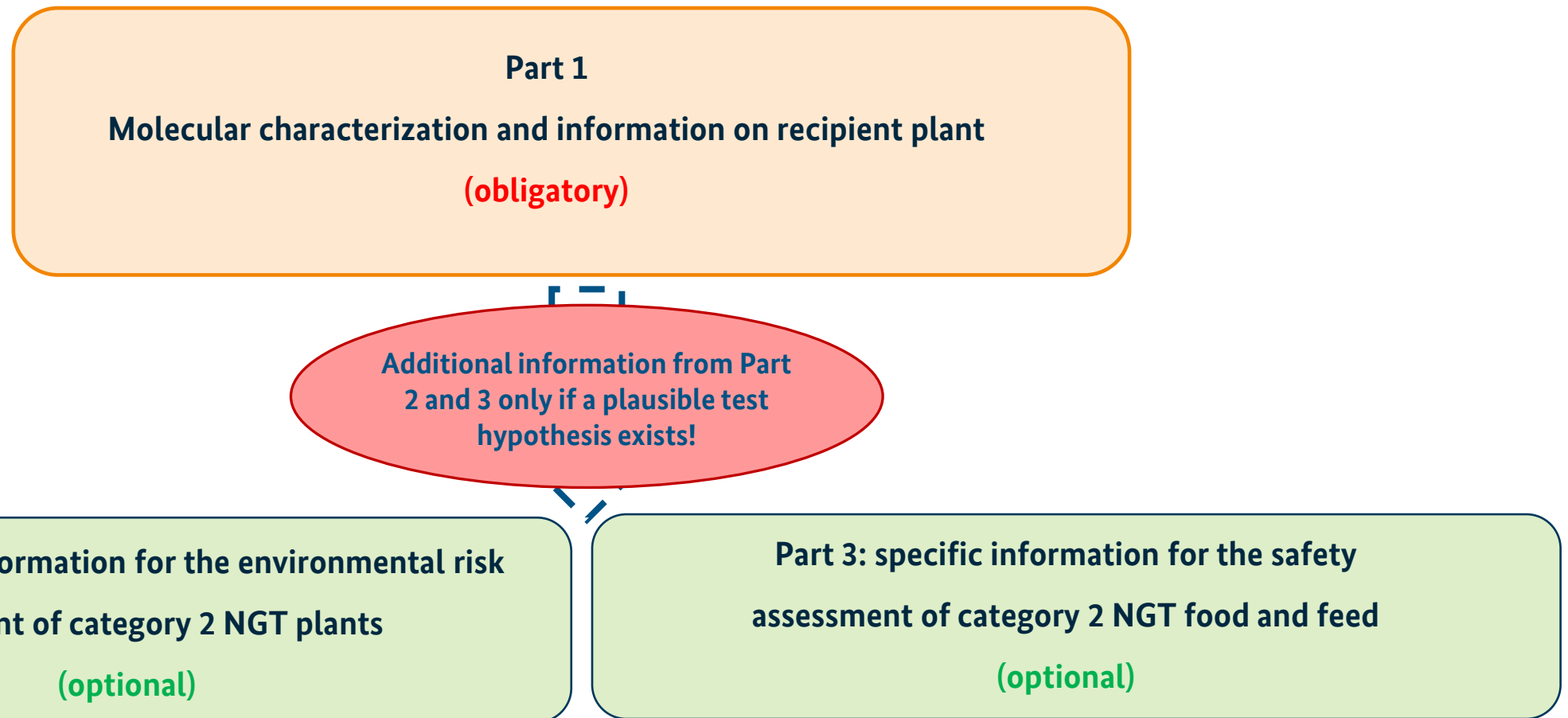
- Characteristics of the NGT plant (trait, function of the inserted/modified or deleted sequences)
- Experience/History of use of the plant/product as food/feed/cultivation (including similar products)
- Scope and circumstances/conditions of release
- Intended use of the NGT plant/product



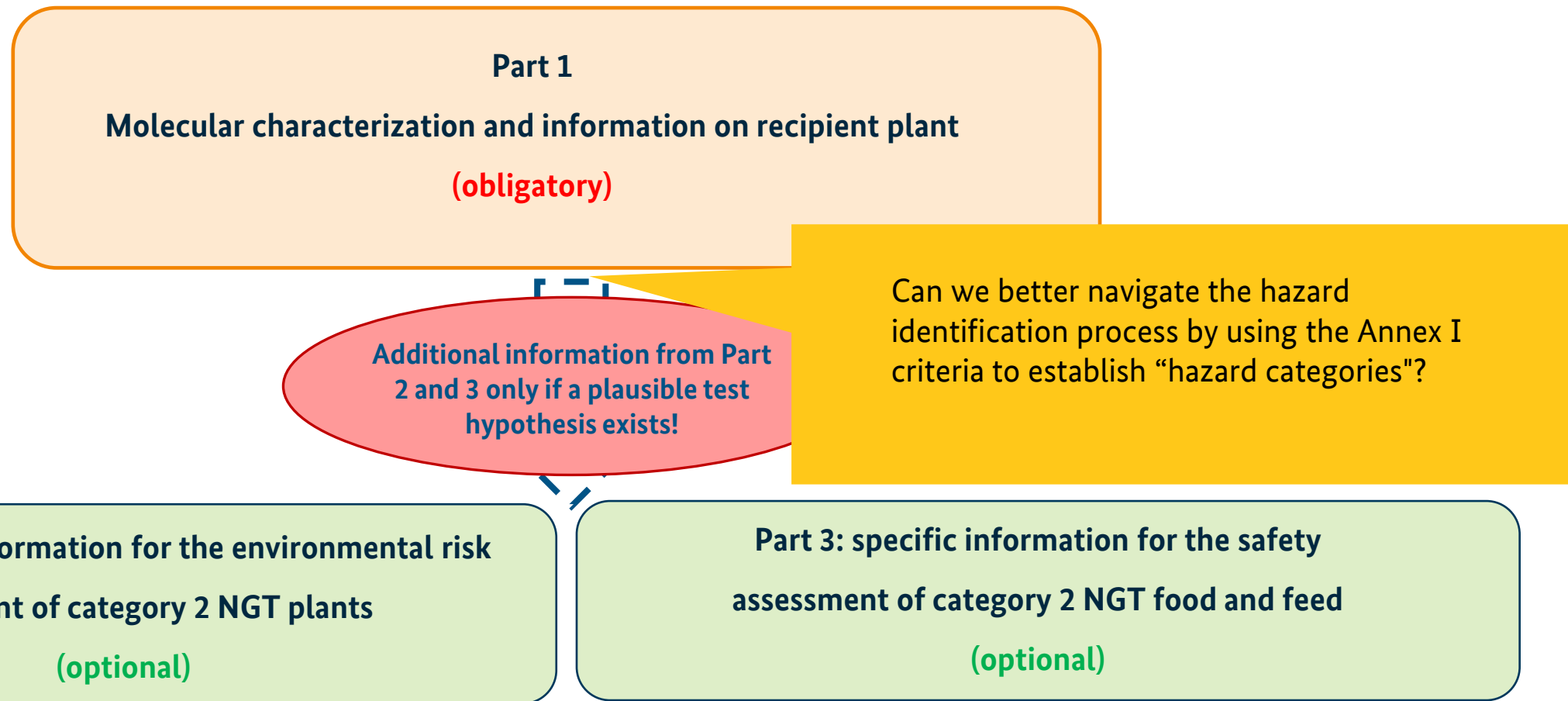
### General framework and principles for risk assessment of NGT category 2 plants



### General framework and principles for risk assessment of NGT category 2 plants



### General framework and principles for risk assessment of NGT category 2 plants





## Identification of “hazard categories” based on equivalence criteria

In addition to the definition of the boundary between category 1 and category 2 NGT plants for management and regulatory purposes, Annex I indicates which aspects may be relevant to risk and thus have to be considered in the risk assessment:

- Interruption of endogenous gene (by cis/intragenesis)
- Expression of chimeric protein(s)
- Long insertions/substitutions (> x bp) in protein coding sequence(s)
- Targeting of multiple genes/gene families

Further politically discussed issues:

- Hazardous characteristics/trait of the recipient plant (e.g. HR)

### ANNEX I

#### Criteria of equivalence of NGT plants to conventional plants

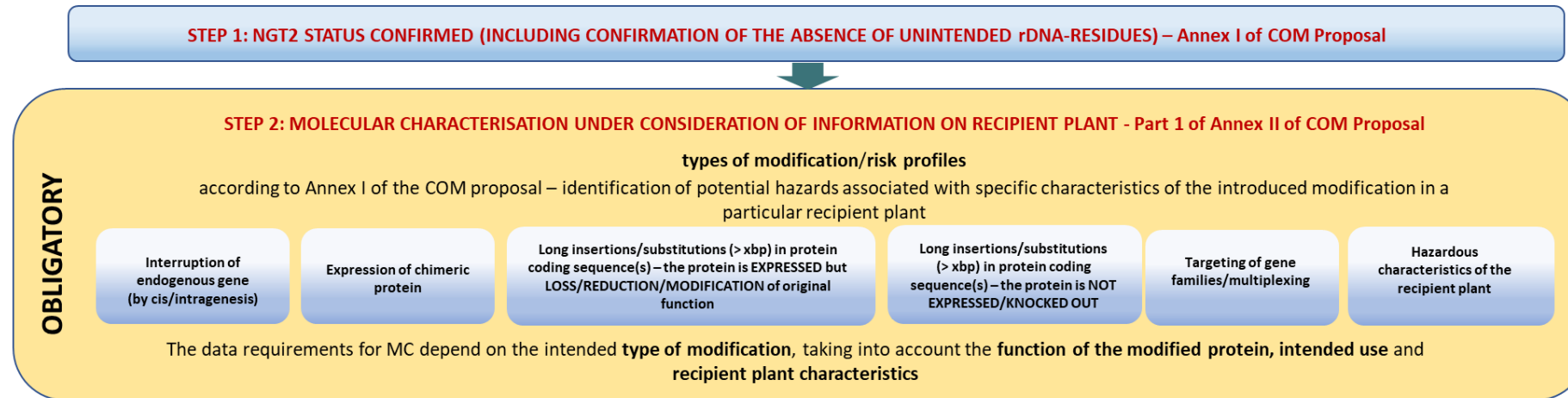
A NGT plant is considered equivalent to conventional plants when it differs from the recipient/parental plant by no more than 20 genetic modifications of the types referred to in points 1 to 5, in any DNA sequence sharing sequence similarity with the targeted site that can be predicted by bioinformatic tools.

- (1) substitution or insertion of no more than 20 nucleotides;
- (2) deletion of any number of nucleotides;
- (3) on the condition that the genetic modification does not interrupt an endogenous gene:
  - (a) targeted insertion of a contiguous DNA sequence existing in the breeder's gene pool;
  - (b) targeted substitution of an endogenous DNA sequence with a contiguous DNA sequence existing in the breeder's gene pool;
- (4) targeted inversion of a sequence of any number of nucleotides;
- (5) any other targeted modification of any size, on the condition that the resulting DNA sequences already occur (possibly with modifications as accepted under points (1) and/or (2)) in a species from the breeders' gene pool.

# Possible approach to risk assessment in the light of the COM proposal

STEP 1: NGT2 STATUS CONFIRMED (INCLUDING CONFIRMATION OF THE ABSENCE OF UNINTENDED rDNA-RESIDUES) – Annex I of COM Proposal

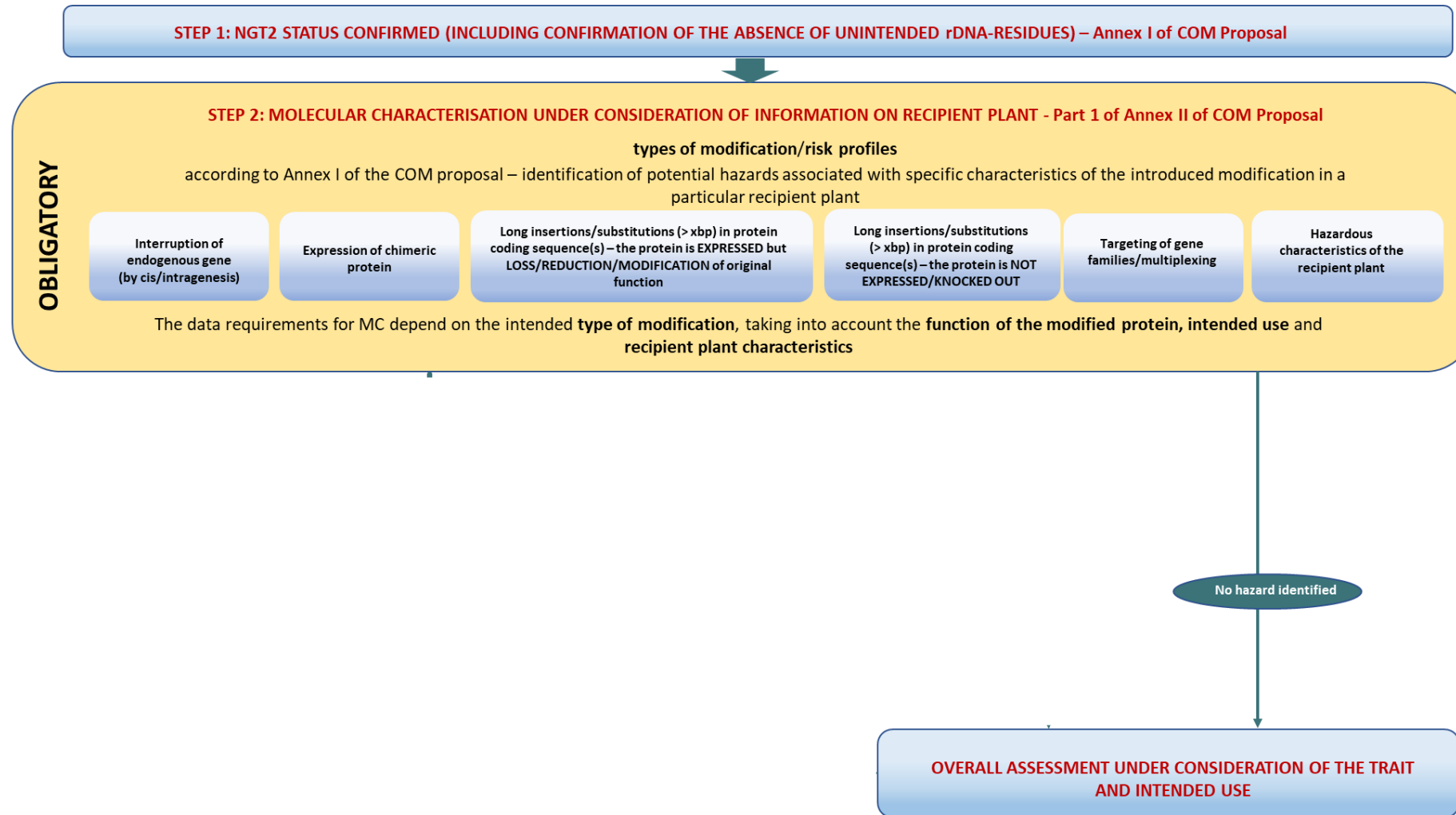
# Possible approach to risk assessment in the light of the COM proposal



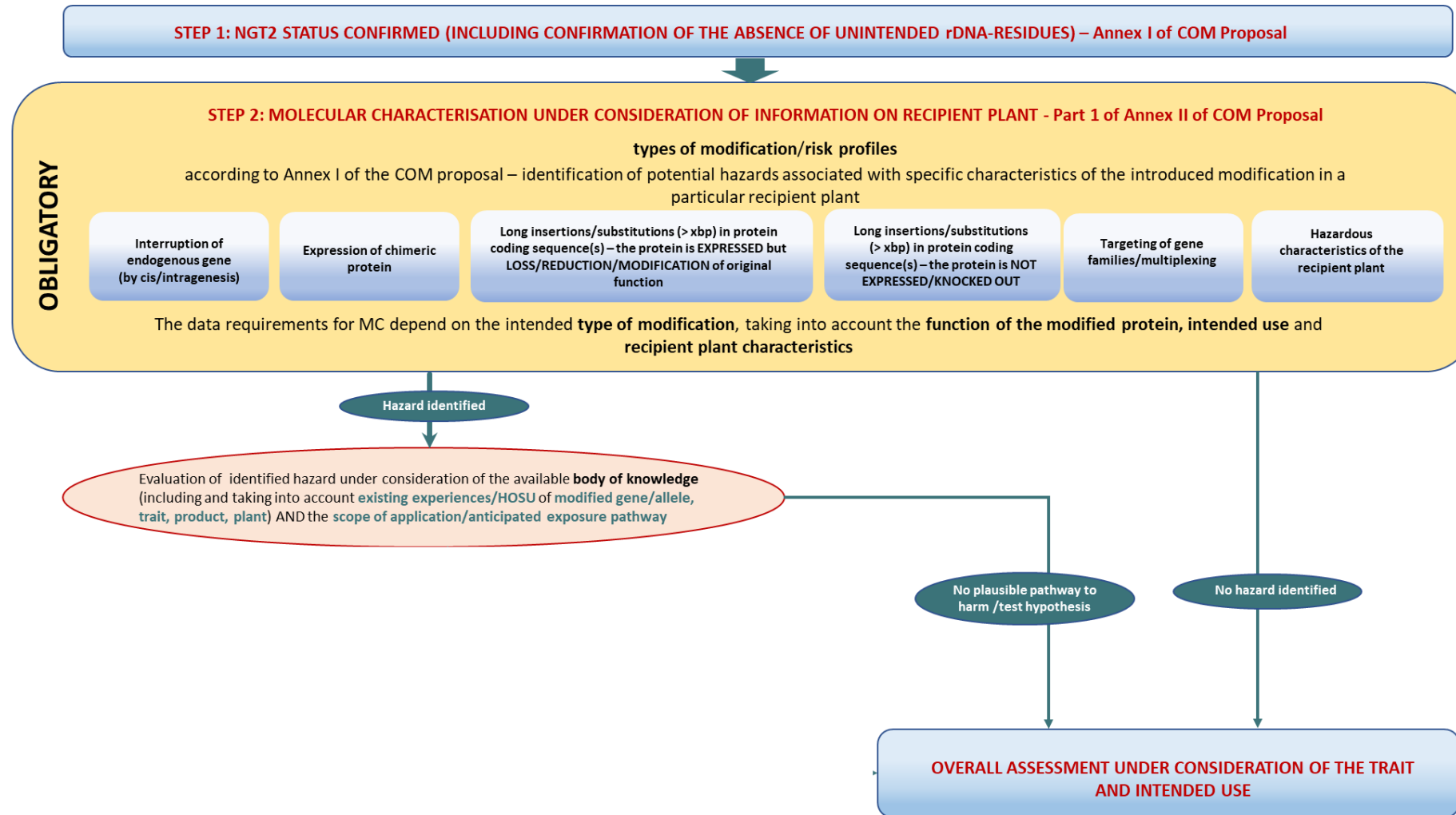




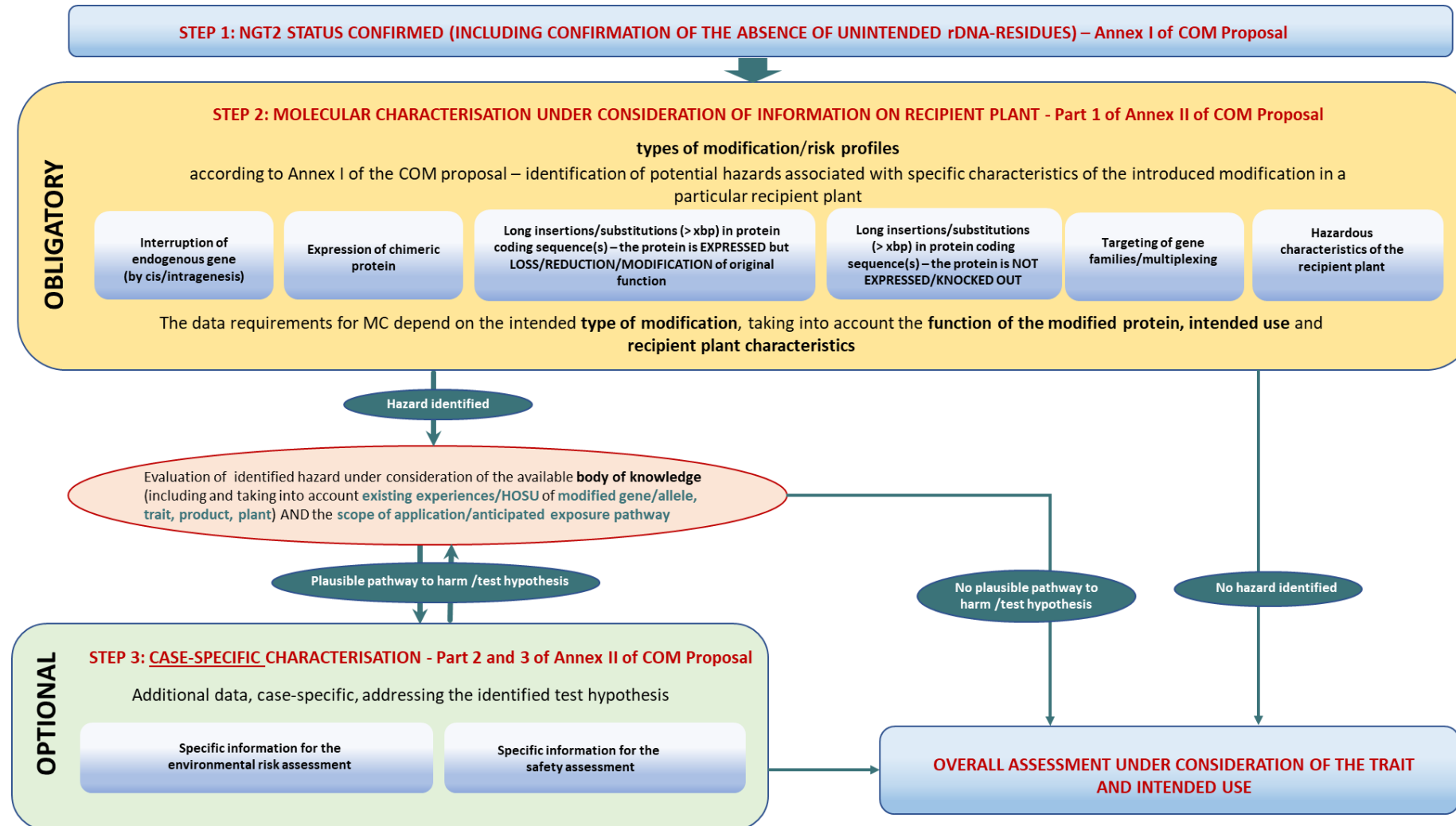
# Possible approach to risk assessment in the light of the COM proposal



# Possible approach to risk assessment in the light of the COM proposal



# Possible approach to risk assessment in the light of the COM proposal





# Possible approach to risk assessment in the light of the COM proposal

## Questions, critics, challenges...

- How to reflect both – scientific considerations, facts and principles **and** political specifications
- Technological approach (fitting in with the regulatory reality)
- How to provide both groups - risk assessors and applicants - with reliable navigation for risk assessment
- Balance between formalized and tailored assessment
- ...



Federal Office of  
Consumer Protection  
and Food Safety

**We live**

**Consumer Protection and**

**Food Safety**

**Contact:**

[anastasia.matthies@bvl.bund.de](mailto:anastasia.matthies@bvl.bund.de)

**Thank you for your attention!**