

# VALUTAZIONE DEL RISCHIO DELLE PIANTE GM: EFFETTI SULLA BIODIVERSITA' MICROBICA E TRASFERIMENTO GENICO ORIZZONTALE AI MICRORGANISMI

Daniele Daffonchio

*Dipartimento di Scienze e Tecnologie Alimentari e Microbiologiche (DISTAM),  
University of Milan, via celoria 2, 20133, Milan, Italy.*

Le biotecnologie stanno introducendo nuovi strumenti potenzialmente utili per il miglioramento delle produzioni agrarie. Prima del rilascio nell'ambiente di organismi geneticamente modificati (OGM), tuttavia, devono essere approfonditamente valutati i possibili fattori di rischio: interazioni ed effetti tossici sui diversi organismi, trasferimento del materiale genetico ad altre specie, invasività negli habitat naturali, impatto con organismi non target. Nonostante molte fonti e fattori di rischio connessi con l'immissione di OGM negli ambienti naturali siano stati individuati con precisione, e ne sia stata imposta la valutazione anche dalla legislazione in vigore in Europa, ci sono tuttavia ancora lacune nelle conoscenze attuali sull'eventuale impatto degli OGM sull'ambiente e sugli ecosistemi.

Nel presente seminario verranno illustrate le problematiche ambientali relative all'impiego di piante geneticamente modificate (PGM) con particolare riguardo all'interazione tra le PGM ed i microrganismi. L'introduzione su larga scala di specie transgeniche nell'ambiente genera infatti un'esposizione continua delle popolazioni batteriche a quantità crescenti sia di transgeni, che di proteine esogene non presenti nelle varietà vegetali tradizionali e la cui espressione viene indotta in elevate quantità nei tessuti delle PGM.

L'esposizione è particolarmente rilevante nei comparti ambientali in cui la flora microbica è presente in elevate densità ed è in intimo contatto con i tessuti vegetali. Questi comparti ambientali sono la rizosfera, ossia quella zona di suolo densamente colonizzata dalle radici vegetali e ricca in microrganismi richiamati dai nutrienti organici essudati dalle radici stesse. Un intimo contatto tra pianta GM e microrganismi avviene anche durante l'interazione tra batteri patogeni delle piante e le PGM. Od ancora nel tratto digerente degli animali superiori o della microfauna del suolo che si nutre di residui vegetali. Il tratto digerente di tali animali è sempre fortemente colonizzato da microrganismi che sono in attiva replicazione avendo un'ampia disponibilità di nutrienti. Un altro ambiente dove PGM e microrganismi interagiscono strettamente è la "residuosfera", definibile come la zona del suolo dove i residui vegetali vanno incontro a decomposizione e costituiscono un importante fonte di nutrimento per i microrganismi.

Due sono le principali fonti di rischio relative all'interazione PGM-microrganismi che sono da alcuni anni oggetto di studio: i) la possibilità di trasferimento genico orizzontale (HGT: Horizontal Gene Transfer) dalle PGM a microrganismi come ad es. ai fitopatogeni in crescita *in planta* durante lo sviluppo

dell'infezione, od i batteri che colonizzano la rizosfera od ancora i microrganismi che colonizzano il tratto digerente degli erbivori alimentati con PGM; ii) il rischio di impatto sulla composizione quali-quantitativa delle comunità microbiche in stretto contatto con le PGM.

Il meccanismo ritenuto più probabile per il trasferimento ereditabile di tratti genici dalle PGM ai batteri, è la trasformazione naturale, che prevede l'acquisizione di DNA nudo esogeno, seguita da integrazione di tale DNA nel genoma batterico mediante ricombinazione omologa di quei frammenti di DNA che presentano zone con omologie di sequenza. L'HGT dalle piante transgeniche ai batteri è finora stato dimostrato solo per sequenze codificanti caratteristiche selezionabili, in particolare le resistenze ad antibiotici. La trasformazione è stata rilevata in condizioni di laboratorio, con l'impiego di ceppi batterici naturalmente competenti (cioè in grado di acquisire DNA nudo presente nel mezzo di crescita) opportunamente modificati in modo da contenere un gene di resistenza ad un antibiotico che, pur avendo omologia di sequenza con un analogo gene presente in una PGM, non ne conferisce il fenotipo perché mutato per delezione. Utilizzando questi sofisticati sistemi di rivelazione è stato possibile evidenziare eventi di trasferimento genico tra PGM e microrganismi anche a livello di matrici complesse come il suolo o a livello della "residuosfera". Rimane comunque da valutare quale sia la prevalenza ed il destino dei microrganismi trasformanti che hanno acquisito il transgene. In sintesi, quando una cellula microbica acquisisce il DNA nudo contenente il transgene rilasciato dalla PGM, acquisirà anche un vantaggio selettivo che le permetterà di crescere in maniera competitiva rispetto agli altri microrganismi presenti nella comunità microbica? Potrà la sottopopolazione trasformata, a sua volta, diffondere i caratteri acquisiti attraverso meccanismi di trasferimento genico tipici dei procarioti, quali coniugazione e trasduzione? La risposta a questi quesiti aggiungerà un'importante informazione per una corretta valutazione del rischio di trasferimento genico orizzontale dalle PGM ai microrganismi.

Relativamente all'impatto delle GMP sulla diversità delle comunità microbiche la diversa composizione dei tessuti vegetali delle PGM o le differenze nella fisiologia della pianta potrebbero influenzare la struttura e la diversità della comunità microbica associata alla pianta. Ad esempio nel caso del mais Bt geneticamente modificato per esprimere la tossina Cry di *Bacillus thuringiensis* nei tessuti verdi per il controllo della piralide, è stato osservato i) che la pianta transgenica presenta un contenuto di lignina maggiore della sua controparte isogenica non transgenica; ii) Il mais Bt rilascia la tossina Cry negli essudati radicali. Tale fenomeno del rilascio delle tossine Cry negli essudati radicali è stato osservato anche in altre specie vegetali ingegnerizzate per la produzione della tossina. Inoltre è stato dimostrato che le piante di mais Bt hanno un maggior contenuto di lignina delle piante parentali. Tali cambiamenti potrebbero influenzare la struttura delle popolazioni microbiche che colonizzano ad esempio rizosfera e "residuosfera" di mais.

Durante il seminario verranno illustrati una serie di "case studies" su mais Bt e su altre GMP relativamente alla valutazione degli effetti sulle comunità microbiche e sulla possibilità di trasferimento genico orizzontale dalle GMP ai microrganismi.