

## FLUSSO GENICO E SUOI EFFETTI POTENZIALI

Fabio Veronesi

Dipartimento di Biologia vegetale e Biotecnologie Agroambientali e Zootecniche, Università degli Studi di Perugia

Il flusso genico (*gene flow*, GF) si verifica in presenza di una migrazione di individui o gameti tra popolazioni e, insieme con la deriva genetica, la selezione e la mutazione, rappresenta una delle principali forze alla base dei processi evolutivi che producono cambiamenti nelle frequenze geniche. Per quanto concerne le piante di interesse agrario, premesso che per individui si intendono i semi e per gameti il polline, lo studio del flusso genico riguarda fundamentalmente due casi: GF tra piante coltivate e piante spontanee con esse sessualmente compatibili (*wild relatives*, WR) e GF tra varietà coltivate costituite sia da moderne varietà commerciali che da antiche varietà agronomiche o *landraces*. Negli ultimi anni, con la diffusione delle Piante Geneticamente Ingegnerizzate (PGI), sono sorti nuovi problemi legati alla valutazione del rischio connesso alla diffusione dei transgeni nell'ambiente e alla presenza accidentale degli stessi transgeni nei prodotti ottenuti da agricoltura convenzionale e biologica.

La teoria legata al GF è stata sviluppata nel corso del XX secolo dai genetisti di popolazione a partire fundamentalmente dalla legge di Hardy Weinberg e dal coefficiente di *inbreeding*  $F$  di Sewall Wright ( $F$  indica la probabilità che, estraendo a caso due alleli allo stesso locus di uno stesso individuo, essi risultino identici per discendenza). Lo sviluppo della teoria ha riguardato in larga parte l'effetto che il GF può avere nel ridurre l'*inbreeding* entro popolazioni dovuto principalmente a accoppiamenti non casuali in presenza di isolamento riproduttivo e a deriva genetica. Questi sviluppi teorici hanno dimostrato che anche livelli di migrazione (cioè di flusso genico) assai limitati sono sufficienti a impedire la differenziazione tra popolazioni e la fissazione dei geni all'interno delle popolazioni. Ciò è espresso dall'indice di fissazione  $F_{ST} = 1/(1 + 4 Nm)$ , dove per  $Nm$  si intende il numero effettivo di individui che migrano per generazione (la perdita di tutta la variabilità presente in una popolazione per un particolare gene corrisponde al valore  $F_{ST} = 1$ ).

La stima del flusso genico può basarsi sia su metodi diretti che su metodi indiretti: i metodi diretti utilizzano osservazioni sulla dispersione di seme o di gameti e necessitano normalmente della ripetizione degli esperimenti nel corso di più anni; i metodi indiretti traggono inferenze in merito al GF a partire dall'analisi delle distanze geniche tra individui e della struttura genetica delle popolazioni, utilizzando a tale scopo marcatori neutrali (ad esempio marcatori molecolari) che non sono influenzati dalla selezione.

Considerando le conseguenze del GF tra forme domestiche e forme naturali, esse possono consistere in un incremento della capacità infestante delle forme naturali in ambiente coltivato o

nell'estinzione delle forme naturali. Elementi basilari nello studio del GF sono la distanza in linea d'aria tra forme coltivate e forme naturali e la capacità di movimento del polline, la sincronia della fioritura, la compatibilità sessuale, la biologia e l'ecologia della popolazione recipiente. Tra i fattori che possono essere messi in relazione con il GF si ricordano fattori pre-zigotici (barriere riproduttive, distanza geografica, fenologia, capacità di disperdere il seme, dimensioni delle popolazioni, capacità infestante) e fattori post-zigotici (sterilità degli ibridi, selezione e sistemi di unione). Generalmente il GF dalla forma coltivata a quella naturale è assai superiore al GF dalla forma naturale a quella coltivata e ciò in quanto il numero di piante coltivate per unità di superficie è normalmente di gran lunga maggiore a quello delle piante selvatiche per cui il GF tende a essere quasi unidirezionale. In tale situazione nel corso del tempo è possibile giungere alla estinzione della forma naturale (*Genetic extinction*) con conseguenze negative per la biodiversità.

Come sopra indicato, accanto al rischio di estinzione delle forme selvatiche esiste anche il rischio opposto, ovvero che esse acquisiscano dalle forme coltivate caratteristiche di invasività tali da aumentare la loro capacità di infestazione nei confronti delle piante coltivate stesse. Ciò presuppone che vengano trasferiti geni capaci di incrementare la *fitness* (sopravvivenza) della forma selvatica, fenomeno non molto frequente in quanto normalmente i geni per l'adattamento in condizioni di coltivazione sono negativamente correlati alla *fitness* in condizioni naturali. In particolare, i caratteri alla base della così detta "Sindrome di domesticazione" (ad esempio capacità di mantenere le cariossidi sulla spiga a maturazione, dormienza dei semi, *habitus* di crescita determinato) sono normalmente controllati da alleli recessivi per cui gli ibridi tra piante coltivate e piante spontanee con esse sessualmente compatibili assomigliano a queste ultime e nelle generazioni segreganti contro tali alleli si esercitano pressioni selettive negative. In altre parole, il GF può essere successivamente contrastato dalla selezione.

Considerando alcune tra le principali piante di interesse agrario, è possibile individuare specie in cui il rischio di GF verso popolazioni naturali è limitato (soia, orzo, arachide, patata), modesto (mais, riso, cotone), moderato (erba medica, barbabietola da zucchero, frumento tenero e duro, colza) o elevato (sorgo).

Passando adesso a trattare gli aspetti relativi al GF in relazione alla messa in coltura delle PGI, è innanzi tutto necessario distinguere tra introgressione del transgene da forme coltivate a forme spontanee, presenza accidentale del transgene in coltivazioni convenzionali e biologiche e presenza accidentale del transgene in coltivazioni da seme convenzionali e biologiche. Non prenderò in considerazione l'eventuale inquinamento fraudolento di partite di seme convenzionale e biologico con PGI perché in tale caso il problema è di natura giudiziaria e non scientifica.

Da un punto di vista generale, lo studio delle conseguenze del trasferimento di un transgene da una PGI a una pianta “convenzionale” (sia essa naturale o coltivata) segue lo stesso approccio considerato nella prima parte della presente comunicazione, con la sola differenza che l’ibrido F<sub>1</sub> ottenuto non sarà, per il transgene in esame, eterozigote ma emizigote in quanto solamente uno dei genitori avrà fornito il transgene; in conseguenza, piante con entrambe le copie del transgene potranno ottenersi solamente nelle successive generazioni segreganti.

Iniziando con il considerare il rischio di trasferimento del transgene dalla PGI a WR, tale rischio è da collegarsi al *gene flow* ed all’eventuale vantaggio selettivo fornito dal transgene in condizioni naturali. Per quanto concerne il GF, è necessario ricordare quanto già indicato, e cioè che anche con una introgressione molto limitata la teoria indica che il gene può transitare nelle popolazioni naturali. Pertanto vale in merito quanto riportato nel 1999 da Ellstrand e coautori (Ann. Rev. Ecol. Syst. 1999, 30, 539-563) a proposito dei rapporti tra piante coltivate e infestanti con esse sessualmente compatibili: *Phrases such as “gene flow drops off rapidly with distance” are misleading. If any hybridization is detected within distances that are typical of those occurring between the crop and the weed, the appropriate interpretation is “crop genes will move into weedy populations”*.

Una volta trasferito, se il transgene non produce un vantaggio selettivo in condizioni naturali non esistono le basi per supporre una sua ulteriore diffusione che non sia legata a una introgressione continua mentre il problema è diverso se il transgene fornisce un vantaggio selettivo. Prendiamo ad esempio i casi di PGI resistenti a un erbicida totale, a un insetto e a un virus, rispettivamente. Il livello di rischio ambientale aumenta dal primo al terzo caso. Infatti per quanto concerne il primo caso il rischio è limitato alla introgressione della resistenza in *wild relatives* con attitudine infestante; la resistenza a un insetto presenta un rischio potenziale superiore poiché può aumentare la *fitness* delle piante che ne sono dotate anche in condizioni naturali e al tempo stesso aumenta la pressione selettiva verso lo sviluppo di insetti capaci di superare l’azione del transgene; infine un transgene che produce resistenza contro un virus qualora trasferito in *wild relatives* può avere un impatto notevole sulla sopravvivenza delle piante che lo contengono e sulla loro fertilità oltre che a poter dare origine a fenomeni di *transencapsidation*.

Possono essere individuate categorie di transgeni che producono differenti livelli di *fitness* negli individui che ne sono dotati: in termini generali, geni marcatori sono generalmente neutrali, geni che inducono la maschiosterilità o che alterano la qualità della fibra sono a *fitness* negativa, geni per resistenza a erbicidi possono originare a *fitness* variabile a seconda della invasività della specie trasformata o della presenza di WR, geni per resistenza a virus, insetti e funghi possono originare *fitness* variabili a seconda del livello di controllo biologico, infine geni per la resistenza a

stress abiotici (freddo, caldo, secco, tolleranza a metalli pesanti), per l'incremento della capacità di ottenere nutrienti dall'ambiente e per sviluppo modificato della pianta sono potenzialmente capaci di dare luogo a *fitness* positiva e, quindi, di diffondersi nell'ambiente.

Pertanto, nelle analisi sull'impatto ambientale di un transgene vanno presi in considerazione sia la eventuale presenza di WR e la loro invasività potenziale, sia l'impatto del transgene. In questo ambito va anche tenuto presente che se il transgene ha un vantaggio selettivo, porta con sé anche altre parti del genoma per associazione (*linkage disequilibrium*); per alcune piante questo fenomeno è limitato (poche centinaia di kb come nel caso del mais) per altre più evidente (nel fagiolo può arrivare a oltre 10 cM, dove per cM si intende quella distanza sul cromosoma che fa ottenere un ricombinante ogni 100 prodotti della meiosi).

Passando ora a esaminare il *gene flow* da varietà transgeniche coltivate a varietà convenzionali coltivate, il problema in questo caso è più tecnico che scientifico nel senso che riguarda la presenza accidentale del transgene nel prodotto commerciale, prodotto che per le piante attualmente interessate dalla presenza di varietà GI (soia e mais nel nostro Paese) non viene riutilizzato per la risemina. Il problema pratico è quello di determinare le distanze tra coltivazioni GI e coltivazioni convenzionali e biologiche tali che non facciano superare il limite di presenza accidentale previsto dalla legge oltre il quale il prodotto deve essere indicato come contenente OGM (Organismi Geneticamente Modificati), limite che attualmente è fissato a 0,9%. I dati reperibili in letteratura variano ovviamente da specie a specie, con indicazioni che vanno da pochi metri per riso, pomodoro e soia a 50-100 m per barbabietola da zucchero, a 200-250 m per mais e segale (da notare che distanze maggiori dalle fonti transgeniche vengono indicate nel caso di colture biologiche, ad esempio 400 m per il fagiolo).

A questo proposito è però necessario tener presente che esiste una notevole difficoltà, almeno da parte dello scrivente, nel comprendere esattamente quale sia l'attuale situazione in Italia per le soglie di presenza accidentale di transgene in un prodotto biologico e che sarebbe opportuno che, in proposito, venisse fatta chiarezza. Se ad esempio si chiedesse ufficialmente per il biologico una soglia dell'ordine dello 0,1%, in presenza di coltivazioni GI diffuse sul territorio, tale soglia sarebbe mantenibile con difficoltà e con un costo elevato. In ogni caso vanno considerate tutta una serie di misure attuabili a livello di conduzione agronomica ai fini di ridurre il rischio di presenza accidentale, rischio che non è solamente dovuto al *gene flow* per mezzo del polline o alla presenza nel terreno di semi derivati dalla coltura precedente (*volunteer seeds*) ma anche a mero inquinamento meccanico o da trasporto. Isolamento spaziale, zone cuscinetto, barriere polliniche, controllo delle *volunteer plants*, rotazioni, monitoraggio durante la coltivazione, la raccolta, la

conservazione, il trasporto e il *processing* del prodotto sono tutti esempi di possibili misure da attuare.

Una situazione ancora diversa si manifesta quando si tenta di determinare quale debba essere il livello massimo di presenza accidentale di un eventuale transgene nel seme da impiegare in agricoltura convenzionale e biologica. Considerando a 0,9% la soglia di presenza accidentale del transgene nel prodotto ottenuto da una coltura di soia o mais per alimentazione umana o animale, le sementi convenzionali o biologiche utilizzate per attuare detta coltura dovrebbero presentare un inquinamento involontario non superiore a 0,3% e 0,5%, rispettivamente. Secondo quanto recentemente riportato da Kalaitzandonakes e Magnier (Choices, 2nd Quarter 2004, 1-6), ulteriori riduzioni della soglia finale di presenza accidentale a 0,5-0,3% comporterebbe un aumento molto sensibile nel costo di produzione delle sementi.

Riassumendo, lo studio del *gene flow* è alquanto complesso; per quanto riguarda la valutazione dei rischi ambientali, è opportuno tener presente che tali rischi non si limitano, come normalmente si crede, alle PGI ma riguardano tutte le piante coltivate che presentino WR sessualmente compatibili. Se, come nel caso del mais e della soia nel nostro Paese, i WR non sono presenti e le piante non presentano caratteristiche di invasività capaci di trasformarle in pericolose infestanti, i rischi appaiono limitati ai soli eventuali e non molto probabili eventi di trasferimento orizzontale mediato da microrganismi. E' opportuno anche notare che un problema particolare è dato dalla vicinanza di colture convenzionali condotte su grandi superfici e colture tradizionali di *landraces*; in questo caso, anche in assenza di PGI, esiste il rischio di *Genetic extinction* a causa della migrazione differenziale e di conseguente perdita di risorse genetiche agrarie qualora non vengano attivate adeguate misure di contenimento pollinico e di controllo dell'inquinamento meccanico.

Considerando ora gli aspetti relativi all'eventuale presenza accidentale di transgeni entro coltivazioni convenzionali e biologiche, in questo caso vanno distinte le colture da seme da quelle per la produzione di alimenti o di differenti prodotti commerciali. Per le colture da seme il controllo deve essere molto più attento che per le altre e, comunque, vanno indicate a livello comunitario e nazionale le soglie di tolleranza per la presenza involontaria di transgeni nelle partite di seme da utilizzare in agricoltura convenzionale e biologica prima di poter dare inizio alla coesistenza tra i tre tipi di agricoltura richiesta alla UE. Chiarezza dovrebbe essere anche fatta sull'eventuale soglia di inquinamento involontario dei prodotti biologici.

Infine va tenuto presente che ancora adesso la maggioranza dei dati sul *gene flow* riguarda il trasferimento di geni dalle colture ai loro WR e che i dati relativi al GF da coltura a coltura sono spesso desunti da sperimentazioni di limitata dimensione o da analisi condotte al calcolatore per cui

sarebbe necessario lo sviluppo di adeguati progetti sperimentali condotti in pieno campo su adeguate superfici. In conclusione, anche per questo settore risulta evidente che l'approccio giusto sarebbe quello di non dichiararsi aprioristicamente a favore o contro la utilizzazione delle PGI ma di analizzare la situazione caso per caso e decidere di conseguenza.

Desidero ringraziare il Prof. Roberto Papa, dell'Università Politecnica delle Marche, per le informazioni che gentilmente mi ha fornito e per le interessanti discussioni in merito all'argomento del presente intervento.

Un'analisi più ampia di quanto dibattuto nell'intervento verrà pubblicata prossimamente su una rivista scientifica.