

# IL DNA TRANSGENICO: IL VERO PROBLEMA DELL'INGEGNERIA GENETICA

**Pietro Perrino**

*Dirigente di Ricerca del CNR, già Direttore dell'Istituto del Germoplasma del CNR di Bari*

## **Riassunto**

*Il DNA transgenico è diverso dal DNA naturale e ciò spiega anche perché gli organismi geneticamente modificati (OGM) sono instabili. Il DNA transgenico contiene punti caldi alla ricombinazione e ciò alimenta il trasferimento genico orizzontalmente (TGO) anche tra specie lontane. Il TGO naturale è causale e preciso, mentre quello provocato dal DNA transgenico è casuale, impreciso e inaffidabile. Di conseguenza, il DNA transgenico e la ricombinazione producono nuovi virus, nuovi batteri e nuove malattie. Per gli stessi motivi la coesistenza tra colture convenzionali e transgeniche è impossibile e il cibo transgenico è causa di mutazioni, neoplasie, tumori e cancro. È come giocare alla lotteria: più cibo transgenico mangiamo e più possibilità abbiamo di ammalarci, più individui mangiano transgenico e maggiori sono le possibilità di un'epidemia. Più piante transgeniche ci sono in campo e maggiori sono le probabilità che il DNA transgenico e la ricombinazione causino contaminazione e nuove malattie. I risultati delle ricerche suggeriscono di non coltivare e non usare le piante transgeniche sia per scopi alimentari che non alimentari.*

## **Il trasferimento genico orizzontale**

In un processo normale di riproduzione, che accade tra individui della stessa specie, i geni sono trasferiti dai genitori ai discendenti a mezzo delle cellule germinali. Recentemente, questo processo è indicato anche come *trasferimento genico verticale* (TGV) per distinguerlo dal *trasferimento genico orizzontale* (TGO), che indica, invece, il trasferimento di materiale genetico tra individui appartenenti alla stessa specie o a specie diverse, attraverso processi diversi da una normale riproduzione. In lingua inglese è detto *horizontal gene transfer* (HGT) o *lateral gene transfer* (LGT). Normalmente, il TGO avviene tra batteri che si scambiano tra loro dei geni, superando le barriere naturali esistenti tra le specie. Ciò avviene in tre modi: tramite *coniugazione*, *trasduzione* e *trasformazione*. Nella *coniugazione* il DNA è trasferito da una cellula all'altra attraverso strutture lunghe e sottili chiamate *pili* (singolare *pilus*); nella *trasduzione* il DNA è trasferito da una cellula all'altra attraverso virus (infezione); nella *trasformazione* il DNA passa dall'ambiente alla cellula attraverso l'assorbimento.

Affinché il TGO avvenga realmente il DNA estraneo deve integrarsi nel genoma della cellula ospite e qui essere mantenuto stabilmente in alcune forme particolari. Durante questo processo d'integrazione il DNA può essere soggetto a riarrangiamenti o ricombinazioni.

Il TGO e la ricombinazione tra virus hanno luogo quando diversi virus infettano e si moltiplicano nella stessa cellula. I genomi virali spesso si integrano nel DNA della cellula ospite per replicarsi con il genoma di quest'ultima. Quando si attivano i processi infettivi, questi pezzi di DNA virale possono agganciare geni vicini o sequenze di DNA dell'ospite. I virus possono inoltre agganciare pezzi liberi di materiale genetico nel proprio genoma.

Il TGO e la ricombinazione hanno giocato un ruolo fondamentale nella creazione di nuovi virus e batteri associati a malattie infettive esplosive e nella diffusione della resistenza ad antibiotici e a medicine tra i patogeni, rendendo le infezioni molto difficili da curare.

Per molto tempo, nessuno sospettava che il TGO poteva estendersi a piante e animali superiori. Negli ultimi vent'anni, comunque, è emerso chiaramente che il TGO si estende all'intera

biosfera, con batteri e virus che funzionano sia come intermediari per geni trafficanti e sia come recipienti per la moltiplicazione e ricombinazione di geni, e possiamo sostenere che il TGO è diventato molto più frequente con l'avvento dell'ingegneria genetica.

### ***Il TGO in organismi superiori***

Potenzialmente ci sono molte vie per il trasferimento orizzontale di geni a cellule vegetali e animali. La via principale è la *trasduzione*, perché ci sono molti virus che infettano piante e animali e ci sono molte opportunità per i virus di prelevare geni e di trasferirli da un ospite all'altro.

La *trasformazione* è potenzialmente molto importante per le cellule di animali superiori, incluse quelle dell'uomo e decenni di ricerca di terapia genica non hanno lasciato dubbi. È stato accertato che una grande varietà di materiali genetici nudi è assorbita da tutti i tipi di cellule, semplicemente attraverso l'applicazione di gocce negli occhi, lo strofinamento sulla pelle, materiali iniettati o ingoiati. In molti casi, i costrutti di geni estranei finiscono con l'essere integrati nel genoma, inclusi quei costrutti che non sono progettati per essere integrati. Alcuni di noi sono stati avvertiti per anni dei danni causati dall'integrazione di tali costrutti di geni estranei nel genoma delle cellule, tra cui il cancro e la proliferazione incontrollata di certe cellule.

La *trasformazione* diretta può non essere importante per le cellule vegetali, le quali generalmente hanno pareti cellulari spesse e protettive. Ma i batteri del suolo appartenenti al genere *Agrobacterium* sono capaci di trasferire segmenti di DNA alle cellule vegetali, in un processo che somiglia molto alla *coniugazione*. Questo processo, specifico di *Agrobacterium*, è largamente sfruttato per il trasferimento genico nell'ingegneria genetica vegetale, sollevando alcuni problemi di sicurezza.

Il materiale genetico estraneo può anche essere introdotto nelle cellule delle piante e degli animali dagli insetti e altri artropodi (crostacei, miriapodi e aracnidi) con i loro apparati boccali ben affilati. Inoltre, i patogeni batterici che entrano nelle cellule delle piante e degli animali possono essere vettori del TGO. *Pertanto, non ci sono pressoché barriere a prevenire l'entrata di materiale genetico estraneo nelle cellule di qualunque specie terrestre.* Le barriere più importanti al TGO esistono dopo che il materiale genetico estraneo è entrato nella cellula.

La maggior parte del DNA estraneo che entra in una cellula, così come quello presente nel cibo ordinario, è rotta per produrre energia e costruire i mattoni necessari a crescere e a riparare eventuali guasti. Anche nell'eventualità che il materiale genetico estraneo sia incorporato nel genoma, una modificazione chimica può ancora metterlo fuori causa o eliminarlo.

Tuttavia, in determinate condizioni ecologiche, ancora non ben comprese, il DNA estraneo sfugge alla rottura e s'integra nel genoma delle cellule. Per esempio, shock termici e inquinanti, come i metalli pesanti, aumentano il TGO, ma anche gli antibiotici possono aumentarne la frequenza da 10 a 10.000 volte.

Alcuni materiali genetici possono resistere alla rottura, specialmente quelli dei parassiti genetici, come virus, plasmidi e trasposoni. Virus, plasmidi e trasposoni non solo supportano il trasferimento orizzontale, ma possono anche agire da vettori (*carriers*) per il trasferimento di altri geni ed essere usati come tali nell'ingegneria genetica.

Questi parassiti genetici hanno segnali speciali e strutture globali che li proteggono dagli enzimi (DNAasi) che rompono il DNA. Un virus è formato da sequenze di materiale genetico avvolte in un mantello di proteine di cui si spoglia quando entra nella cellula ospite. Grazie alla sua struttura può dirigere l'apparato della cellula ospite per replicarsi o può integrare il suo materiale genetico nel genoma dell'ospite trasformandosi in un provirus. Quando i provirus si attivano e riprendono il processo infettivo riproducendo molte copie del loro DNA, è possibile che alcuni geni dell'ospite restino legati e vengano trasferiti con successo ad altre cellule durante i seguenti processi infettivi. Questo spiega perché questi parassiti genetici sono considerati veri vettori per il TGO.

In natura i parassiti genetici esistenti possono contare su un numero limitato di specie ospiti che possono infettare, per cui, per esempio, i virus dei suini infettano i suini e non l'uomo e i virus dei cavolfiori non infettano i pomodori. È il mantello proteico che avvolge il virus a determinare la specificità dell'ospite, che spiega perché i genomi virali nudi (materiale genetico virale senza rivestimento proteico) hanno generalmente un numero di specie ospiti più ampio rispetto ai virus intatti (cioè quelli il cui materiale genetico è circondato da un mantello proteico).

Altro elemento importante per il trasferimento genico sono i trasposoni, cioè blocchi di sequenze di DNA che hanno la capacità di saltare dentro e fuori i genomi in cui sono contenuti.

L'ingegneria genetica ha creato una grande varietà di costrutti artificiali e vettori attraverso la ricombinazione del materiale genetico di batteri, virus, plasmidi e trasposoni; tali costrutti sono progettati per trasformare cellule di tutte le specie e per inserirsi nei loro genomi. In altre parole, l'ingegneria genetica artificiale (cioè quella eseguita dall'uomo) aumenta il TGO, un processo che crea nuove combinazioni di geni e può diffondere tra i microrganismi patogeni la resistenza ad antibiotici e altri farmaci.

Attraverso la creazione di una vasta gamma di varietà di vettori promiscui, l'ingegneria genetica ha agevolato il trasferimento genico orizzontale e la ricombinazione, processi che prima erano strettamente regolati e limitati (Mae Wan Ho).

Attualmente, in nessun paese, c'è una legislazione atta a prevenire la fuga e/o rilascio nell'ambiente di vettori artificiali e di costrutti di DNA nudo (Mae Wan Ho).

Terje Traavik fu il primo ad avvertire il suo governo e la comunità internazionale dei pericoli legati ai costrutti di DNA, che realizzati in maniera crescente dall'industria biotecnologica sono scaricati nell'ambiente. Traavik fu allarmato dal fatto che durante uno dei suoi esperimenti di routine, insieme ai suoi colleghi, iniettando del DNA nudo di un virus della poliomielite umana in conigli, come controllo, osservò che il virus intatto non determinò alcuna infezione, mentre con sua sorpresa il genoma virale nudo determinò, nei conigli iniettati, un'infezione esplosiva. Dunque, la semplice manipolazione di genomi virali nudi usati dall'ingegneria genetica è di per sé un pericolo.

### ***Pericoli derivanti dal trasferimento orizzontale del DNA transgenico***

Siccome i vettori artificiali e i costrutti artificiali sono costituiti prevalentemente da materiale genetico proveniente da virus e batteri normalmente presenti in natura, essi si potranno ricombinare con i ceppi selvatici, potendo così condurre alla creazione di nuovi ceppi potenzialmente più pericolosi.

Negli ultimi 40 anni e più è stato registrato un aumento dell'uso di medicine e antibiotici per il trattamento delle malattie infettive. Tra le cause, oltre all'abuso di antibiotici, la distruzione ecologica, il deterioramento della sanità pubblica, la malnutrizione, la povertà, la disintegrazione sociale, l'aumento di viaggi e trasporti e le guerre, possiamo aggiungere anche l'ingegneria genetica (Mae Wan Ho).

Per molti genetisti microbiologi medici ci sono pochi dubbi che il TGO e la ricombinazione sono stati responsabili della creazione di nuovi patogeni e diffusione della resistenza ad antibiotici e altri farmaci. Questi studiosi hanno affermato che la frequenza del TGO e la ricombinazione è aumentata da quando è iniziata l'ingegneria genetica. L'Organizzazione Mondiale della Sanità dopo aver ripetutamente negato quest'affermazione ha riconosciuto al TGO un ruolo nell'evoluzione dei patogeni, ma nega che un ceppo benigno di microrganismi si possa trasformare in un patogeno attraverso l'acquisizione di geni trasferiti orizzontalmente da un microrganismo geneticamente modificato (Mae Wan Ho).

Verso la metà degli anni Settanta, i pionieri dell'ingegneria genetica chiesero una moratoria - la famosa dichiarazione di Asilomar - perché si preoccuparono di questa possibilità. Tuttavia, dopo breve cedettero alle pressioni commerciali e la moratoria finì. L'argomento in questione non è stato mai risolto, anche se, scoperte successive hanno fatto crescere di molto la sua rilevanza,

specialmente per quanto riguarda la persistenza di DNA nell'ambiente, compreso l'intestino umano anche dopo la morte degli organismi che lo abitano, e la facilità con cui tutte le cellule, comprese quelle degli esseri umani, assorbono il DNA estraneo.

### ***Creazione accidentale di virus assassini con l'ingegneria genetica***

A gennaio 2001, il sospetto della creazione di virus pericolosi attraverso l'ingegneria genetica venne alla luce. Alcuni ricercatori in Australia, durante un esperimento d'ingegneria genetica trasformarono incidentalmente il virus innocuo dell'esantema del topo (mouse-pox virus) in un patogeno altamente pericoloso. I ricercatori, inoltre, mostrarono uno dei modi in cui potrebbe avvenire questo processo: è sufficiente inserire nel virus un gene codificante per una proteina che sopprime il sistema immunitario, come ad esempio l'interleuchina-4. Geni simili a questo sono presenti nelle colture transgeniche allevate in campi sperimentali in Canada, come evidenziato da Joe Cummins. Ci sono molte opportunità per virus benigni, presenti nell'ambiente, di diventare simili a virus assassini, semplicemente attraverso l'assorbimento dalle colture transgeniche contenenti il gene che codifica la proteina che sopprime l'immunità.

Ma non è tutto, anche durante altre ricerche di routine su patogeni pericolosi per produrre vaccini, i genetisti hanno creato virus ibridi accidentalmente. Si veda per esempio il virus SHIV, un virus ibrido tra il virus che causa l'AIDS nell'uomo e quello che causa l'AIDS nella scimmia, usato come virus test per saggiare i vaccini per l'AIDS in laboratorio. Molti vaccini AIDS stessi – fatti con geni di glicoproteine (gp 120) del virus dell'immunodeficienza umana (HIV) – sono così pericolosi che un gruppo di virologi diretti da Veljko Veljkovic dell'Istituto di Scienze Nucleari di Belgrado ha richiesto di bloccare gli esperimenti clinici. La società ProdiGene, ad esempio, che per produrre vaccini ha inserito la proteina gp120 nelle piante di mais, è stata querelata per aver contaminato colture alimentari con colture ingegnerizzate; in tale occasione scienziati come Veljko Veljkovic e Mae Wan Ho dichiararono al giornale AID Science la pericolosità di questo procedimento, mettendo in evidenza il fatto che in tal modo si potrebbe anche rischiare di mettere in circolazione una sorta di arma biologica.

La maggior parte dei patogeni mortali prodotti dall'ingegneria genetica è creata e liberata nell'ambiente senza che nessuno se ne accorga. Grandi quantità di DNA transgenico, con geni virali e batterici e combinazioni nuove di geni di organismi diversi possono essere liberate nell'ambiente dalle attrezzature di laboratorio usate come contenitori di residui di DNA, sulla base del presupposto che il DNA una volta scaricato nell'ambiente si disintegra subito. Il DNA transgenico è anche rilasciato deliberatamente nell'ambiente con le coltivazioni di piante geneticamente modificate (GM) che generano polline, polvere e residui; tra le colture GM ci sono anche quelle ingegnerizzate con materiali genetici che producono farmaci e vaccini.

### ***Il DNA transgenico e il cancro***

Mae Wan Ho ha affermato che il cancro può essere generato dall'integrazione di geni estranei nel genoma delle cellule attraverso la terapia genica.

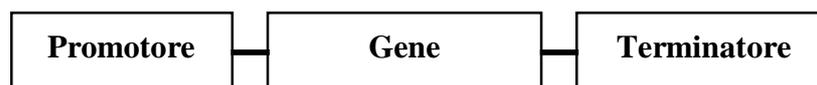
La terapia genica consiste nella modificazione genetica di cellule umane, usando costrutti simili a quelli usati nella modificazione genetica di animali e piante. La cosa preoccupante di alcuni casi di sperimentazione di questa terapia effettuati in Francia è che sono stati ottenuti solo 9 successi, dopo 14 anni di prove cliniche e ricerche in Europa e negli Stati Uniti. Tuttavia, nonostante il fatto che i pazienti furono trattati con una procedura disegnata per minimizzare i rischi di cancro, in alcuni casi le cose non andarono come sperato. Ai pazienti, infatti, furono prelevate dal midollo spinale alcune cellule che furono poi trasformate *in vitro* usando un vettore derivato da un virus contenente il costrutto transgenico. Tra tutte le cellule trasformate si scelsero quelle desiderate e si trapiantarono nuovamente nel paziente originario. La domanda rimasta senza risposta, anzi la domanda mai posta durante l'inchiesta che ne seguì, era se il costrutto transgenico si fosse mosso di

nuovo dopo il trapianto: nessuna caratterizzazione molecolare fu eseguita finché non si verificò il primo problema. Nel primo paziente analizzato, il vettore virale che conteneva i nuovi geni introdotti si era integrato in prossimità del gene LM02, causandone la super-espressione, cosa che a sua volta condusse alla proliferazione incontrollata dei globuli bianchi e quindi allo sviluppo della leucemia nel paziente. Venne fuori che il vettore virale si era integrato vicino allo stesso gene anche in un secondo paziente, che allo stesso modo sviluppò la leucemia. Da allora, una terapia simile è stata praticata in un terzo bambino che dopo poco tempo non mostrava ancora segnali di leucemia. Tuttavia, il 10 febbraio 2003, i membri del NIH (National Institute of Health) degli Stati Uniti e quelli del RAC (Recombinant DNA Advisory Committee) si incontrarono e decisero di raccomandare questo particolare tipo di terapia genica solo nel caso in cui i pazienti non rispondono ad altri trattamenti – come il trapianto di midollo spinale convenzionale prelevato da donatori compatibili – omettendo però di dire che anche altri vettori comportano lo stesso rischio.

### ***Il DNA transgenico non è uguale al DNA naturale***

I fautori dell'ingegneria genetica amano rassicurare il pubblico affermando che il DNA è DNA, non importa come si fa o come si ottiene e affermano: abbiamo mangiato una quantità di DNA con i nostri cibi e non siamo mai diventati né cavoli né mucche, quindi perché dovremmo preoccuparci del DNA transgenico? (Mae Wan Ho).

Già abbiamo detto perché dovremmo preoccuparci del DNA transgenico, ma osservandone la struttura di base, possiamo osservare ancora meglio quanto il DNA transgenico è diverso da quello naturale. I geni non sono mai trasferiti da soli, ma in unità note come *cassette di espressione di geni* (una cassetta può contenere più di un costrutto) Ciascun gene, infatti, per poter essere espresso correttamente, deve essere accompagnato da uno speciale pezzo di DNA regolatore, il *promotore*, che segnala alla cellula di accendere il gene, attivandone la trascrizione, e da una sequenza detta *terminatore* che ferma la trascrizione e permette che quanto trascritto possa essere ulteriormente processato e tradotto in proteina. La più semplice cassetta di espressione (un solo costrutto) è simile a questa:



Generalmente, ciascun pezzo del costrutto (promotore, gene, terminatore) deriva da una fonte diversa. Il gene stesso può anche essere composto da pezzi di diversa origine. Spesso un costrutto non è sufficiente a ingegnerizzare la pianta. E in alcuni casi servono più cassette. Diverse cassette sono, frequentemente, legate in serie o “accatastate” in una grossa cassetta o costrutto finale. Almeno una delle cassette (o costrutti) di espressione sarà quella con il gene marcatore per la resistenza all'antibiotico, che consente alle cellule trasformate con successo dal costrutto estraneo, di essere selezionate utilizzando specifici antibiotici. In alcuni casi può capitare che queste sequenze capaci di conferire resistenza agli antibiotici restino nell'organismo transgenico.

I blocchi di materiale genetico del costrutto sopra disegnato, di origine diversa, sono legati da semplici linee per indicare la potenziale debolezza dei legami. Tali costrutti artificiali sono noti per essere strutturalmente instabili: tendendo a rompersi e a inserirsi in punti diversi, talvolta anche in un numero di copie ripetute. Questa instabilità strutturale non va sottovalutata perché può aumentare il TGO e la ricombinazione.

### ***Il promotore CaMV 35S***

Il virus del mosaico del cavolfiore (CaMV) infetta normalmente le piante della famiglia dei cavoli. Uno dei suoi promotori, il promotore 35S, è stato ampiamente usato in colture GM sin dall'inizio dell'ingegneria genetica, prima che venissero alla luce alcuni suoi caratteri preoccupanti. Il più serio di questi è che il promotore 35S sembra avere al suo interno un punto caldo per la ricombinazione, per cui tende a ricombinare con altro DNA.

Sin dall'inizio degli anni Novanta sono sorti alcuni dubbi a proposito della sicurezza di geni virali incorporati nelle piante GM per renderle resistenti agli attacchi da virus. Molti dei geni virali tendono a ricombinare con altri virus generandone di nuovi: nel 1994, Joe Cummins fu tra i primi a fare osservazioni sul promotore CaMV35S mettendone in dubbio la sicurezza.

Nel 1999, l'evidenza definitiva sul punto caldo alla ricombinazione del promotore CaMV 35S fu fornita da due lavori pubblicati, indipendentemente, da due gruppi di ricercatori. Ciò spinse il gruppo di Mae Wan Ho a condurre un'analisi critica della sicurezza che comporta l'impiego del promotore CaMV35S. Si evidenziò così che il punto caldo per la ricombinazione del promotore CaMV35S è affiancato da diversi elementi noti per essere coinvolti in processi di ricombinazione e simili ad altri punti caldi, tra cui anche gli estremi del DNA di *Agrobacterium tumefaciens* usato come vettore per la trasformazione delle piante. Inoltre, questo promotore funziona con efficienza in molti organismi diversi (piante, alghe verdi, lieviti ed *Escherichia coli*) ed è dotato di struttura modulare, cioè formato da parti comuni a, e quindi interscambiabili con, diversi promotori di altri virus capaci di infettare sia le piante che gli animali.

Tali scoperte suggeriscono che i costrutti transgenici con il promotore CaMV35S dovrebbero essere particolarmente instabili e inclini al trasferimento genico e alla ricombinazione, con tutti i rischi che ne conseguono: mutazioni geniche dovute a inserzioni casuali, cancro, riattivazione di virus dormienti e generazione di nuovi virus. Queste considerazioni furono particolarmente rilevanti alla luce del rapporto di Ewen e Pusztai, pubblicato sulla rivista *The Lancet*, nel quale si evidenziava che certe patate transgeniche contenenti il promotore CaMV35S possono essere nocive per i ratti. Gli autori suggerirono che una parte significativa degli effetti potrebbe essere dovuta "al costrutto o alla trasformazione genetica o a entrambi". Successivamente a tali risultati, il gruppo di Ho chiese l'immediato ritiro di tutte le colture GM contenenti il promotore CaMV35S.

Il problema dei costrutti transgenici risiede nel fatto che tutti o quasi tutti gli elementi integrati nei genomi nel corso dell'evoluzione sono stati "addomesticati", si sono adattati alle condizioni del loro ospite e hanno ridotto la loro mobilità da un individuo a un altro. Tuttavia l'integrazione di costrutti transgenici prima non presenti (come nel caso di quelli contenenti il promotore CaMV35S) possono mobilitare tali elementi, che a loro volta possono fungere da vettori per destabilizzare il DNA transgenico e favorirne il trasferimento.

### ***Evidenze del trasferimento orizzontale del DNA transgenico***

Un mutante di una pianta selvatica, l'*Arabidopsis*, resistente agli erbicidi fu ottenuto attraverso mutagenesi convenzionale in un laboratorio al Department of Ecology and Evolution dell'Università di Chicago. Questo mutante fu usato per creare una linea transgenica (un OGM) mediante introduzione del gene mutato nelle cellule delle altre piante che bisognava rendere resistenti agli erbicidi. Sia il mutante sia le piante transgeniche furono in grado di trasmettere la resistenza agli erbicidi alle piante normali di *Arabidopsis* che crescevano nelle vicinanze, ma con un rapporto variabile: il transgene delle piante transgeniche risultò 30 volte più diffuso tra le piante selvatiche rispetto al gene mutato originario. Questa differenza è difficile da spiegare se ci si basa esclusivamente sulle diverse capacità d'impollinazione delle piante: perché non pensare che sia legata a effetti inattesi del vettore? Perché non ipotizzare che le piante transgeniche potessero produrre più polline o polline più vitale? O che si potesse verificare un trasferimento genico

orizzontale (TGO) attraverso gli insetti che visitano le piante per il polline e il nettare o che succhiano la linfa? Queste possibilità, che non possono essere escluse a priori, non furono investigate e, indipendentemente dal modo in cui il transgene si diffonde, l'esperimento mostrò che il DNA transgenico era capace di comportarsi in maniera diversa dal DNA non transgenico e che in particolare può diffondersi con una capacità superiore al DNA mutante e naturale.

Il trasferimento orizzontale di transgeni e di geni marcatori per la resistenza agli antibiotici da piante geneticamente ingegnerizzate a batteri e funghi del suolo è stato registrato in laboratorio la prima volta verso la metà degli anni Novanta. Il trasferimento di transgeni a funghi fu ottenuto semplicemente allevando funghi insieme a piante transgeniche e il trasferimento ai batteri attraverso l'applicazione di DNA totale, estratto da piante transgeniche, a colture di batteri.

Verso la fine degli anni Novanta, fu possibile estrarre i geni per la resistenza alla kanamicina dalle foglie di piante transgeniche e trasferirli a batteri del suolo del tipo *Acinetobacter*; l'esperimento fu condotto con successo con diversi tipi di piante GM: patata (*Solanum tuberosum*), tabacco (*Nicotiana tabacum*), barbabietola (*Beta vulgaris*), colza (*Brassica napus*), pomodoro (*Lycopersicon esculentum*). Secondo alcune stime, le sequenze transgeniche presenti in una singola pianta GM dovrebbero essere sufficienti per trasformare circa 109 batteri.

Nel 1999, alcuni ricercatori tedeschi riportarono i risultati del primo esperimento di monitoraggio in campo che forniva l'evidenza che il DNA transgenico si trasferiva dai residui della barbabietola da zucchero ai batteri del suolo.

Il DNA non solo persiste nell'ambiente, sia nel suolo sia nell'acqua, ma esso non si degrada in modo sufficientemente veloce nel sistema digestivo per prevenirne il trasferimento ai microrganismi residenti nell'intestino degli animali. La letteratura scientifica esistente mostra che il rischio di TGO esiste.

### **Conclusioni**

Quanto finora riportato mostra come il trasferimento genico orizzontale (TGO) esista realmente, sebbene la ricerca per studiarne i meccanismi non venga pianificata adeguatamente. La valutazione del rischio per l'ambiente non può concentrarsi solo sulle distanze di coltivazione per evitare la contaminazione delle colture circostanti dal trasferimento genico verticale (cioè attraverso l'impollinazione), ma deve considerare anche il trasferimento genico orizzontale del DNA transgenico che è molto più pericoloso e subdolo di quello verticale perché non conosce distanze né barriere tra specie. La letteratura esistente sul TGO è sufficiente a dimostrare che la coesistenza di piante transgeniche con piante non transgeniche è impossibile. La coesistenza significa, in modo certo, contaminazione anche di piante e microrganismi appartenenti a specie molto diverse e lontane. In definitiva, le piante transgeniche non solo non servono e non risolvono i problemi della fame nel mondo, ma sono anche nocive per la salute, l'ambiente e la biodiversità. Non si comprende perché, nonostante le evidenze, il TGO è completamente ignorato dalle istituzioni pubbliche deputate a salvaguardare la salute dell'uomo. Se il TGO ricevesse la dovuta attenzione, gli OGM sarebbero ormai solo un ricordo. Il vero flagello dell'ingegneria genetica è il DNA transgenico, un DNA instabile e facile alla ricombinazione. L'ingegneria genetica non funziona: gli OGM non risolvono i problemi della fame nel mondo e sono nocivi per la salute. Qualunque governo bene informato non dovrebbe consentire l'introduzione, la coltivazione e l'uso di piante transgeniche, sia per usi alimentari che non alimentari.

### **Ringraziamenti**

Ringrazio Mae Wan Ho, Direttrice della rivista *Science in Society*, e Joe Cummins, Professore Emeritus di Genetica all'Università di Western Ontario, perché senza i loro contributi, questo lavoro non sarebbe stato possibile. Desidero ringraziare anche Giovanni Monasta e gli organizzatori del Convegno "Task Force per un'Italia Libera da OGM", svoltosi presso

l'Auditorium Ara Pacis di Roma, il 20 luglio 2010, per avermi dato la possibilità di intervenire e presentare i risultati riportati nel presente lavoro.

### ***Bibliografia consigliata***

1. Beachy R, Bennetzen JL, Cgassy BM, Chrispeels M, Chory J, Ecker JR, Noel JP, Kay SA, Dean C, Lamb c, Jones J, Santerre CR , Schroeder JI, Umen J, Yanofshy M, Wessler S, Zhao Y and Parrott W, 2002. *Divergent perspectives on GM food*. Nature biotechnology 2002, 20, 1195-6..
2. Bergelson, J, Purrington, CB and G Wichmann, 1998. *Male promiscuity is increased in transgenic plants*. Nature 395: 25.
3. Bizzarri M., 2001. *Quel gene di troppo. L'inquietante realtà dei cibi transgenici*. 168 pp. Frontiera Editore, Milano
4. Buiatti M., 2006. *Epigenetic Processes and the "Unintended Effects" of Genetic Engineering*. Proc.of the Conference: "Epigenetics, Transgenic Plants & Risk Assessment, Dec. first 2005, Literaturhau, Frankfurt and Main, Germany,. Freiburg, April 2006. Katja Moch (Ed.). ISBN-Nr. 3-934490-24-7, 12-14.
5. Burke C, Yu XB , Machitelli L, Davis EA, Ackerman S., 1990. *Transcription factor IIa of wheat and human function similarly with plant and animal viral promoters*. Nucleic Acids Res. 1990, 18, 3611-20
6. Courtail B, Fenebach F, Ebehard S, Rhomer L, Chiapello H, Carilleri C and Lucas H, 2001. *Tnt 1 transposition events are induced by in vitro transformations of Arabidopsis thaliana, and transposed copies integrated into genes*. Mol gen genomics 2001, 265,32-42
7. Cummins Joe, 2002. 2002. *Poison pharm crops near you*. Science in Society , 2002, 15,16.
8. Cummins J. Ho MW and Ryan A., 2000. *Hazardous CaMV promoter ?* Nature biotechnology 2000, 18, 363.
9. Dobrindt U., Hochhut B., Hentschel U. and Hacker J., 2004. *Genomic islands in pathogenic and environmental microorganisms*. Nature Reviews Microbiology, 2: 414-424.
10. Doolittle W.F. 1999. *Lateral genomics*. Trends Cell Biol., 9, 5-8.
11. Erika Check, 2003. *Cancer fears cast doubts on future of gene therapy* .Nature news, 421,678.
12. Ermakova I., 2005. *Conclusion to the report about feeding of rats by genetically modified potatoes*. Russet Burbank Agrarian Russia 2005: 62-64.
13. Ermakova I., 2006. *Influence of genetically modified soya on the birth-weight and survival of rat pups*. Proc.of the Conference: "Epigenetics, Trans-genic Plants & Risk Assessment, Dec. ist 2005, Literaturhau, Frankfurt and Main, Germany,. Freiburg, April 2006. Katja Moch (Ed.). ISBN-Nr. 3-934490-24-7, 41-47.
14. Ewen S., Pusztai A., 1999. *Effect of diets containing genetically modi-fied potatoes expressing Galianthus nivalis lectin on rat small intestine*. The Lancet, 354, 1352-4.
15. Frost L.S., Leplae R., Summers A.O. and Toussaint A., 2005. *Mobile genetic elements: the agents of open source evolution*. Nature Reviews Microbiology, 3: 722-732
16. Gibbs M and Weiler G. , 1999. *Evidence that a plant virus switched hosts to infect a vertebrate and then recombined with a vertebrate infecting virus* . Proceedings of the National Academy of Science USA 1999, 96, 8022-7.
17. Gogarten J. Peter and Townsend Jeffrey P, 2005. *Horizontal gene transfer, genome innovation and evolution*. Nature Reviews Microbiology, 3679-687.
18. Gogarten, Maria Boekels; Gogarten, Johann Peter; Olendzenski, Lorraine (Eds.), 2009. *Horizontal Gene Transfer*. 500p. 87 ill., 2 in color., Hardcover ISBN: 978-1-60327-852-2.

19. Grillot-Courvalin C, Goussand S, Huetz F, Ojcius DM, Courvalin P., 1998. *Functional gene transfer from intracellular bacteria to mammalian cells*. Nature Biotechnology, 16, 862-6.
20. Ho MW, Traavik T, Olsvik R, Tappeser B, Howard V, von Weizsacker C, McGavin G., 1998. *Gene technology and gene ecology of infectious diseases*. Microb. Ecol. Health Dis. 1998,10, 35-59.
21. Ho MW, Ryan A and Cummins J., 1999. *Cauliflower mosaic viral promoter – a recipe for Disaster?* Microbial Ecology in Health and Disease 1999 11, 194-7
22. Ho MW. *What is horizontal gene transfer?* SCOPE website, AAAS, Science, 2000.
23. Ho MW, Ryan A and Cummins J., 2000. *Hazards of transgenic plants with cauliflower mosaic viral promoter*. Microbial Ecology in Health and Disease 2000, 12, 189.
24. Ho MW, Ryan A and Cummins J., 2000. *CaMV 35S promoter fragmentations hotspot confirmed and it is active in animals*. Microbial Ecology in Health and Disease 2000, 12. 189
25. Ho MW. *Horizontal Gene Transfer. Hidden Hazards of Genetic Engineering*. TWN Biotechnology & Biosafety Series 4, Penang, 2001.
26. Ho MW. 2001. *Genetic engineering superviruses*, ISIS News 9/10, July 2001.
27. Ho MW and Cummins J. GM., 2001. *AIDs virus more deadly*. ISIS News 11/12 October 2001, ISSN: 1474-1547, ISSN : 1474-1814 .
28. Ho Mae-Wan. *Predicted hazards of gene therapy a reality*. ISIS Report October 2002, Commenting on Science, News of the Week, 4 October 2002.
29. Ho MW.. 2002. *GM and bioweapons, in the post genomics-era*. Science in Society 15, 2002, 15.
30. Ho MW, 2003. *Gene therapy's first victim*. Science in Society, 17, 26-27.
31. Ho Mae-Wan, 2003. *Living with the Fluid Genome*. Published by ISIS (Institute of Science in Society) & the TWN (Third World Network).
32. Ho MW and Cummins J. Horizontal gene transfer from GMOs does happen. Science in Society 39, 22-24, 2008.
33. Ho MW. Transgenic lines unstable hence illegal and ineligible for protection. Science in Society 39, 28-29, 2008.
34. Ho MW. GM maize disturbs immune system of young and old mice. Science in Society 41, 42, 2009.
35. Hull R, Covey SN, and Dale P., 2000. *Genetically modified plants and the 35S promoter assessing the risks and enhancing the debate* . Microbial Ecology in Health and Disease 2000, 12,1-5.
36. Jain R, Rivera MC, Lake JA. 1999. *Horizontal gene transfer among genomes: The complexity hypothesis*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 96, 3801-6.
37. Malatesta M., 2006. *A diet based on genetically modified soybean affects cell functions in mice*. Proc.of the Conference: "Epigenetics, Trans-genic Plants & Risk Assessment, Dec. 1st 2005, Literaturhaus, Frankfurt and Main, Germany,. Freiburg, April 2006. Katja Moch (Ed.). ISBN-Nr. 3-934490-24-7, 48-50.
38. Malatesta M., Caporalony C., Gavaudan S., Rocchi M.B.L., Tiberi C., Gazzanelli G., 2002. *Ultrastructural, morphometrical and immunocytochemical analysis of hepatocyte nuclei from mice fed on genetically modified soybean*. Cell Struct. Funct. 27, 173-180.
39. Malatesta M., Biggiogera M., Manuali E., Rocchi M.B.L., Baldelli B., Gazzanelli G. 2003. *Fine structural analyses of pancreatic acinar cell nuclei from mice fed on GM soybean*. Eur. J. Histochem. 47, 385-388.
40. Monastra G., 2002. *"Maschera e volto" degli OGM: Fatti e misfatti degli organismi geneticamente modificati*. 120 pp. Edizioni Settimo Sigillo, Roma.
41. Nielsen KM, Bones AM, Smalla K, van Elsas, JD., 1998. *Horizontal gene transfer from transgenic plants to terrestrial bacteria-a rare event?* FEMS Microbiol. Rev., 22, 79-103.

42. Perrino P. and Ho Mae-Wan, 2006. *Horizontal transfer of transgenic DNA*. Proceedings of the “Workshop – Environmental risk assessment of GM plants: discussion and consensus”, organized by ENEA and held at TRISAIA, Policoro (MT), Italy, 5-9 June 2006.
43. Perrino P. and Ho MW, 2008. Il DNA transgenico ed effetti sulla biodiversità ambiente e salute. In “La Biodiversità – Risorsa per Sistemi Multifunzionali. Atti del Convegno Nazionale sulla Biodiversità, pagine 512. Lecce, 21-23 aprile 2008: 337-339.
44. Pollack A., 2003. *Gene therapy trials halted*, 15 January, 2003, The New York Times.
45. Prljic J, Veljkovic N. Doliana R., Colombatti A, Johnson E, Metlas R. and Veljkovic V., 1999. *Identification of an active Chi recombinational hot spot within the HIV-1 envelope gene: consequences for development of AIDS vaccine*. Vaccine 1999; 17: 1462-7.
46. Pusztai A., 2001. *Genetically Modified Foods: Are They a Risk to Human/Animal Health?* An ActionBioscience.org original article. Biotechnology: genetically modified organisms.
47. Schubert D. , 2002. *A different perspective on GM food*. Nature biotechnology 2002, 20, 969.
48. Simpson DJ, Fry JC, Rogers HJ and Day MJ. *Thematic issue on horizontal gene transfer. Transformation of Acinetobacter baylyi in non-sterile soil using recombinant plant nuclear DNA*. Environ Biosafety Res 2007, 6, 101-12.
49. Sørensen S.J., Bailey M., Hansen L. H., Kroer N. and Wuertz S, 2005. *Studying plasmid horizontal transfer in situ: a critical review*. Nature Reviews Microbiology, 3: 700-710.
50. Tappeser B, Jager M and Eckelkamp C. 1999. *Survival, Persistence, Transfer, An update on current Knowledge on GMOs and the fate of their recombinant DNA*. TWN Biotechnology & Biosafety series 3, Third World Network, Penang.
51. Traavik T. *Too Early May Be Too Late: Ecological Risks Associated with the Use of Naked DNA as a Biological Tool for Research, Production and Therapy*. Report for the Directorate for Nature Research, Trondheim, 1998.
52. Veljkovic V. Metlas R, Kohler H, Urnovitz HB, Prljic J, Veljkovic E and Muller S. , 2001. *AIDS epidemic at the beginning of the third millennium: time for a new AIDS vaccine strategy*. Vaccine 2001, 19,1855-62.
53. Veljkovic V. and Ho MV. , 2002. *Edible AIDS vaccine or dangerous biological agent?* AIDS Science 25 April 2002.