

## 6. OGM ANIMALI E ALIMENTAZIONE

### *1. Introduzione*

Gli organismi transgenici offrono l'opportunità di migliorare la produzione e le caratteristiche di microrganismi, piante e animali. Un numero considerevole di specie animali è stato oggetto di tecnologie transgeniche, in particolare gli animali da laboratorio e domestici.

Per quanto riguarda l'alimentazione, i pesci sono, al momento, i principali, se non gli unici, animali oggetto di transgenesi a scopo alimentare. Infatti l'acquacoltura rappresenta il più avanzato settore di produzione alimentare animale e il più diversificato per numero di specie. Finora sono almeno trecento le specie di animali acquatici allevati. Pesci transgenici sono stati ottenuti, oltre che per l'alimentazione, anche per la produzione di proteine di interesse farmacologico e per monitorare la presenza di sostanze genotossiche in acque inquinate.

È probabile che nei prossimi anni si svilupperanno anche per altri animali di interesse alimentare (quali bovini, ovini, suini, polli) quelle strategie idonee a utilizzare il potenziale valore economico della transgenesi per accrescere la produzione di carni, latte, uova, nonché la resistenza alle malattie. Molto incoraggiante al riguardo è la recente dimostrazione che nel topo è possibile, mediante la tecnica del knockout genetico, inattivare il gene del prione responsabile della encefalopatia spongiforme (Flechsigs e coll., 2000).

### *2. Applicazioni della transgenesi nei pesci*

#### *2.1. Tecniche di transgenesi usate nei pesci*

La transgenesi nei pesci viene praticata fondamentalmente mediante autotransgenesi, cioè attraverso l'integrazione di sequenze di DNA della stessa specie. La microiniezione di uova fecondate è la tecnica più usata. Essa

è stata introdotta per la prima volta nel 1984 per la trota (*Oncorhynchus mykiss*) da Maclean e Talwar e nel 1985 per il pesciolino rosso (*Carassius auratus*) da Zhu e coll. Questa tecnica può presentare alcuni inconvenienti per la bassa probabilità di integrazione del transgene nel genoma dell'ospite in quanto la microiniezione viene eseguita nel citoplasma. Per superare tale ostacolo viene iniettato un gran numero di molecole (circa  $10^6$ ), che, d'altra parte, può dimostrarsi letale per lo sviluppo dell'embrione. Il grande numero di molecole iniettate può inoltre portare alla integrazione nel genoma di numerose copie (concatenameri) con conseguente possibile effetto dose e ricombinazioni sbilanciate nella progenie.

Altri possibili inconvenienti sono rappresentati dalla integrazione delle sequenze in modo casuale con conseguente effetto di posizione, possibile mutagenesi da inserzione e mosaicismo in quanto, in quest'ultimo caso, di norma i transgeni si integrano nel genoma dell'ospite dopo la prima divisione di segmentazione dell'uovo.

A seguito del mosaicismo le gonadi del pesce transgenico produrranno sia gameti che contengono il transgene sia quelli che ne sono privi.

## 2.2. Transgenesi e accrescimento

L'applicazione più comune della transgenesi nei pesci è quella relativa all'aumento della massa corporea. Questo è stato ottenuto con l'impiego di geni dell'ormone dell'accrescimento di mammiferi, principalmente umano, di bovino e ratto. Più recentemente sono state utilizzate sequenze di pesci (autotransgenesi). I migliori risultati sono stati ottenuti con il salmone, che può raggiungere un aumento di peso 10 volte maggiore del peso dei controlli. Invece aumenti limitati sono stati raggiunti in tilapia, luccio e pesce gatto.

### a. Transgenesi e resistenza al freddo

Altra importante applicazione della transgenesi consiste nella produzione di pesci resistenti alle basse temperature, utilizzando geni di proteine antigelo, ottenute da pesci delle regioni polari. Queste sono glicoproteine identificate nel merluzzo atlantico (*Dissastichus mawsoni*) (Davies *et al.*, 1989). Tuttavia la trasfezione di questi geni nel salmone non conferisce la resistenza al freddo, probabilmente per il suo basso livello di espressione e per il fatto che le proteine antigelo sintetizzate devono essere processate per diventare pienamente funzionali. Una certa tolleranza al freddo è stata ottenuta nel pesciolino rosso (*Carassius auratus*) da Vang e coll. (1995).

### *b. Transgenesi per la tolleranza alle variazioni di salinità*

Un carattere di interesse ecologico è rappresentato dalla resistenza alle variazioni di salinità, particolarmente in aumento, che permette un maggiore adattamento alle variazioni ambientali. Essendo stato dimostrato che la prolattina è il principale ormone che controlla la osmoregolazione nei pesci, sono state tentate autotrasfezioni per ottenere individui iperprolattinemici (cfr. Iyengar *et al.*, 1996).

### *2.3. Transgenesi per la resistenza alle malattie*

Un altro interessante contributo della transgenesi è rappresentato dalla produzione di pesci resistenti alle malattie infettive e parassitarie. Attualmente sono in corso due linee di ricerca. La prima consiste nella vaccinazione con DNA batterico o virale. Questo, iniettato nei muscoli del pesce, codifica per una proteina antigenica che provoca la formazione di anticorpi.

Si tratta di transgenesi somatica, quindi non trasmissibile alla progenie, la cui espressione è limitata nel tempo per la risposta immune. Con tale tecnica è possibile anche una polivaccinazione con sequenze di DNA di diverse forme dello stesso patogeno.

L'altro approccio transgenetico è rappresentato dal potenziamento della immunità naturale. I geni che codificano per proteine antivirali, antibatteriche o antiparassitarie vengono trasferiti nel genoma di pesci per esaltarne la resistenza naturale alle malattie. A differenza della tecnica precedente, in questo caso è possibile la trasmissione della resistenza alle malattie alla progenie. Inoltre con la vaccinazione, sebbene la transgenesi interessi solo le cellule somatiche, per cui è improbabile che il transgene venga trasmesso alla progenie, non è da escludere il rischio di una diffusione epizootica del virus o del batterio alla popolazione selvatica (cfr. Maclean e Laight, 2000).

### *2.4. Transgenesi e sterilità*

Con la transgenesi è possibile produrre pesci sterili. La sterilità assicurerebbe il controllo della eventuale dispersione dei pesci transgenici nell'ambiente, sebbene non prevarrebbe una competizione transitoria con le specie selvatiche.

La sterilità può essere ottenuta anche mediante l'induzione della triploidia. Questa viene realizzata prevenendo l'espulsione del secondo globulo polare dell'ovocite. La ritenzione del globulo polare porta, dopo la fecondazione, alla presenza nell'uovo di tre nuclei aploidi, uno di origine pater-

na e due di origine materna. Da questo tipo di uovo si sviluppa un pesce triploide, che presenta oltre a disturbi meiotici anche uno sviluppo ridotto delle gonadi, in particolare dell'ovario. La ritenzione del secondo globulo polare è ottenuta più comunemente mediante shock termico che varia da 1 a 10 minuti e da 28°C a 40°C, secondo la specie. La prevenzione della espulsione del secondo globulo polare può essere ottenuta anche con basse temperature o con aumento della pressione.

La percentuale di successo di tali tecniche varia da specie a specie. Quando si avvicina al 100% aumenta la mortalità.

La sterilità per transgenesi implica la trasfezione di geni che esprimano molecole che antagonizzano una delle funzioni essenziali per la fertilità. Attualmente il gene su cui si concentra l'attenzione è quello che codifica per il GnRH, l'ormone ipotalamico rilasciante le gonadotropine ipofisarie, necessarie per lo sviluppo e la maturazione delle gonadi. Altre vie seguite per ottenere la sterilità sono rappresentate dall'uso di geni antisenso oppure dall'uso di ribozimi che tagliano selettivamente cifici RNA messengeri. Si tratta di ipotesi di lavoro in via di sperimentazione (cfr. Maclean e Laight, 2000).

### *2.5. Rischi e benefici della transgenesi nei pesci*

Le numerose riserve sollevate nei riguardi della transgenesi nei pesci rientrano in parte tra quelle fatte per gli OGM, in generale, come quelle che si riferiscono all'artificialità della tecnologia, alla possibilità di comparsa di caratteristiche nocive per la salute del consumatore, e a quelle dei danni arrecati all'ecosistema e alla biodiversità nel caso della loro dispersione nell'ambiente.

È ovvio che se una proteina ottenuta per transgenesi risultasse tossica non per il pesce ma per l'uomo, questa verrà rapidamente bandita. Infatti tutti i pesci transgenici vengono analizzati per assicurarne la innocuità. Comunque i pesci transgeneci finora prodotti a scopo alimentare (circa 13 specie) si sono dimostrati innocui. Lo stesso ormone dello sviluppo, codificato da transgeni specifici, si è dimostrato sicuro in quanto, essendo proteina, viene digerita nell'intestino, a differenza degli ormoni steroidi. Così come finora mancano segnalazioni della comparsa di reazioni allergiche o di altri tipi di intolleranza. D'altra parte una proteina espressa da un transgene non è diversa, per il sistema immunitario, da qualsiasi altra proteina estranea all'organismo. Caso mai il transgene risulterà "nuovo" per il genoma in cui si inserisce.

Il rischio che va preso in seria considerazione invece è anzitutto l'eventuale impatto genetico sulla popolazione selvatica per la comparsa di

ibridi nel caso della dispersione nell'ambiente di individui transgenici. Tale rischio verrebbe comunque escluso nel caso di sterilità, naturale o indotta, degli animali transgenici. Comunque, per quanto riguarda l'impatto genetico sulla popolazione selvatica, non va dimenticato che nei pesci la transgenesi è ormai di tipo autotransgenico, per cui il pool genetico non viene alterato. Anche in assenza di tali rischi, quando le condizioni ambientali permettono la sopravvivenza dei pesci transgenici, la dispersione di questi può essere paragonata all'introduzione di pesci esotici, come avvenuto in varie occasioni, per esempio con l'introduzione della *Gambusia holbrooki* nelle acque dolci importata in Europa dall'America centrale, per la lotta antianofelica.

A protezione dell'ecosistema e della biodiversità si è raggiunto un accordo internazionale in occasione della riunione del *Working Group on the Application of Genetics in Fisheries* a Gdynia, Polonia, dal 17 al 21 febbraio 1997, sotto l'egida del *Council for the Exploration of the Sea*, che ha emanato sei rigide raccomandazioni di cui le più importanti impongono l'isolamento degli allevamenti dei pesci transgenici e la loro totale sterilità, in modo da prevenire possibili impatti genetici sulla popolazione selvatica in caso di dispersione nell'ambiente. Tali raccomandazioni sono state fatte proprie dall'*European Aquaculture Producers Association* di cui fa parte l'*Associazione Italiana degli Acquacultori*.

Le enormi potenzialità della transgenesi nei pesci per l'alimentazione, una volta rispettate le norme di sicurezza succitate, saranno in grado di soddisfare le richieste di quelle nazioni con problemi di deficit di proteine animali e allo stesso tempo potranno ridurre i prezzi grazie all'accorciamento del ciclo di produzione. Tali vantaggi, associati a una relativa apparenza normale del prodotto transgenico, potranno favorire la transizione dall'attuale diffuso rifiuto del consumatore dei prodotti transgenici verso il loro giusto apprezzamento (cfr. Colombo e Belvedere, 2000).

### Bibliografia

- COLOMBO L. e BELVEDERE P. (2000). *Biotechnological approaches for the improvement of performance and pathogen control in fish culture*. In: *Proceedings of the TEBIO 2000 Conference on Biotechnology*, Genova. Italy. 24/26.05;
- DAVIES P.L., FLETCHER G.L. and HEW C.L. (1989). *Fish antifreeze protein gene and their use in transgenic studies*. In: N. Maclean ed. *Oxford Surveys on Eukaryotic Genes*, 6, Oxford University Press. Oxford. pp. 85-109;
- FLECHSIG E., SHINDERLING D., HEGYL, T., RAUBER, A.J., FICHER, M. COZZIO, A., VON MERLING, C., AGUZZI, WEISSMANN C. (2000). *Prion protein devoid of the oc-*

- tapeptide repeat region restores susceptibility to scrapie in knockout mice.* Neuron, 27: 399-408;
- IYENGAR A., MILLER F., MACLEAN N. (1996). *Regulation and expression of transgenes in fish – a review.* Transgenic Research. 5: 147-166;
- MACLEAN N. and LAIGHI R.J. (2000). *Transgenic fish: an evaluation of benefits and risks.* Fish Fisher. 1: 146-172;
- MACLEAN N. and TALWAR S. (1984). *Injection of cloned genes into rainbow trout eggs.* J. Embryol. Exp. Morph. 82: 187;
- WANG R., ZHANG P., GONG Z. and HEW C.L. (1995). *Expression of the antifreeze protein gene in transgenic coldfish (Carassius auratus) and its implication in cold adaptation.* Molec. Mar. Biol. Biotechnol.. 4:20-26;
- ZHU Z., LI G., HE L. and CHEN S. (1985). *Novel gene transfer into the fertilized eggs of goldfish (Carassius auratus L. 1758).* J. Appl. Ichthyol. 1: 31-34.