Rendiconti
Accademia Nazionale delle Scienze detta dei XL
Memorie di Scienze Fisiche e Naturali
122° (2004), Vol. XXVIII, pp. 225-235

LUIGI ROSSI *

La biodiversità e le moderne tecnologie genetiche

Sommario – Le metodologie di genetica molecolare e genomica permettono attualmente di studiare la costituzione del patrimonio genetico a livello del singolo gene o addirittura del singolo nucleotide. È possibile pertanto utilizzare queste conoscenze e le relative tecnologie per caratterizzare il germoplasma delle piante, identificare i geni chiave che caratterizzano una varietà. Alcuni geni possono essere trasferiti in altri genotipi e portare alla costituzione di nuove varietà; invece di trasferimenti di interi genomi come avviene con l'incrocio, trasferimento mirato di singoli geni. Sequenziato il genoma di una pianta, si possono studiare i geni per la funzione che svolgono, sia a livello di RNAmessaggero che di proteine (proteomica); si può studiare e caratterizzare la variabilità individuale (di una singola pianta) all'interno della specie stessa. Come esempio si cita la biodiversità relativa ai pigmenti vegetali (tannini, antociani, caroteni, licopeni, ecc.), prodotti di grande interesse nutriceutico e commerciale. Le catene biosintetiche di tali metaboliti sono già note e grande è la biodiversità all'interno della catena metabolica. Con le tecnologie genetiche più avanzate si può conoscere, caratterizzare, controllare tali catene metaboliche e quindi indirizzare la produzione di tali metaboliti.

Negli ultimi 30 anni, grazie principalmente alle tecnologie genetiche, ma anche a quelle agronomiche, chimiche, meccaniche, l'agricoltura mondiale ha raddoppiato la produzione, ha incrementato del 40% la disponibilità di cibo e ne ha ridotto del 50% il prezzo reale. L'agricoltura intensiva, ad alto impiego di mezzi tecnici, sviluppatasi ancor prima dell'avvento degli OGM, non è stata e non è scevra di conseguenze negative sull'ambiente (acqua, suolo, biodiversità), sull'assetto sociale e culturale delle popolazioni. Per aumentare, come necessario, la produzione globale e migliorarne la qualità, appare indispensabile sviluppare la ricerca e la formazione in agricoltura, in particolare quella biotecnologica, in un approccio olistico che integri le nuove tecnologie con le istanze socio-economiche.

La biodiversità agricola, risorsa fondamentale per soddisfare il bisogno primario dell'umanità (l'alimentazione), ha accompagnato il lavoro di generazioni di agri-

* Direttore ENEA/BIOTEC, Centro di Ricerche Casaccia - Via Anguillarese 301, 00060 S.M. di Galeria - Roma. E-mail: rossilb@casaccia.enea.it

coltori che hanno domesticato, adattato e conservato piante e animali da oltre 10.000 anni, cioè fin dagli inizi dell'agricoltura. Essa dunque è il frutto del lavoro dell'uomo ed è condizionata dalle stesse tecnologie che l'uomo ha sviluppato per l'agricoltura.

Lo sviluppo di nuove varietà sempre più produttive derivanti dall'attività di miglioramento genetico, insieme all'uso dei fertilizzanti, alla meccanizzazione, all'uso di più efficienti tecniche agronomiche ed allo sviluppo di tecniche di difesa da patogeni e parassiti, ha consentito di aumentare notevolmente le produzioni agricole soprattutto nei paesi sviluppati, ma anche in molti paesi in via di sviluppo, che hanno potuto raggiungere l'autosufficienza nella produzione di cereali coltivando le nuove varietà.

Grazie ai miglioramenti realizzati in *frumento, riso e mais*, (i cereali che assicurano almeno due terzi del cibo per la popolazione mondiale), dal 1960 al 1990:

- la produzione globale di cereali è raddoppiata;
- la disponibilità di cibo pro-capite è incrementata del 37%;
- il prezzo reale del cibo si è ridotto del 50%.

I vantaggi sopra indicati sono dovuti, almeno per il 50%, al contributo della genetica.

Nel caso del riso, negli anni 1963-1993, la produzione globale è salita da 250 a 520 Milioni di tonnellate, e la produttività da 20,5 quintali/ha a 35,3 quintali/ha.

Dal 1810 al 1890 la produzione di grano per ettaro in Francia si aggirava sui 10 quintali e non superò i 12 fino al 1940, quando, con l'introduzione delle nuove

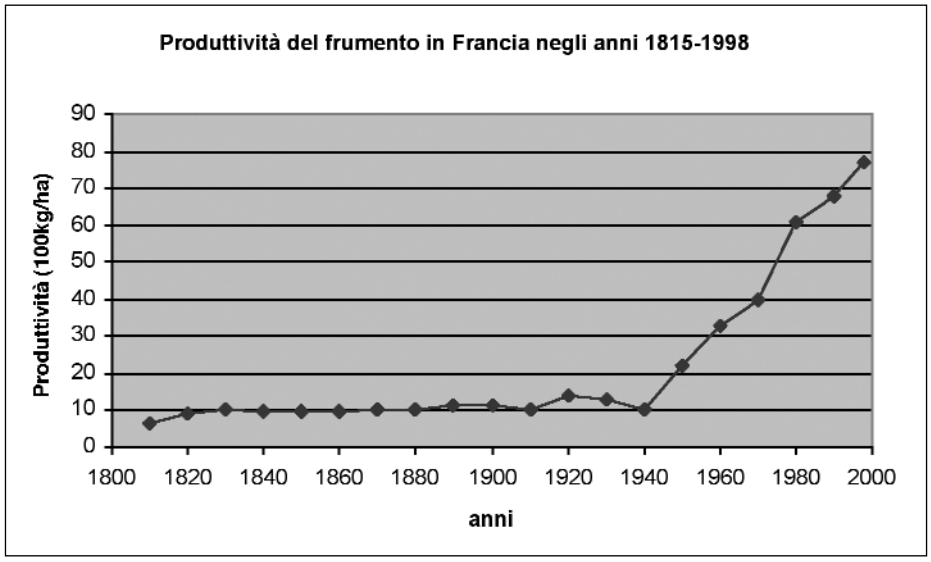

Fig. 1 - Andamento della produttività media del frumento in Francia.

varietà e l'adozione di tecniche agronomiche adeguate, la produttività si innalzò rapidamente e continuamente fino a raggiungere ben 77 quintali/ha nel 1998. Analogamente nel Regno Unito la produttività del frumento non fu superiore ai 15 quintali/ha fino al 1920, cominciò a crescere debolmente fino al 1950, per poi aumentare fortemente negli ultimi 30 anni.

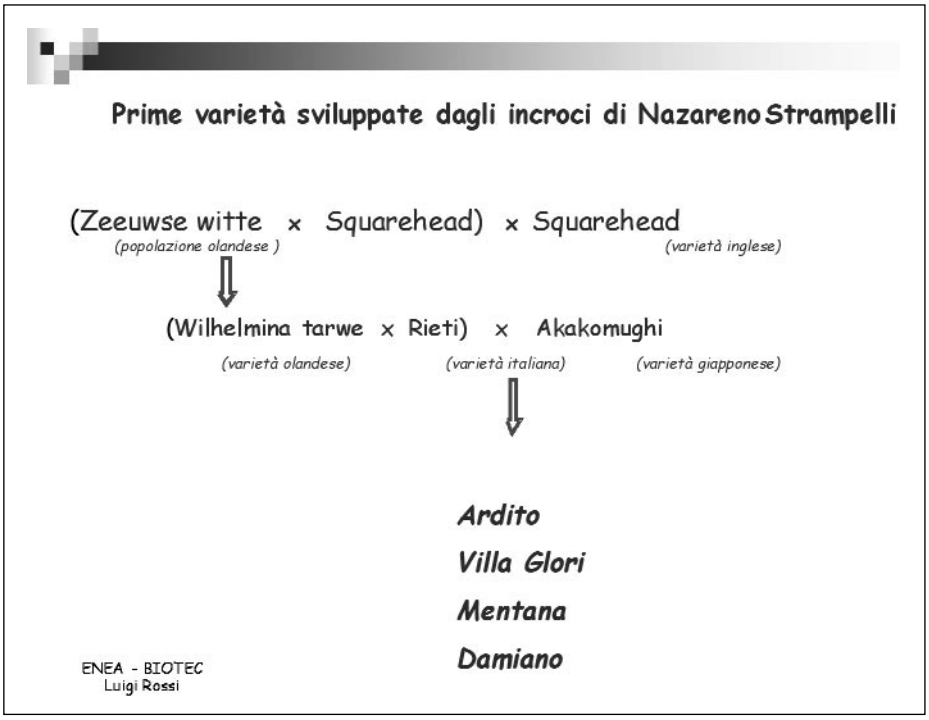

Fig. 2 - Prime varietà sviluppate dagli incroci di Nazareno Strampelli.

Per quanto riguarda il nostro Paese, all'inizio del secolo scorso il grande genetista italiano Nazareno Strampelli, con l'intento di migliorare le caratteristiche dei grani teneri italiani, troppo alti e pertanto soggetti all'allettamento, troppo tardivi e quindi estremamente suscettibili agli attacchi di ruggine e di oidio, incrociò la progenie di un incrocio fra la varietà Rieti e una varietà olandese (Wilhelmina Tarwe, frutto di un precedente incrocio tra grani inglesi ed olandesi), con un grano giapponese di nome Akagomuchi (precoce e a taglia molto bassa). Quell'incrocio triparentale (meglio forse chiamarlo pentaparentale), si rivelò un vero colpo di genio. Si tratta di un incrocio chiave, un vero «crogiuolo genetico» (melting pot) dove sono presenti i geni fondamentali: la bassa taglia, la precocità, l'insensibilità al fotoperiodo, la resistenza al freddo, la resistenza alle ruggini, l'elevata fertilità della spiga,

l'attitudine a crescere in condizioni agro-climatiche molto diverse e cosi via. Tutte caratteristiche già ben assortite nelle quattro varietà fondamentali selezionate da Strampelli, vale a dire Ardito, Mentana, Villa Glori e Damiano Chiesa. Varietà che hanno fatto il giro del mondo e che hanno rivoluzionato la granicoltura mondiale, contribuendo a sfamare miliardi di persone.

Qualcosa di analogo è successo per il grano duro e per la pasta, prodotti tipici italiani. Le innovazioni genetiche, le nuove varietà di grano duro realizzate anzitutto presso il Centro Casaccia dell'ENEA (ex CNEN), hanno determinato il successo di tale coltura. Le nuove varietà, ottenute prima con la mutagenesi e successivamente con la tecnica dell'incrocio, hanno fatto crescere tutta la coltura: da povera, sinonimo di povertà economica, agronomica, quella del grano duro è diventata una coltura ad alta tecnologia: seme certificato, tecniche agronomiche accurate, industria molitoria e pastaria italiana divenuta la prima nel mondo. La tecnologia ha richiamato e sviluppato nuova tecnologia, inclusa quella organizzativa e ha determinato il successo di una coltura e di una economia. E la pasta è rimasta un prodotto tipico, anzi si è affermata come prodotto tipico, piatto tipico. Senza la ricerca genetica e l'innovazione, la competitività del grano duro nei confronti del grano tenero sarebbe venuta meno. E anche il prodotto tipico pasta, fatta di solo grano duro, sarebbe rimasto una nicchia sul mercato globale.

La costituzione delle nuove varietà vegetali (come l'uso di razze animali più produttive) ha determinato spesso una radicale sostituzione di quelle tradizionali meno produttive, determinando per la stessa coltura, contestualmente a forti incrementi di produzione, una riduzione della variabilità genetica esistente. La comunità scientifica internazionale ed alcune nazioni, in particolare l'Italia, hanno preso coscienza ben presto di questo problema e della necessità di salvaguardare il patrimonio genetico delle specie, anche al fine di rendere possibili ulteriori miglioramenti di quelle coltivate. Tale consapevolezza si é concretizzata nel 1970 con la costituzione a Bari della Banca del Germoplasma. L'Italia da dieci anni accoglie a Roma anche l'«Istituto Internazionale per le Risorse Genetiche Vegetali» (IPGRI) che ha sedi operative in tutto il mondo.

Non è solo importante accrescere la produzione, ma mantenerla costante e sicura nel tempo. Una componente importante infatti è la resistenza genetica alle malattie. Tali resistenze sono facilmente superate dalla mutazione e dalla selezione naturale a livello del parassita, per cui nuove resistenze genetiche devono essere individuate e trasferite nelle piante coltivate. In questa continua sfida tra l'uomo e la natura, la variabilità genetica, presente nelle singole specie coltivate, ed ancor più nelle specie affini, esercita un ruolo fondamentale perché è ad essa che il genetista normalmente ricorre con successo per salvaguardare gli elevati standard produttivi delle varietà coltivate.

Il miglioramento genetico determina quindi un duplice risultato: da un lato di essere il principale strumento per soddisfare le esigenze di alimentazione dell'umanità, dall'altro, di condizionare la biodiversità che è la risorsa fondamentale per lo stesso miglioramento genetico.

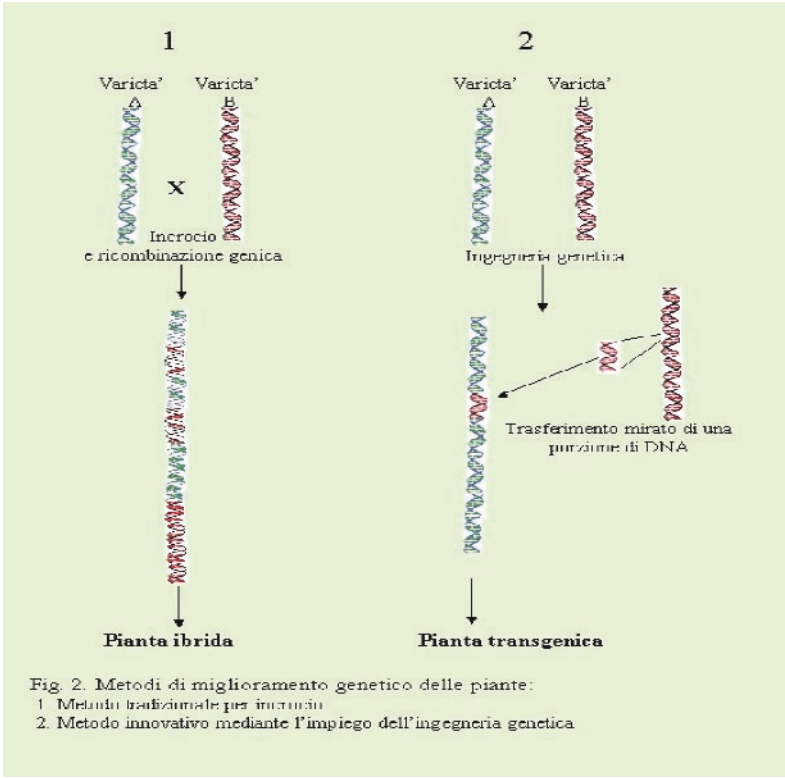

Fig. 3 - Incrocio ed ingegneria genetica.

Dopo l'accettazione e la diffusione generalizzata del metodo dell'incrocio intraspecifico (cioè tra individui della stessa specie) come strumento base per la costituzione di nuove e più produttive varietà, altre acquisizioni della genetica (es. eterosi o lussureggiamento degli ibridi di prima generazione) ed altre metodologie ausiliari (es. ibridazione interspecifica e intergenerica, tecniche citologiche e citogenetiche, poliploidia indotta, mutazioni indotte artificialmente, colture in vitro di cellule e tessuti, ecc.) hanno arricchito ulteriormente il ventaglio delle possibilità a disposizione del *breeder.*

Un esempio eclatante del successo delle tecniche di «miglioramento» delle piante è rappresentato dagli eccezionali livelli produttivi raggiunti dagli ibridi di mais. Altrettanto significativa è stata la «Rivoluzione della bassa taglia», iniziata da Strampelli nel 1921 con la prima varietà bassa e precoce di frumento (Ardito) e con le successive varietà (Mentana, Villa Glori, Damiano, S. Pastore, ecc.) e ripetuta da Norman E. Borlaug (premio Nobel) agli inizi degli anni '60 in Messico. Queste

innovazioni genetiche hanno segnato l'inizio della cosiddetta *Rivoluzione Verde*, che ha determinato un aumento impressionante della produttività agricola in tutto il mondo.

Per avere un'idea del contributo della *mutagenesi artificiale* al miglioramento delle piante coltivate a livello mondiale, al di là dei risultati conseguiti sul frumento duro presso il Centro Studi della Casaccia, basti pensare che le varietà contenenti una o più mutazioni indotte con agenti fisici e chimici ammontano ad oggi a 2252 (dati IAEA, Plant Breeding and Genetic Division).

Tra gli esempi frutto di approccio multiplo vale la pena ricordare la specie artificiale (x Triticosecale Wittmarck) volgarmente chiamata *triticale*, ampiamente coltivata in tutti i continenti. Si tratta di un cereale derivato dall'incrocio intergenerico frumento x segale, al successo del quale hanno concorso gli studi di citologia e citogenetica, l'uso sistematico della coltura in *vitro* degli embrioni immaturi e delle sostanze poliploidizzanti (colchicina), la selezione di geni per la bassa taglia, associati ad un costante scambio di materiali e ad un accurato lavoro di valutazione in campo a livello planetario protrattosi per più di un secolo in piena libertà e gratuità.

Le tecniche di coltura in vitro hanno rappresentato lo strumento sperimentale di partenza per lo sviluppo, ad iniziare dagli anni '80, delle tecnologie cosiddette del *DNA ricombinante* applicate anche al mondo vegetale. L'approccio biotecnologico ha permesso un significativo salto di qualità nel campo del miglioramento genetico, perché ha fornito la possibilità di modificare in maniera mirata singoli caratteri di interesse *(sensu lato)*, mediante l'integrazione in una data specie di geni isolati dalla stessa specie o, più frequentemente, da organismi diversi, anche filogeneticamente molto distanti. Fondamentale a questo proposito è stato lo studio del trasferimento genico naturale operato dai batteri del suolo del genere *Agrobacterium* nel genoma di piante ospiti.

Sulla base di questi studi, sono stati sviluppati ingegnosi vettori molecolari (derivati da strutture di DNA batterico naturali dette "plasmidi") per sfruttare *Agrobacterium* (*A. tumefaciens* o *A. rhizogenes*) in modo da trasformarlo in un micro-ingegnere genetico in grado di trasferire geni di interesse applicativo all'interno di cellule vegetali.

A questo sono poi seguiti molti altri approcci sperimentali per veicolare geni. Di uso diffuso è il sistema del *bombardamento* di cellule o tessuti vegetali con microproiettili (d'oro o di tungsteno) ricoperti di DNA (metodo biolistico). La sequenza genica introdotta con questo metodo si integra nel genoma di alcune cellule dalle quali poi, in opportune condizioni, è possibile sviluppare intere piantine trasformate. Oltre a questo sistema di trasformazione biolistico sono stati messi a punto anche *metodi chimici*, di *microiniezione* ed *elettroporazione*. Alcuni di questi sistemi sono risultati particolarmente utili con alcune piante monocotiledoni per le quali è difficile utilizzare *Agrobacterium*.

Il miglioramento genetico vegetale si avvale quindi di un *continuum di tecnologie*: alcune applicate fin dagli inizi dagli stessi agricoltori, quali la *selezione mas-*

sale, altre più recenti, quali *l'incrocio* (intra-specifico e/o inter-specifico), *la mutagenesi artificiale*, più recentemente *la tecnica del DNA ricombinante* e altre ancora in rapido sviluppo, legate alla *genomica funzionale* e alla post-genomica.

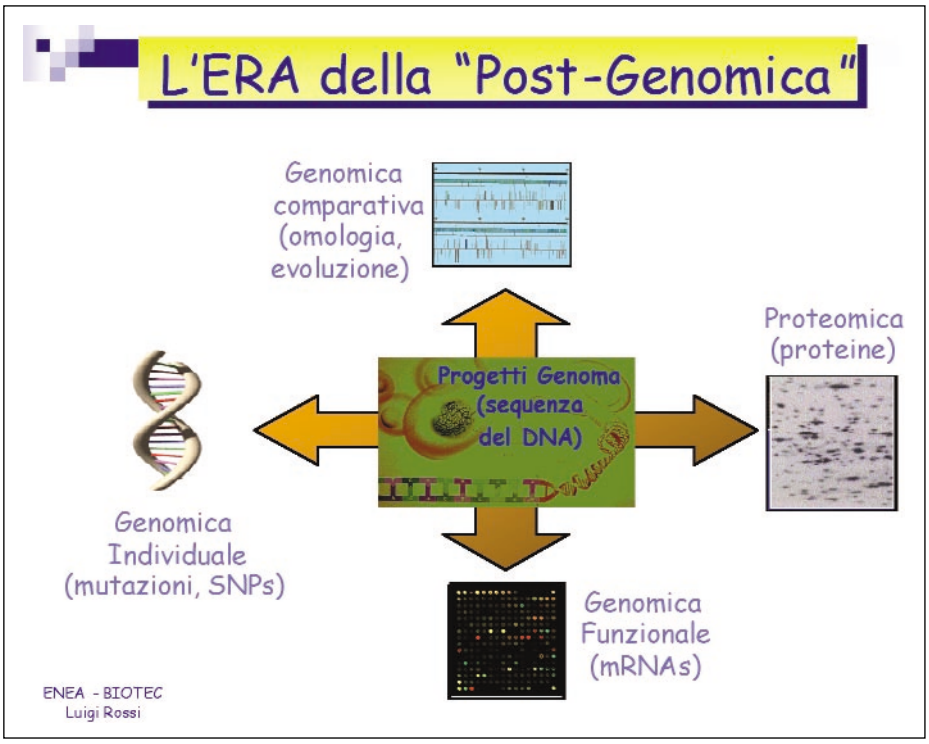

Fig. 4 - L'era della post-genomica.

La genomica è la conoscenza fine della costituzione del genoma. Essa consente lo sviluppo della *genomica comparativa*, cioè il confronto delle mappe di locazione di geni e marcatori fra diverse specie. Nel confronto fra specie affini è possibile evidenziare un alto grado di conservazione di sintenia (presenza di 2 o più loci in uno stesso cromosoma senza che siano legati da un linkage genetico) e di collinearità (il fenomeno per cui un certo ordine di geni si preserva fra specie diverse). La probabile locazione di molti geni può essere prevista con un modello predittivo sui dati disponibili.

Di particolare interesse per il miglioramento genetico è la *genomica funzionale*, cioè quell'area di ricerca volta a determinare l'insieme dell'espressione e delle interazioni dei geni in un genoma (come un gene produce un RNA messaggero e la relativa proteina, cioè il suo effetto sul fenotipo), basata sulla conoscenza completa

o estesa delle sequenze genomiche. Così pure la *proteomica* che si propone di identificare e caratterizzare l'insieme delle proteine e delle interazioni tra proteine in una data specie, in tutti i tessuti e nei vari stadi di crescita.

Fig. 5 - Visione d'insieme della post-genomica.

La visione d'insieme pone al centro la *bioinformatica,* l'uso e l'organizzazione di informazioni di interesse biologico, in particolare per organizzare database biomolecolari (sequenze di DNA) e integrarle con altre informazioni di origine biologica. Le informazioni dal genoma sono fondamentalmente finalizzate alla classificazione delle piante o al loro miglioramento genetico. Alcuni geni possono essere trasferiti selettivamente in altri genotipi invece di trasferire interi genomi come avviene ora con l'incrocio. Il sequenziamento dei genomi vegetali consentirà di identificare nuovi geni per poi studiarne la funzione sia a livello di RNA messaggero (trascrittomica) che di proteine (proteomica). Con queste tecnologie è inoltre possibile studiare e caratterizzare da una parte la variabilità genetica tra individui all'interno della specie stessa e dall'altra l'evoluzione filogenetica.

Per il miglioramento delle varietà vegetali siamo effettivamente nell'era della

«Post genomica». La conoscenza del background genetico offre, sempre di più, la possibilità di orientare ed accelerare i programmi di miglioramento quali-quantitativo delle varietà coltivate attraverso l'identificazione e la selezione di alleli (o assetti allelici) «superiori» su genotipi di interesse.

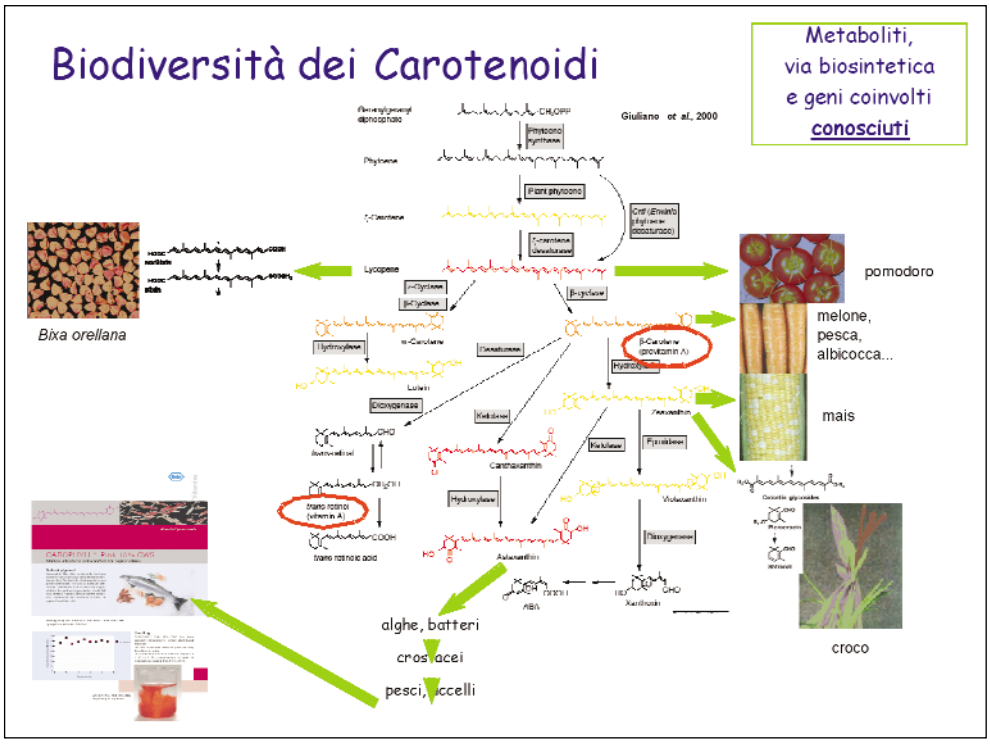

Fig. 6 - Biodiversità dei carotenoidi.

Come esempio si cita la biodiversità relativa ai pigmenti vegetali (tannini, antociani, caroteni, licopeni, ecc), prodotti di grande interesse nutriceutico e commerciale. Le catene biosintetiche di tali metaboliti sono già note e grande è la biodiversità all'interno della catena metabolica. Con le tecnologie genetico-molecolari più avanzate si può conoscere, caratterizzare, controllare tali catene metaboliche e quindi indirizzare la produzione di tali metaboliti.

Fino ad oggi le tecniche molecolari sono state utilizzate con successo per la valutazione di moltissimi caratteri monogenici, cioè determinati dall'azione di un solo gene. Tuttavia, la maggior parte delle caratteristiche «desiderabili» sono il risultato di complesse interazioni multigeniche difficilmente prevedibili se non con tecniche molecolari complicate e costose. In questo contesto, recentemente la pre-

stigiosa rivista scientifica «Nature» (Vol. 422, 2003 pp. 297-302) ha pubblicato un lavoro di mappatura di caratteri multigenici in mais utilizzando una tecnica innovativa basata sul monitoraggio dell'espressione genica su larga scala.

Nel prossimo futuro, dunque, è ipotizzabile che il contributo delle discipline basate sugli studi genomici metterà a disposizione una fitta rete di conoscenze genetiche e funzionali in grado di supportare i programmi di miglioramento varietale per elevare la qualità delle produzioni agricole, caratteristica che é determinata dalla cooperazione di numerosi geni. Non é lontano il giorno in cui sarà possibile decifrare le basi genetiche del vigore dell'ibrido, fenomeno noto sia in campo animale che vegetale, e caratteristica molto sfruttata nella attività sementiera , aprendo di fatto il campo alla possibilità di selezionare individui in cui siano concentrati tutti i migliori assortimenti genici.

Si conferma pertanto il filo continuo che lega lo sviluppo delle tecnologie genetiche, dalla selezione massale alla post genomica, attraverso l'incrocio, la mutagenesi, la poliploidizzazione, la propagazione meristematica, l'induzione di aploidi, l'ibridazione somatica, l'ingegneria genetica e la genomica. Grazie a queste tecniche le piante sono state adattate alle esigenze dell'uomo, domesticate, coltivate, migliorate e l'agricoltura ha potuto esprimersi.

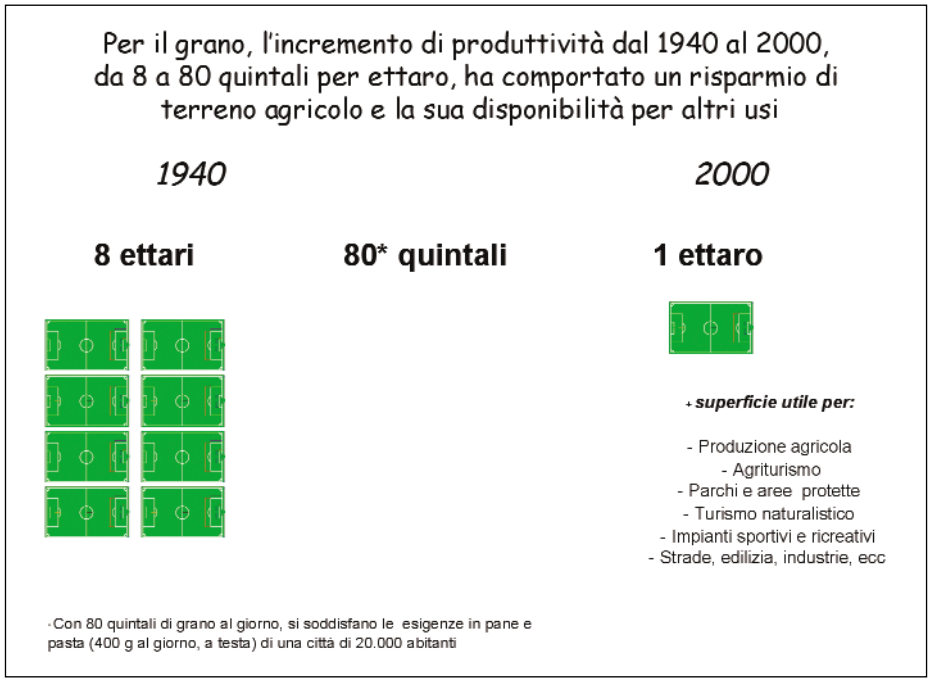

Fig. 7 - Incremento di produttività nel grano dal 1940 al 2000.

Nella Fig.1 relativa alla produttività del frumento in Francia negli anni 1815-1998, si evidenziava lo straordinario incremento di produttività che si era realizzato a cominciare dagli anni quaranta del secolo scorso, grazie soprattutto alla genetica. Considerando che oggi, con l'agricoltura intensiva si producono 80qli/ha, e che un ettaro equivale grossomodo alla superficie di un campo di calcio, si può affermare che in **1** campo di calcio si produce oggi lo stesso quantitativo che 60 anni fa si produceva in **8** campi di calcio. Ottanta quintali di grano oggigiorno soddisfano le esigenze giornaliere in pane e pasta di una città di almeno 20 mila abitanti. Inoltre, quella stessa città di 20.000 abitanti si ritrova disponibili e utili **altri 7** campi di calcio, che può utilizzare per altre produzioni agricole, o destinare ad altri usi quali parchi ed aree protette, ad agriturismo e turismo naturalistico, a impianti sportivi e ricreativi, per non citare strade, insediamenti civili e industriali.

L'agricoltura intensiva ad alto impiego di mezzi tecnici, sviluppatasi ancor prima dell'avvento degli OGM, non è stata e non è scevra di conseguenze negative sull'ambiente (acqua, suolo, biodiversità), sull'assetto sociale e culturale delle popolazioni. Per aumentare come necessario, la produzione globale e migliorarne la qualità, appare indispensabile sviluppare la ricerca e la formazione in agricoltura, in particolare quella biotecnologica, in un approccio olistico che integri le nuove tecnologie con le istanze socio-economiche.

BIBLIOGRAFIA

Ancora. G. e Benvenuto E., Ingegnerizzazione dei vegetali: finalità, tecniche, rischi e benefici. In: *Biotecnologie animali e vegetali*, Pontificia Academia Pro Vita 1999.

Engelmann F., *In vitro* conservation methods. In: *Biotechnology and Plant genetic resources*. Callow J.A., Ford-Llyd B.V. and Newbury H.J. eds. CAB International, Wallingford, Oxon 1977: 119-161.

Birch R.G., Plant transformation: Problems and strategies for practical application. In: *Annu. Rev. Plant Physiol. and Plant Mol. Biol.* 1997, 48: 297-326.

Collins G.B., Shepard R.G., Engineering Plants for Commercial Products and applications, Vol. 792, *Annals New York Academy of Sciences*, New York 1996.

Leist N., Meeting the Needs of the Markets for Seed Worldwide. *Proc. Of the World Seed Conference (6-8 Sept. 1999, Cambridge UK): 47-50.*

Chrispeeels M.J., Biotechnology and the Poor. *Plant Physiology*, September 2000, vol. 124, pp. 3-6.

Bourlaug N.E., Feeding a world of 10 billion people: the miracle ahead. *Plant Tissue Culture and Biotechnology* 1997, 3:119-127.

Gian Tommaso Scarascia Mugnozza, Agricoltura e ricerca scientifica e tecnologica. *Rendiconti. Accademia Nazionale delle Scienze detta dei XL, Memorie di Scienze Fisiche e Naturali* 119, Vol. XXV, pp. 255-268, 2001.

Veronesi F., *Le tecnologie del futuro a difesa del passato*. AGRI*culture*, N° 3 pagg. 11-13, 2001.

James C., Global review of commercialized transgenic crops: 2001, ISAAA Briefs n. 24-2001.