

DAI GENI AI SEMI

genetica e biotecnologie
in agricoltura

Simona Baima e Giorgio Morelli

Copyright ©2010

Editori: Simona Baima e Giorgio Morelli

Copertina e disegni: Franco Marchioli [www.francomarchioli.com]

Graphic design: Centro Stampa Università *La Sapienza*



Casa Editrice INRAN

Via Ardeatina, 546 - 00178 Roma

Tel +39 06 514941

Fax +39 06 51494550

nutrizione@inran.it

www.inran.it

ISBN 978-88-96597-00-2

All Rights Reserved. No part of this publication may be reproduced or transmitted in any form or by any means, electronic or mechanical, including photocopy, recording or any other information storage and retrieval system, without prior permission in writing from the publisher. La traduzione, l'adattamento totale o parziale, la riproduzione con qualsiasi mezzo (compresi microfilm, film, fotocopie), nonché la memorizzazione elettronica, sono riservati per tutti i Paesi.

INTRODUZIONE	5
1. DIECIMILA ANNI DI MODIFICAZIONI GENETICHE	9
LA NASCITA DELL'AGRICOLTURA: UN'EVOLEZIONE "CONTRO NATURA"	
NON C'È AGRICOLTURA SENZA INNOVAZIONE GENETICA	
DAI CONTADINI AGLI SCIENZIATI	
LA RIVOLUZIONE VERDE	
UN NUOVO STRUMENTO: L'INGEGNERIA GENETICA	
2. LA GENETICA È ALLA BASE DELLE BIOTECNOLOGIE	25
LE LEGGI DELL'EREDITARIETÀ	
CARATTERI E GENI	
IL DNA	
I GENI E IL CODICE GENETICO	
I GENI SI MODIFICANO	
LA CONSERVAZIONE DEI GENI	
DAL MIGLIORAMENTO CLASSICO ALL'INGEGNERIA GENETICA	
3. COME SI PRODUCONO LE PIANTE GM	45
IDENTIFICAZIONE DEL GENE DA TRASFERIRE	
PREPARAZIONE E MOLTIPLICAZIONE DEL GENE	
INSERIMENTO DEL GENE NELLE CELLULE DELLA PIANTA	
RIGENERAZIONE DI PIANTE GENETICAMENTE MODIFICATE	
VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA DEL PROCESSO DI MODIFICAZIONE GENETICA	
LA VERIFICA DELLA SICUREZZA DEGLI OGM	
COME SI IDENTIFICANO GLI OGM	
4. IL FUTURO DEL MIGLIORAMENTO GENETICO DELLE PIANTE	65
LE NUOVE RICHIESTE ALL'AGRICOLTURA	
DALLA PRIMA ALLA SECONDA GENERAZIONE DI OGM	
PIANTE MEGLIO ADATTATE ALL'AMBIENTE E PIÙ PRODUTTIVE	

PIANTE CHE CURANO	
PIANTE PIÙ NUTRIENTI	
CONSERVAZIONE DI VARIETÀ TRADIZIONALI	
GENOMICA E NUOVE TECNOLOGIE POTENZIANO I METODI CLASSICI	
CONCLUSIONI	85
IL PROBLEMA NON SONO I METODI MA LE CONOSCENZE	
GLOSSARIO	91
LE AGROBIOTECNOLOGIE SUL WEB	97

INTRODUZIONE

DAI GENI AI SEMI

Oggi viviamo quasi tutti lontano dai campi e dall'agricoltura, e non li conosciamo quasi più.

Questo da una parte è un buon segno, perché vuol dire che siamo una società più ricca e avanzata, in cui per sfamare tutti basta il lavoro di pochi. Dall'altra parte, però, la lontananza dall'agricoltura è un terreno fertile per il proliferare di un'immagine di ciò che avviene nei campi che ha a che fare più con suggestioni culturali o commerciali che con la realtà, non solo presente ma anche del passato. Valga per tutti il mito della campagna-museo, l'idea che il lavoro dei campi sia stato – prima dell'avvento dell'agricoltura moderna – un'attività idilliaca e senza tempo, e che il miglior progresso possibile sia quello che in quell'idillio ci possa riportare.

Fra le "vittime" di questo mito c'è la percezione del ruolo che l'innovazione ha sempre giocato in agricoltura, e ben prima che l'applicazione di nuove acquisizioni scientifiche le imprimesse la straordinaria accelerazione avvenuta nel corso degli ultimi cento anni, che tutti possono verificare anche senza avere le basi scientifiche per comprenderle. Protagonisti dell'innovazione non sono stati quindi solo coloro che studiavano nei laboratori di ricerca, ma anche i contadini, cioè coloro che lavorano la terra e seminano. Prima da soli, e poi insieme agli agronomi, grazie alla capacità di cogliere, usare e adattare i risultati che escono dai laboratori hanno applicato i risultati della ricerca al lavoro dei campi trasformandolo in innovazione. E questo è vero soprattutto per le tante piccole produzioni specializzate che sono la caratteristica e il vanto dell'agricoltura italiana.

Lo sviluppo delle conoscenze sulla trasmissione del patrimonio genetico da un organismo all'altro sia negli animali che nei vegetali ha aperto possibilità di intervento che applicate sulle colture cellulari hanno reso ancor più rapida la verifica delle potenzialità di queste nuove conoscenze (biotecnologie) nel settore delle produzioni agricole.

La rapidità di sviluppo delle conoscenze e delle possibili applicazioni delle biotecnologie nei laboratori di ricerca, senza un parallelo e progressivo trasferimento nella realtà

produttiva contadina, ha prodotto uno scollamento tra queste due realtà che hanno iniziato a guardarsi con il sospetto di privilegiare l'interesse economico più che la qualità delle produzioni.

I risultati di questa distanza culturale li vediamo anche in molte delle attuali discussioni sull'applicazione in agricoltura delle moderne biotecnologie, nelle quali spesso traspare l'assenza di una reale conoscenza di che cosa davvero queste tecniche possono o non possono ottenere, anche in futuro, e forse soprattutto di quale ruolo possono giocare nella missione dell'agricoltura di assicurare cibo sufficiente e di qualità per una popolazione umana sempre più numerosa. Una missione dagli esiti tutt'altro che scontati, come stiamo vedendo proprio in questi anni.

La missione dell'agricoltura ha naturalmente molte dimensioni: economiche, sociali, politiche, commerciali. In questa pubblicazione ci vorremmo concentrare su quelle scientifiche, perché senza un'idea corretta delle possibilità come dei limiti reali delle tecnologie messe a disposizione dalla genetica moderna, è difficile prendere decisioni coerenti con gli obiettivi che ci proponiamo. E questo è vero sia per quella grande fetta della società che vive lontano dai campi, sia per lo stesso mondo agricolo, che non sempre riesce a tenere il passo con i ritmi rapidi dell'innovazione che lo riguarda.

La speranza di questa pubblicazione è di poter contribuire a trovare la strada per una nuova stagione d'innovazione per l'agricoltura italiana, che porti quest'ultima a saper rispondere alle nuove sfide della competizione internazionale, alle nuove richieste di benessere e salute da parte dei consumatori e alle nuove esigenze di tutela dell'ambiente. Protegendo, però, le radici e la tradizione che ne hanno fatto non solo un'agricoltura straordinaria per qualità e diversità, ma anche la base di una cultura del buon mangiare sano e del buon vivere alla quale guarda ormai tutto il mondo.

DIECIMILA ANNI DI MODIFICAZIONI GENETICHE

DAI GENI AI SEMI

LA NASCITA DELL'AGRICOLTURA: UN'EVOLUZIONE "CONTRO NATURA"

Il più grande spartiacque della storia umana non è stato l'invenzione della scrittura, che divide la preistoria dalla storia, né alcun'altra invenzione o scoperta, ma è stato la nascita dell'agricoltura. Il passaggio, cioè, da piccoli gruppi nomadi di cacciatori e raccoglitori di quello che la natura aveva da offrire a società stanziali di produttori di cibo. Società dove hanno potuto poi trovare posto anche poeti, artisti, inventori e scienziati di professione.

In quel momento, alcuni nostri antenati cominciarono a scegliere alcune piante di cui potevano nutrirsi in parte dirottando su di esse risorse prima destinate alla crescita di altri organismi. Per farlo, tuttavia, hanno dovuto modificarle geneticamente: l'espressione è moderna, ma l'opera è iniziata almeno 10.000 anni fa, su alcuni monti del Vicino Oriente, con due graminacee selvatiche che un giorno avremmo chiamato "frumento".

La domesticazione di una pianta selvatica non è infatti altro che una versione indirizzata e accelerata della selezione naturale, il processo alla base dell'evoluzione biologica. Più precisamente si tratta di una selezione artificiale: fra le piante presenti in una popolazione naturale, i primi agricoltori cominciarono a far riprodurre solo quelle in possesso delle caratteristiche desiderate, ad esempio frutti più grandi, continuando poi a farlo di generazione in generazione.

Il risultato, con il passare del tempo, sono state piante geneticamente nuove, spesso quasi impossibili da riconoscere per chi conoscesse solo i rispettivi progenitori selvatici. Il teosinte, progenitore selvatico del mais, è un piccolo arbusto ricco di piccole infiorescenze, poi diventate grandi pannocchie. Il frutto del pomodoro selvatico è circa mille volte più piccolo di un pomodoro di oggi. La patata selvatica è un prodotto quasi velenoso. Dietro ogni carattere cambiato, c'è una base genetica - quella responsabile per quel carattere - che è cambiata.



Figura 1 Rappresentazione della coltivazione dei campi in un antico dipinto egizio.

Questa prima rivoluzione agricola, chiamata “Neolitica” perché coincise con una profonda trasformazione degli utensili in pietra, è avvenuta in dieci regioni del mondo in modo indipendente: dalla domesticazione di orzo e frumento nel Vicino Oriente, a quella del riso in Cina e del mais in Messico di circa 8000 anni fa, fino a quella del miglio in Africa, circa 3000 anni fa. Non sappiamo bene cosa spinse i primi agricoltori, ma sappiamo benissimo che cosa cercavano, perché si tratta di caratteristiche ricercate ancora oggi.

In generale, in una pianta coltivata devono aumentare le dimensioni della parte commestibile, anche a scapito delle altre. Se è tossica, la parte commestibile deve perdere i composti che la rendono tale, anche se questi la difendono dagli erbivori o dai roditori, come avvenuto ad esempio nella patata o nelle melanzane. La pianta dev’essere resistente ai parassiti, che hanno gioco facile in un campo in cui tutte le piante appartengono alla stessa specie e dove possono spazzare via anche un intero raccolto. La pianta dai semi commestibili non deve neppure disperderli, come si ingegnano a fare tutte in natura, altrimenti sarebbe troppo difficile raccogliarli: così i chicchi di grano non cadono più dalla spiga, e i

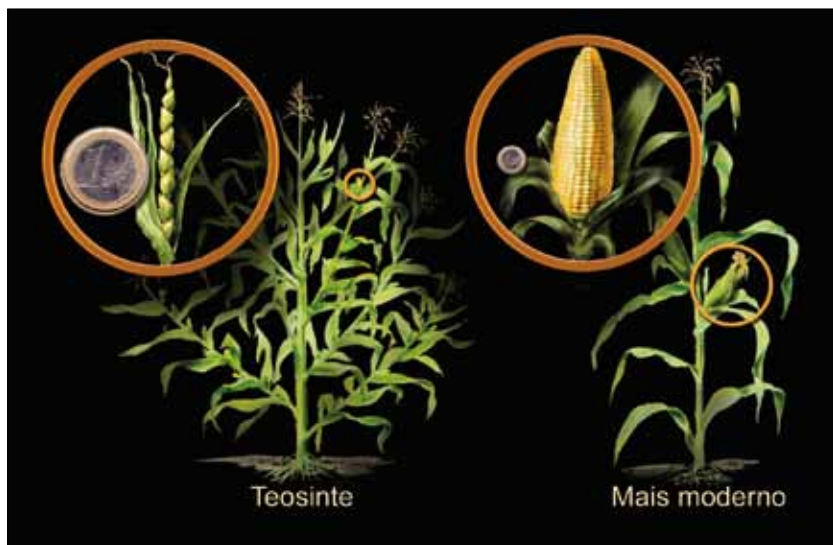


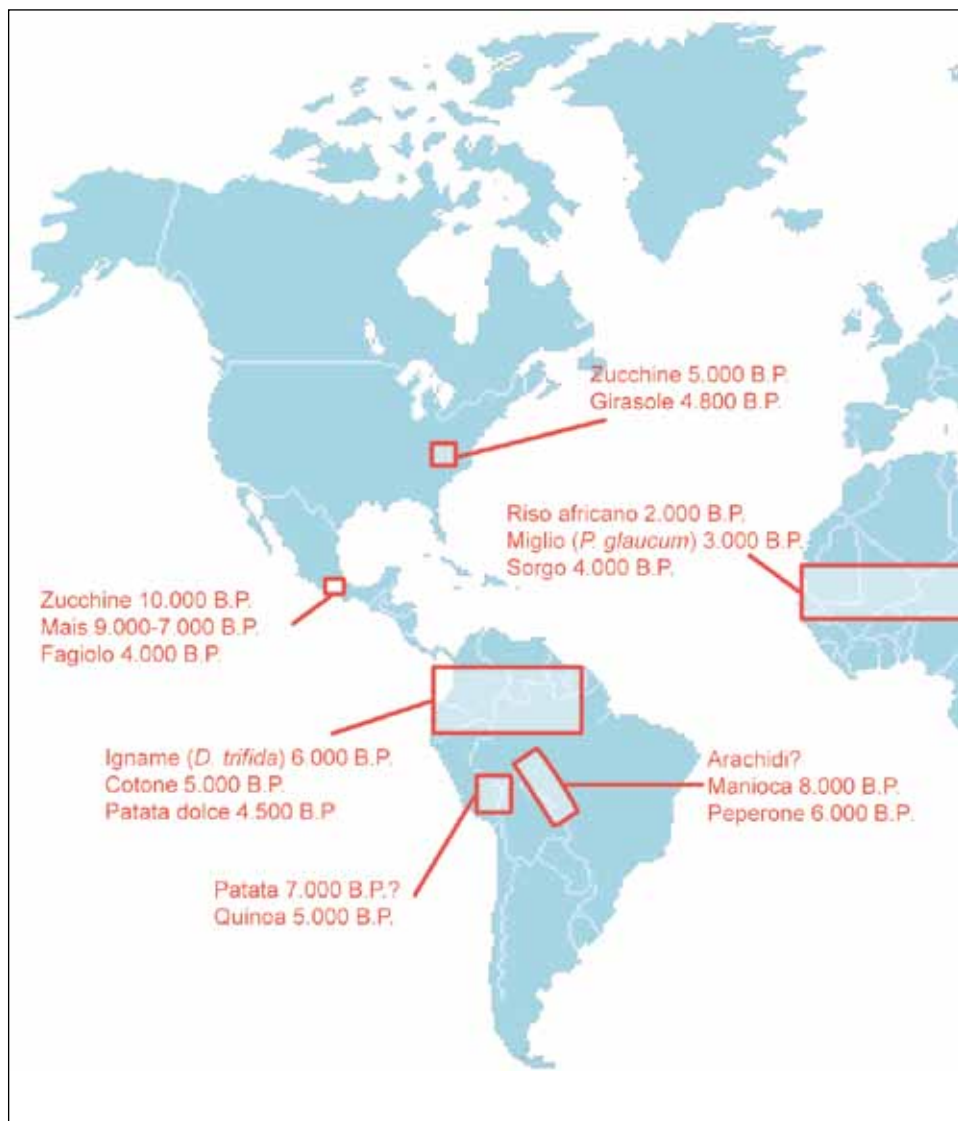
Figura 2 Una pianta di mais a confronto con il suo progenitore, il teosinte. Il circolo evidenzia la spiga, più nota come pannocchia, la cui dimensione é diversa nelle due piante come si può notare dalla grandezza della moneta da 1 € nelle due figure. Fonte: adattata da N. Rager Fuller, National Science Foundation.

fagioli restano chiusi nel baccello. Per la stessa ragione i semi devono germinare tutti insieme anziché in momenti diversi, come invece avviene nelle varietà selvatiche delle stesse piante. E si potrebbe continuare a lungo, con un elenco di caratteristiche che in qualsiasi specie selvatica verrebbero immediatamente eliminate dalla selezione naturale.

Le piante domestiche sono così diventate dipendenti dall'uomo, spesso fino al punto che senza le cure del contadino non sopravviverebbero. Ma è avvenuto anche il contrario: le popolazioni umane sono presto diventate così numerose da non poter più tornare indietro alla caccia e alla raccolta.

NON C'È AGRICOLTURA SENZA INNOVAZIONE GENETICA

A partire da quei primi decisivi passi nel Vicino Oriente, il processo di modificazione genetica delle piante coltivate per migliorare le caratteristiche dei raccolti non si è mai fermato, né avrebbe potuto farlo. Per due ordini di motivi.



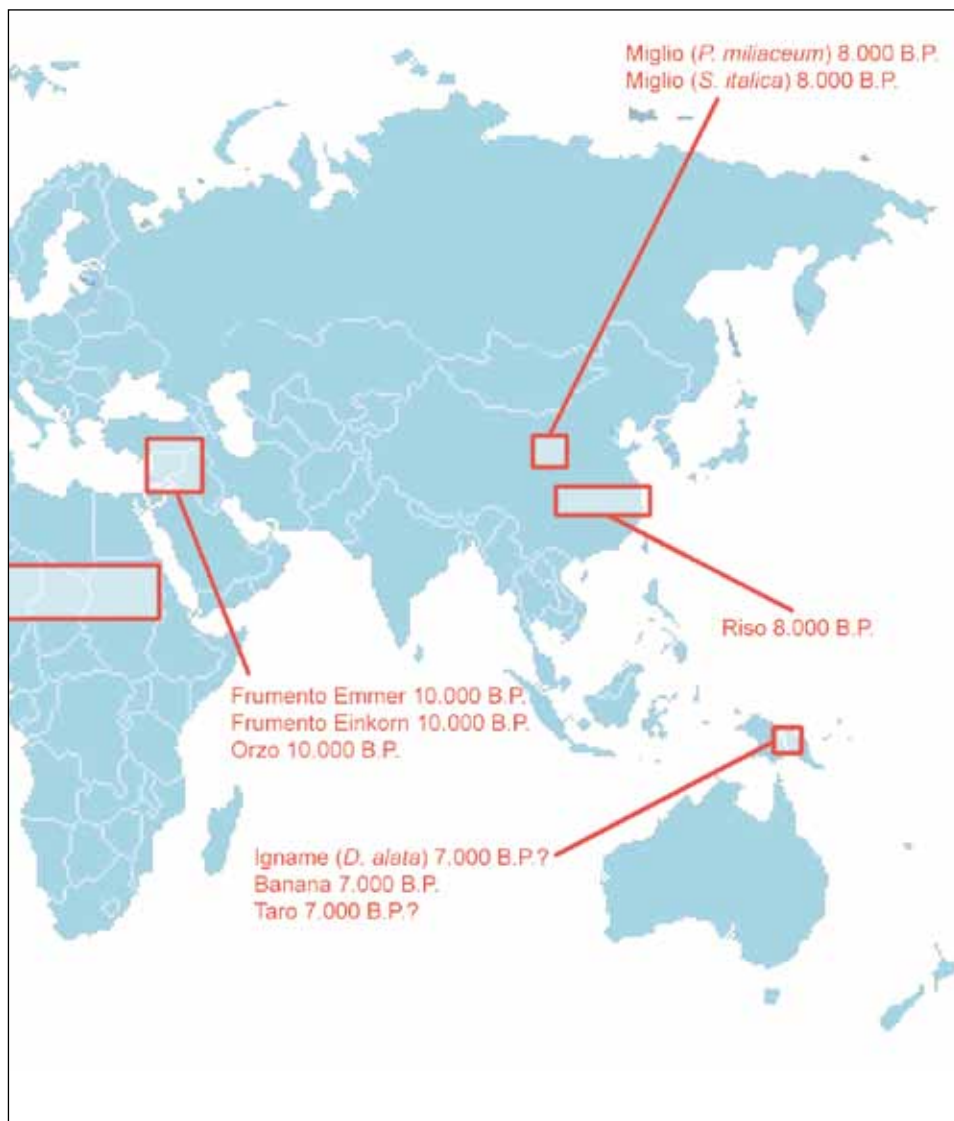


Figura 3 Le dieci regioni del mondo in cui è avvenuta in maniera indipendente la domesticazione delle principali specie coltivate oggi. BP, before present (anni fa) (adattata da Doebley *et al.* Cell 2006, 127:1309).

Il primo è che le popolazioni umane tendono ad aumentare più velocemente rispetto alla produzione agricola, tanto che spesso nel corso della storia non c'è stato cibo per tutti. Nei paesi sviluppati abbiamo per fortuna dimenticato malnutrizione e carestie, ma queste hanno caratterizzato periodi della storia europea fino a pochi decenni fa.

Il secondo è che l'ambiente in cui le piante coltivate vivono cambia in continuazione. Sia pure lentamente, cambia il clima. Rapidamente, invece, nuovi parassiti si adattano riuscendo a vincere le difese delle piante. Vengono messe a punto nuove tecnologie agricole, come l'aratro che modifica la struttura del suolo o l'irrigazione che aumenta la disponibilità d'acqua. Le piante vengono portate in regioni nuove, dove sono diversi il clima, il suolo, la temperatura, la durata del giorno, i parassiti.

Si pensi solo agli adattamenti resi necessari in seguito al grande scambio di piante avvenuto intorno al Cinquecento, quando le scoperte geografiche portarono in Europa mais, patata, pomodoro, zucca e fagioli dalle Americhe e riso dall'Asia, in Nordamerica frumento, orzo e mandorle dall'Europa, e poi ancora banane dall'Oceania in Africa e in Sudamerica...

Per migliaia di anni, lo strumento a disposizione per adattare e migliorare geneticamente i raccolti è rimasto sempre lo stesso: la ricerca e la selezione dei caratteri visibili da parte degli agricoltori. Non dovremmo mai dimenticare quanto dobbiamo a quella moltitudine di uomini e di donne senza nome che – un piccolo passo alla volta - hanno tenacemente migliorato la produzione di cibo, creando migliaia di varietà - quindi di assortimenti genetici - adattate alle condizioni e ai climi più diversi. Ma è anche vero che questo miglioramento ha potuto essere solo molto lento.

Il risultato, oltre alla sempre incombente minaccia della fame, di cui è testimone la lentissima crescita della popolazione mondiale, è stato che in ogni parte del mondo la maggior parte delle persone è sempre stata costretta al duro lavoro dei campi.

Le cose cominciarono a migliorare solo nel Settecento, in Europa. Negli orti botanici, dove venivano riunite varietà



Figura 4 Il grano tenero (*Triticum aestivum*) è alloesaploide e contiene due copie del corredo cromosomico derivato da ciascuna delle tre varietà di frumento selvatico da cui ha avuto origine per ibridazione (genotipo AA BB DD). Piante con genotipo AA (*Triticum urartu*) incrociate con piante con genotipo BB (*Aegilops speltoides*) hanno dato origine a piante con genotipo AA BB (*Triticum dicoccoides*) che a loro volta per incrocio con piante con genotipo DD (*Triticum tauschii*) hanno dato origine al grano tenero e al farro (*Triticum spelta* AA BB DD). Fonte: M. Kalda, Max-Planck-Institut für Pflanzenzüchtungsforschung.

provenienti da paesi diversi, gli agronomi effettuarono i primi esperimenti di ibridazione. Nacque così, ad esempio, la fragola moderna, frutto dell'incrocio fra due specie selvatiche, una europea e una americana. Nel 1747 fu notato il contenuto in zucchero della barbabietola, il cui miglioramento nel corso dell'Ottocento ha reso possibile la produzione del saccarosio puro, il primo dolcificante ampiamente disponibile. Prima c'era solo il miele.

Ma tutto questo era ancora il frutto di osservazione, intuito, fortuna e tanta pazienza, perché nessuno conosceva ancora come avviene la trasmissione dei caratteri ereditari da una generazione all'altra.

DAI CONTADINI AGLI SCIENZIATI

La seconda rivoluzione per l'agricoltura prende le mosse nell'anno 1900, con la riscoperta del lavoro di un monaco boemo, Gregor Mendel. Seguendo la trasmissione di alcuni



Figura 5 Ritratto del monaco boemo Gregor Mendel (1822-1884) scopritore delle leggi dell'ereditarietà genetica.

caratteri in piante di pisello, Mendel aveva scoperto le leggi che regolano la trasmissione dei caratteri genetici ereditari. In pochi anni nasce una nuova scienza, la genetica, che formula il concetto di gene, l'unità più semplice del patrimonio ereditario di ogni organismo, arrivando poi a scoprirne la localizzazione nei cromosomi contenuti nel nucleo cellulare. Da questo momento la palla, per così dire, passa dai contadini agli scienziati, e il miglioramento genetico non avviene più nei campi, ma nei centri di ricerca agronomica, dove vengono raccolte centinaia di varietà provenienti da ogni parte del mondo. I risultati non restano più isolati, ma vengono pubblicati e messi così a disposizione di tutti.

La velocità del miglioramento genetico delle piante coltivate comincia ad aumentare rapidamente. I genetisti agrari possono infatti finalmente produrre nuove varietà in maniera mirata. Il metodo di base è semplice: si organizzano "matrimoni" fra varietà che possiedono caratteri utili, magari provenienti da continenti diversi, cercando di far sì che questi caratteri si ritrovino uniti nella progenie. Si provano poi le nuove varietà in ambienti diversi, ripetendo gli incroci fino a



Figura 6 La genetista Barbara McClintock, vincitrice nel 1983 del premio Nobel (per la Fisiologia o la Medicina) per le sue scoperte sugli elementi genetici mobili nel mais, al lavoro nel suo laboratorio a Cold Spring Harbor (1963) Fonte: Barbara McClintock Papers, American Philosophical Society.

ottenere varietà adattate a situazioni particolari, ad esempio climatiche oppure per caratteristiche qualitative.

È in questi anni che comincia la ricerca e la raccolta dei progenitori selvatici delle piante coltivate, così come di varietà arcaiche e isolate, portatrici di geni ancora utili, e si comincia così a valorizzare la grande diversità genetica creata nel corso dei secoli dagli agricoltori.

Alla selezione e all'incrocio mirato si aggiungono poi nuove tecniche di ibridazione artificiale, che consentono di trasferire geni non solo fra varietà della stessa specie, ma anche fra alcune specie diverse ma strettamente imparentate.

Per aumentare la variabilità genetica dalla quale attingere vengono ora impiegate sostanze chimiche o radiazioni capaci di produrre nuove mutazioni del patrimonio genetico delle piante. Alcune varietà di grano duro con le quali si fabbrica

oggi la pasta sono state ottenute utilizzando genitori prodotti proprio in questo modo.

LA RIVOLUZIONE VERDE

Questa seconda svolta nella storia dell'agricoltura culmina con la cosiddetta Rivoluzione Verde, fra gli anni Sessanta e Ottanta del Novecento, quando la resa delle colture aumenta vertiginosamente, a partire da frumento, mais e riso, i grandi "pilastri" sui quali poggia l'alimentazione di gran parte della popolazione mondiale.



Figura 7 La selezione di varietà di frumento e riso con statura ridotta é alla base della Rivoluzione Verde. Nella figura sono mostrate piante di frumento con diversi alleli del gene *Rht* (*Reduced height* = statura ridotta). Le piante originarie (selvatiche) della varietà April Bearded possiedono gli alleli *Rht-B1a* (sul genoma B) e *Rht-D1a* (sul genoma D) e sono più alte delle piante che possiedono gli alleli *Rht-B1b*, *Rht-D1b* e soprattutto *Rht-B1c*. Fonte: *Plant Physiology* on-line (<http://4e.plantphys.net/>).



Figura 8 Le nuove varietà si integrano con il cambiamento delle pratiche agronomiche e la meccanizzazione. La fotografia mostra l'utilizzo nel campo di materiale di copertura (pacciamatura) al fine di impedire la crescita delle malerbe.

Al perfezionamento dei metodi di selezione e incrocio si aggiungono profondi cambiamenti nelle tecniche agronomiche. Con le loro caratteristiche, le nuove varietà si integrano ora in un'agricoltura fortemente meccanizzata e basata sull'uso sistematico di fertilizzanti e agrofarmaci.

A darci un'idea dei passi in avanti compiuti basta un solo dato: nei paesi sviluppati la produzione annua pro capite di cereali passa da 250 kg nel 1950 a più di 350 nel 1992, nei

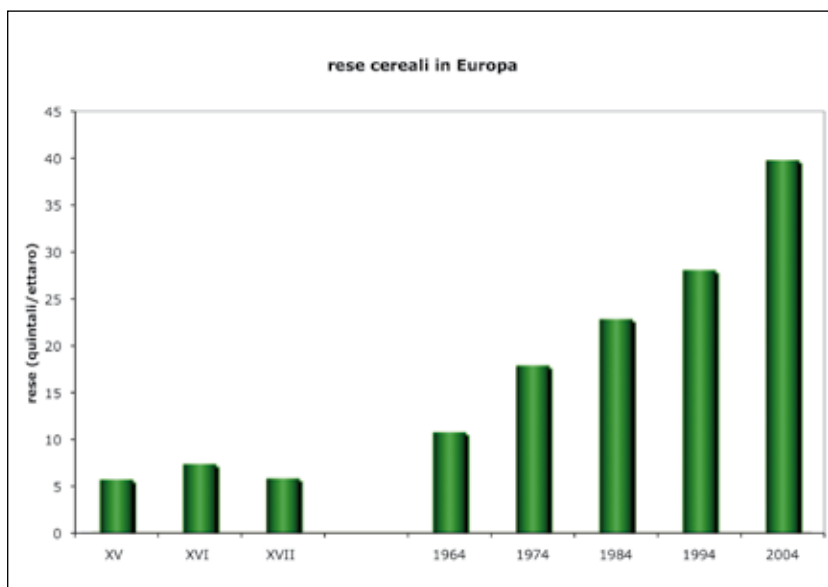


Figura 9 Le rese della coltivazione di cereali in Europa hanno subito un'impennata a partire dalla metà del secolo scorso con l'introduzione dell'incrocio genetico e selezione in presenza di sussidi chimici. Fonte dati: FAO STAT.

paesi in via di sviluppo passa da 170 a 250, mentre la popolazione mondiale passa da due miliardi e mezzo a cinque miliardi e mezzo di persone.

I benefici sono immensi. Gran parte della popolazione mondiale si libera dall'incubo della fame, e nei paesi sviluppati la maggior parte della popolazione si può affrancare dal duro lavoro nei campi. Oggi, negli Stati Uniti, il 2% della popolazione riesce a sfamare l'altro 98%, insieme a milioni di persone in altri continenti.

C'è però anche un rovescio della medaglia. Le varietà coltivate, diventate ormai poche, hanno scalzato centinaia di varietà meno produttive che rischiano di scomparire insieme ad assortimenti di geni che potrebbero un giorno tornare utili. Le esigenze umane, inoltre, stanno cambiando. Le bocche da sfamare continuano ad aumentare, ma la superficie coltivabile non può più farlo se non marginalmente. L'impatto dell'agricoltura sull'ambiente comincia a farsi pesante, e il consumo di risorse come l'acqua e l'energia deve essere

limitato. E il probabile cambiamento del clima potrà verosimilmente aggravare questi problemi.

Proprio negli anni in cui la Rivoluzione Verde miete i suoi trionfi, però, nei laboratori succede un fatto nuovo.

UN NUOVO STRUMENTO: L'INGEGNERIA GENETICA

A partire dagli anni Settanta del secolo scorso, la biologia molecolare ha cominciato non solo a conoscere sempre meglio il DNA, ma anche a utilizzare i meccanismi molecolari alla base della conservazione, della trasmissione e dell'espressione dei caratteri genetici.

Alle possibilità della Rivoluzione Neolitica (selezione) e della Rivoluzione Verde (selezione, incrocio e mutazione) hanno così cominciato ad aggiungersene altre due.

La prima è la capacità di "vedere" caratteri prima invisibili attraverso lo studio della sequenza di basi nelle molecole di DNA. Si è potuta ad esempio identificare la base genetica della resistenza ad alcune malattie, o di un migliore contenuto in nutrienti. È diventato così possibile scoprirne la presenza nella progenie di un incrocio senza bisogno di aspettare di poter trovare questi caratteri nelle piante cresciute. Ciò consente di fare quello che si sapeva già fare prima in modo molto più efficace e rapido.

La seconda è la capacità di trasferire singoli geni in modo mirato, fra varietà della stessa specie ma anche fra specie diverse, che in natura sono invece isolate dal punto di vista riproduttivo. Un gene che fa produrre una proteina tossica per gli insetti ma non per l'uomo o per gli animali è stato ad esempio trasferito da un batterio ad alcune varietà di mais, che hanno così meno bisogno di trattamenti con agrofarmaci. Questa nuova possibilità di modificare geneticamente le piante è stata chiamata *ingegneria genetica*. Come ogni nuova tecnologia, anche l'ingegneria genetica potrà rivelare conseguenze impreviste e indesiderate. Oggi, però, proprio questa consapevolezza ha consentito di sviluppare rigorosi test di sicurezza cui sottoporre le nuove varietà "ingegnerizzate" prima che siano immesse sul mercato, cosa che finora

non era mai stata fatta con nessuna nuova tecnologia di una certa importanza. Con l'ingegneria genetica ha comunque avuto inizio la terza rivoluzione dell'agricoltura, dalla quale dipende la nostra possibilità di affrontare molte delle nuove sfide che ci attendono.

Fra le altre cose, la biologia molecolare sta cominciando a svelare anche i segreti genetici della domesticazione. Se fino a oggi siamo riusciti a usare appena 150 specie di piante, potremo probabilmente ripercorrere in compagnia di altre specie, ma questa volta in pochi anni, la strada millenaria intrapresa per la prima volta con gli antenati del frumento.

La terza rivoluzione agricola è insomma appena agli inizi, e questa pubblicazione vuole aiutarci a conoscerne le basi scientifiche.

LA GENETICA È ALLA BASE DELLE BIOTECNOLOGIE MODERNE

2

DAI GENI AI SEMI

LE LEGGI DELL'EREDITARIETÀ

Lo sviluppo delle biotecnologie moderne è il frutto di quasi un secolo di ricerche di genetica, la scienza che studia come vengono trasmessi i caratteri degli organismi da una generazione all'altra. L'osservazione che i figli tendono ad assomigliare ai genitori, nella nostra come nelle altre specie viventi, è stata fin dall'inizio dell'agricoltura alla base del miglioramento delle piante. Selezionando per la riproduzione solo quelle che presentavano le caratteristiche desiderate, gli agricoltori ne hanno sì potuto guidare l'evoluzione, ma solo in misura limitata. Fino all'Ottocento, infatti, le leggi che regolano la trasmissione dei caratteri, la natura e la localizzazione del materiale ereditario e i meccanismi per mezzo dei quali l'informazione genetica viene trasmessa e utilizzata, sono rimasti avvolti nel mistero. La prima, decisiva luce su questo mistero la getta nel 1865 Gregor Mendel, un monaco agostiniano del monastero di Brno, in Moravia, compiendo gli ormai famosi esperimenti d'incrocio su piante di pisello. La genetica, quindi, ha inizio proprio dalla botanica e dall'agronomia.

Usando dei caratteri visibili e facili da riconoscere, come il colore dei fiori o la statura delle piante, egli elabora i primi principi biologici dell'ereditarietà. In particolare, Mendel arriva a concludere che ci sono fattori provenienti da ciascun genitore che controllano le caratteristiche ereditarie, e che i caratteri ereditati dai genitori sono trasmessi come unità distinte e indipendenti, che vengono riassortite di generazione in generazione secondo regole precise.

Incrociando due genitori che differiscono per un carattere, ad esempio semi lisci o rugosi, egli scopre che si ottengono individui tutti uguali e portatori di uno solo dei due caratteri - chiamato *dominante* - indipendentemente dal fatto che il portatore di questa differenza sia il genitore maschile o femminile. Fecondando questa progenie con il suo stesso polline, ottiene una nuova generazione in cui ricompare il carattere - chiamato *recessivo* - scomparso in quella precedente, con un rapporto 3:1 fra individui che esprimono il carattere dominante e individui che esprimono quello recessivo.

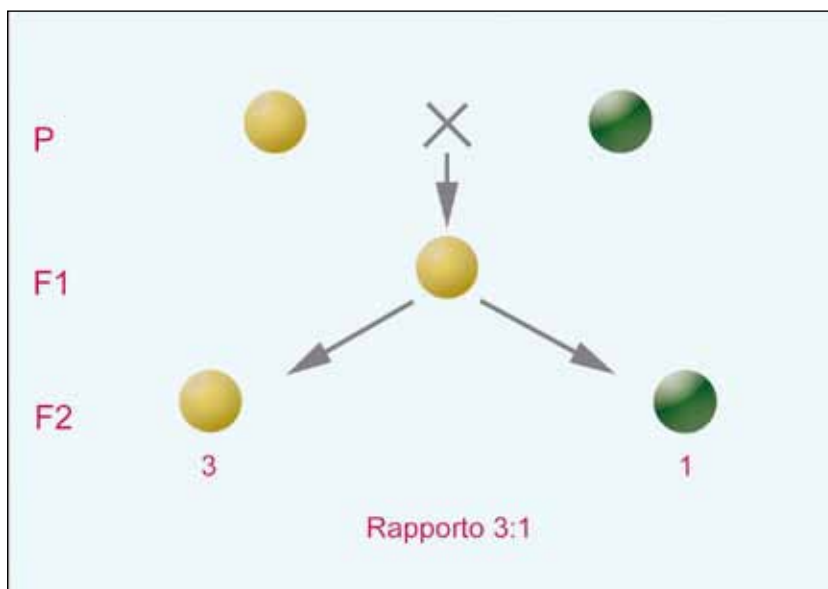


Figura 10 Rappresentazione schematica della Prima Legge di Mendel (legge della segregazione). La progenie (generazione F1) dell'incrocio tra due genitori (generazione parentale, P) che differiscono per un carattere, ad esempio il colore giallo o verde dei piselli, mostra tutto lo stesso carattere –detto dominante– di uno dei due genitori. L'altro carattere –detto recessivo– ricompare in un rapporto 3:1, cioè in un quarto della progenie, ottenuta per autoimpollinazione (incrocio) di questi individui (generazione F2).

In seguito a una nuova autofecondazione, Mendel osserva che gli individui che mostrano il carattere recessivo generano sempre discendenti con lo stesso carattere, e che mentre una parte degli individui che mostrano il carattere dominante generano solo individui con lo stesso carattere, nell'altra parte ogni individuo genera tre discendenti con il carattere dominante e uno col recessivo.

Realizzando poi incroci tra genitori che differiscono fra loro per due o più coppie di caratteri, Mendel osserva che questi si ricombinano a caso nei discendenti, cioè in modo del tutto indipendente.

Le scoperte di Mendel rimangono ignorate fino al 1900, quando vengono riscoperte e costituiscono il punto di partenza della nuova scienza della genetica. Una delle prime e più importanti applicazioni delle sue leggi

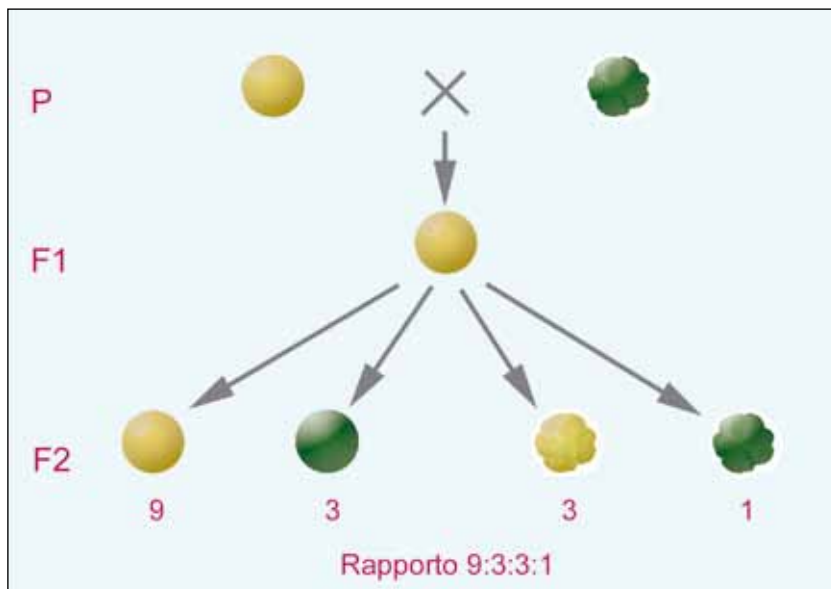


Figura 11 Rappresentazione schematica della Seconda Legge di Mendel (legge dell'assortimento indipendente). La progenie (generazione F1) dell'incrocio tra due genitori (generazione parentale, P) che differiscono per due caratteri (ad esempio il colore giallo o verde e l'aspetto liscio o rugoso dei piselli) mostra tutti gli stessi caratteri – detti dominanti. I caratteri recessivi ricompaiono poi insieme in 1/16 e ciascuno separatamente in 3/16 della progenie ottenuta per autoimpollinazione (incrocio) di questi individui (generazione F2) (rapporto 9:3:3:1). Si possono osservare deviazioni da questa legge se i caratteri sono strettamente associati sullo stesso cromosoma.

è la creazione del mais ibrido. Nel 1908, incrociando due linee pure di mais, l'agronomo americano Georg H. Shull ottiene un mais ibrido dalla resa eccezionale rispetto alle varietà genitrici, per di più costituito da individui tutti uguali, una caratteristica preziosa per gli agricoltori. Il fenomeno, chiamato *vigore dell'ibrido*, era già stato osservato, ma grazie alla conoscenza delle leggi dell'ereditarietà Shull riesce a riprodurlo con sistematicità, e a capire che i semi ottenuti dagli ibridi non avrebbero avuto più le stesse caratteristiche delle piante da cui avevano avuto origine. Dal 1920, anno in cui diventa disponibile il primo ibrido commerciale, i contadini cominciano a non riseminare più i semi ottenuti, ma a comprarli dalle industrie sementiere, che nascono proprio

allora. Ma il gioco vale la candela. Se ci sono voluti quasi 5000 anni per passare dalla resa di 150 chilogrammi per ettaro del teosinte ai 250 del mais intorno al 1500, e altri 450 anni per arrivare ai 1.500 alla fine degli anni Trenta dello scorso secolo, nei settant'anni successivi la resa del mais è diventata di 6 volte maggiore. Si stima che il 60% circa dell'incremento della resa sia dovuto al miglioramento genetico ottenuto con gli ibridi, mentre il rimanente 40% ad un cambiamento delle pratiche agricole.

Moltissime piante coltivate, ad esempio il pomodoro, sono oggi prodotte a partire da semi ibridi. Fra queste c'è il ciliegino (nome della varietà: "Naomi F1"), più conosciuto come il pomodorino di Pachino, "creato" nel 1989 da ricercatori dell'Università Ebraica di Gerusalemme. Più in generale, quasi tutte le varietà agricole di cui ci nutriamo oggi, comprese moltissime di quelle che chiamiamo "tipiche" sono state infatti create grazie al contributo della genetica, nel corso del Novecento.

Per il momento questa scienza è solo agli esordi, ma nel giro di pochi anni si scopre che le leggi di Mendel valgono non solo per le piante, ma anche per gli animali. Il passo successivo sarà l'identificazione della natura e della localizzazione dei fattori ereditari, che sono appena stati chiamati *geni*.

CARATTERI E GENI

Nel 1910, il genetista americano Thomas Hunt Morgan scopre che i geni si trovano nei cromosomi, speciali strutture contenute all'interno del nucleo di ogni cellula.

Le cellule batteriche contengono circa 2.000 geni diversi riuniti su un solo cromosoma, mentre una pianta superiore ne contiene almeno 25.000 su 10-40 cromosomi e l'uomo più di 30.000 su 46 cromosomi per genoma aploide. L'insieme dei geni di un organismo costituisce il suo *genoma*, che è contenuto in copie identiche in tutte le cellule di un individuo.

I geni controllano le caratteristiche di un individuo perché contengono le informazioni per produrre le proteine, molecole che sono i costituenti fondamentali di ogni cellula. Ad



Figura 12 In alto, cellule dell'epidermide di cipolla (osservata al microscopio) nelle quali sono visibili diverse fasi della divisione cellulare. In basso, i cromosomi come appaiono al microscopio elettronico a scansione.

esempio, i geni che determinano il colore dei fiori o dei frutti codificano per proteine ad attività enzimatica che convertono molecole incolori in pigmenti colorati. Quando uno di questi geni viene trasmesso da una generazione alla successiva, viene ereditata anche la capacità di produrre uno specifico pigmento.

Mentre alcuni caratteri di interesse agronomico sono determinati da un solo gene, ad esempio quelli per la resistenza agli attacchi fungini, la maggior parte è il risultato dell'azione anche di molti geni. A questo secondo gruppo di caratteri, chiamati appunto *poligenici*, appartengono ad esempio la forma e le dimensioni della pianta, la sua capacità di sviluppo e la tolleranza agli stress fisici.

L'insieme delle caratteristiche specifiche di un individuo, che costituisce il suo *fenotipo*, dipende dunque dall'insieme specifico dei suoi geni, e cioè dal *genotipo*, oltre che dalle interazioni fra quest'ultimo e l'ambiente nel quale si sviluppa. Se cambiano i geni cambia anche il fenotipo, e questo è esattamente l'obiettivo dei selezionatori di nuove varietà.

Ogni cellula generalmente ha due copie di ciascun gene, una d'origine materna e una d'origine paterna, e ogni gene può esistere in forme diverse, chiamate *alleli*. Ad esempio, una forma - cioè un allele - del gene che determina la statura della pianta è presente in una pianta di statura normale

mentre un'altra forma dello stesso identico gene è presente in una pianta con una statura ridotta.

Pur trovandosi fisicamente associati sui cromosomi, i geni vengono ereditati come entità indipendenti grazie al fenomeno della ricombinazione, che avviene prima di quel particolare tipo di divisione cellulare, chiamata *meiosi*, dal quale hanno origine le cellule riproduttive (*gameti*). Nella ricombinazione, i cromosomi d'origine paterna e quelli d'origine materna si appaiano e si scambiano tra loro frammenti di cromosoma dando così origine a nuove combinazioni di geni. Il processo è casuale. Durante la riproduzione sessuale i cromosomi dei genitori, che contengono versioni diverse (*alleli*) di molti geni, si separano e si ridistribuiscono dunque nella progenie in un'infinità di modi. A ogni generazione vengono quindi mescolati interi genomi, e decine di migliaia di geni vengono ricombinati dando origine ad individui con un patrimonio genetico, e quindi un fenotipo, sempre diversi. La scoperta delle basi cellulari dell'ereditarietà apre nuovi orizzonti al miglioramento agronomico. La maggior parte degli organismi superiori è *diploide*, possiede cioè due assetti cromosomici, quindi due alleli per ciascun gene. Se ne possiede di più, l'organismo è invece *poliploide*: una condizione che si può verificare spontaneamente in natura, ma può anche essere indotta con agenti chimici specifici. Sfruttando questa possibilità, agli inizi del secolo scorso è stato creato il tritcale, una nuova specie esaploide, incrociando il frumento con la segale. Il nuovo cereale "artificiale", che



Figura 13 Il diverso colore dei baccelli di pisello è dovuto alla presenza di diversi alleli del gene responsabile della sintesi di una molecola colorata.

ha unito l'alta resa e l'elevato contenuto di proteine del frumento con l'adattabilità al freddo o alla siccità e l'alto contenuto in lisina della segale, è oggi coltivato su più di un milione di ettari.

Ancora per molti anni, però, il miglioramento genetico su basi scientifiche avviene senza che si sia ancora scoperto di che cosa sono fatti i geni.

IL DNA

Nel 1944, Oswald Theodore Avery dimostra che il materiale genetico degli organismi è costituito da molecole di DNA, acronimo inglese di acido desossiribonucleico. I cromosomi sono infatti composti da proteine intorno a cui si avvolge, come un filo intorno al suo rocchetto, un filamento di DNA, una delle molecole biologiche più grandi esistenti in natura. Ma in che modo l'informazione genetica può essere codificata in un composto chimico?

La scoperta decisiva viene fatta, nel 1953, da James D. Watson e Francis Crick, quando decifrano la struttura del DNA. La "molecola della vita" assomiglia a una scala a pioli lunga, sottile e avvolta su se stessa, che tridimensionalmente ricorda una doppia elica. I montanti della scala sono costituiti da due catene di molecole di zucchero-fosfato che corrono in



Figura 14 Una celebre immagine dei ricercatori James Watson e Francis Crick a fianco del modello della struttura del DNA da loro proposto.

direzioni opposte: lo scheletro della molecola. L'informazione genetica vera e propria invece è fornita dai "pioli" o "gradini" della scala, che possono essere formati da quattro differenti tipi di molecole dette *basi*: guanina, citosina, adenina e timina. Queste basi vengono indicate con le loro iniziali (G, C, A, e T) e la loro disposizione lungo la catena del DNA determina la *sequenza* di un gene. Ogni gradino è in realtà costituito da due basi, ognuna delle quali è agganciata a uno dei montanti della scala. Le basi di un gradino sono incastrate tra loro attraverso interazioni specifiche: la guanina può appaiarsi solo con la citosina (G-C), mentre l'adenina si appaia solo con la timina (A-T).

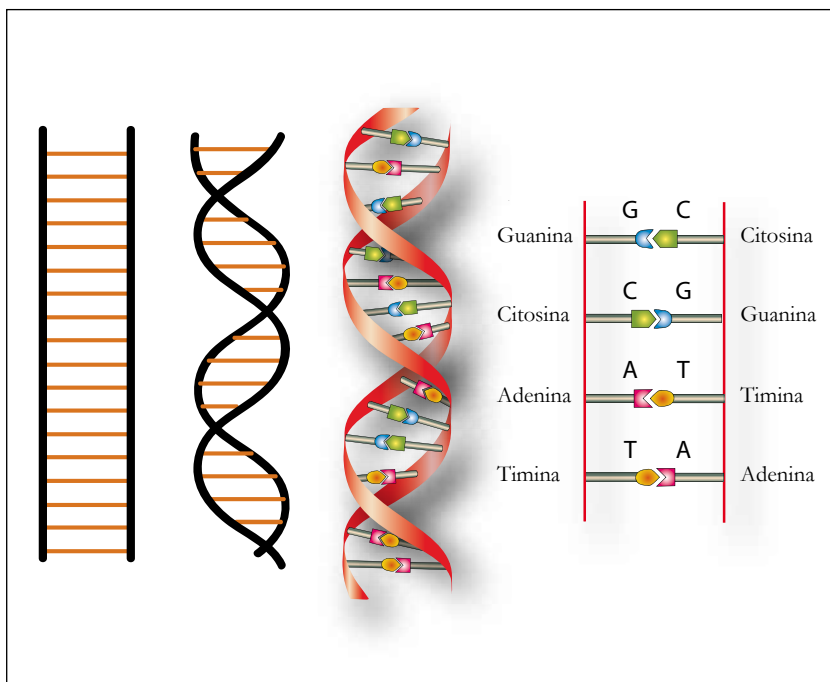


Figura 15 La struttura del DNA assomiglia ad una scala a pioli che si avvolge su se stessa formando una doppia elica. Nella rappresentazione schematica (al centro) i nastri rossi rappresentano le catene di zuccheri-fosfato tenute insieme dall'appaiamento delle basi azotate. Le 4 basi azotate presenti nel DNA sono adenina (A), citosina (C), guanina (G) e timina (T) e di norma possono formare le coppie A/T e G/C.

Per questo motivo, la sequenza di basi in una delle eliche del DNA determina automaticamente la sequenza dell'altra elica. Poiché un gene è un segmento o porzione di DNA corrispondente a centinaia o migliaia di coppie di basi, la diversa successione delle quattro basi lungo la doppia elica determina una diversa informazione genetica e quindi la differenza tra un gene e l'altro.

Resta però da capire in che modo la sequenza di basi chimiche del DNA viene "tradotta" per poter dirigere la costruzione e il funzionamento di un essere vivente.

I GENI E IL CODICE GENETICO

Il filamento del DNA contiene messaggi in codice, i geni, che determinano il funzionamento di ogni singola cellula che compone un organismo, cioè quali reazioni chimiche debbano avere luogo, quando, e a che velocità debbano essere eseguite. In realtà, la decodificazione dell'informazione genetica contenuta in una cellula non è un processo semplice. Il messaggio in codice contiene altre sequenze che funzionano come punteggiatura e servono a comunicare alla cellula dove iniziare e terminare la lettura e la decodificazione dell'informazione. Alcune sequenze di DNA non codificano per alcuna proteina e sono come spazi tra le parole. Altre sequenze, come i promotori, determinano dove e quando il messaggio in codice deve essere prodotto, agendo così come interruttori di accensione e spegnimento del flusso d'informazione. Ad esempio, nelle piante i promotori possono servire affinché un gene sia decodificato solo durante il giorno, o nelle foglie piuttosto che nelle radici. È la presenza dei promotori, ad esempio, che permette di spiegare perché i petali sono colorati mentre le foglie sono verdi, nonostante tutte le cellule, sia nel fiore sia nelle foglie, possiedano gli stessi identici geni.

Oltre che da un promotore che ne controlla l'espressione genica, i geni di norma sono costituiti da regioni contenenti l'informazione genica (*esoni*) alternate a sequenze non codificanti (*introni*). Sia gli esoni che gli introni vengono copiati

durante un processo chiamato trascrizione, a produrre un filamento di RNA primario da cui vengono poi rimossi gli introni. La decodifica di questo messaggio derivato dalla trascrizione di un gene da parte della cellula determina l'avvio della sintesi di una particolare proteina. Il processo di decodifica avviene per mezzo di un complesso macchinario molecolare presente in ogni cellula, detto apparato di traduzione.

Poiché i componenti necessari per la produzione delle proteine sono localizzati in un altro compartimento cellulare, il citoplasma, è necessario trasportare il messaggio in codice fuori del nucleo della cellula. Per fare questo, il messaggio genico viene copiato (trascrizione, il primo stadio di lettura del codice genetico) sintetizzando una molecola a singolo filamento di un altro acido nucleico - l'acido ribonucleico, o RNA - che agisce come messaggero per trasferire l'informazione dal nucleo al citoplasma. Il processo di trascrizione di

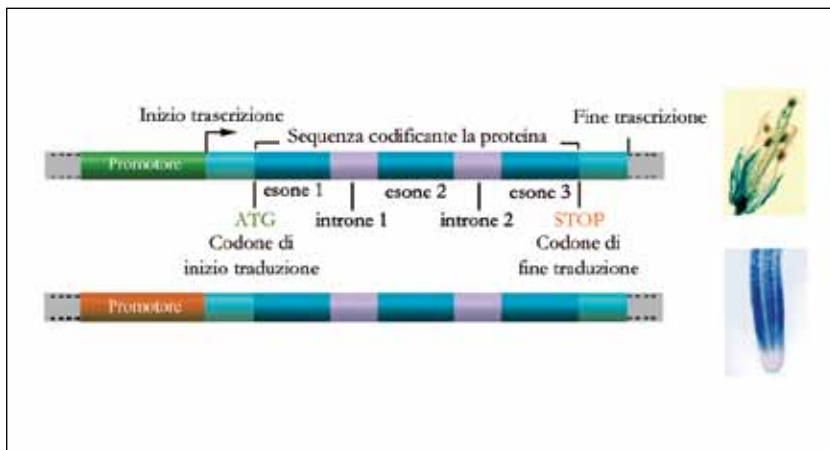


Figura 16 Un gene è un segmento di DNA che può contenere una sequenza codificante per una proteina, compresa tra la tripletta ATG ed il codone di stop, o una sequenza non codificante; inoltre il gene contiene sequenze che precedono e seguono la sequenza codificante che ne regolano il funzionamento. La sequenza genica che viene copiata nell'RNA messaggero è spesso costituita dall'alternanza di porzioni che si ritrovano nel trascritto maturo (gli esoni) e porzioni non codificanti (gli introni) che vengono rimosse prima che abbia inizio la sintesi proteica. La colorazione blu, dovuta all'attività della proteina codificata da un gene marcatore, mostra che promotori diversi determinano l'espressione di una stessa sequenza codificante in parti diverse della pianta (nell'esempio nel fiore e nella radice).

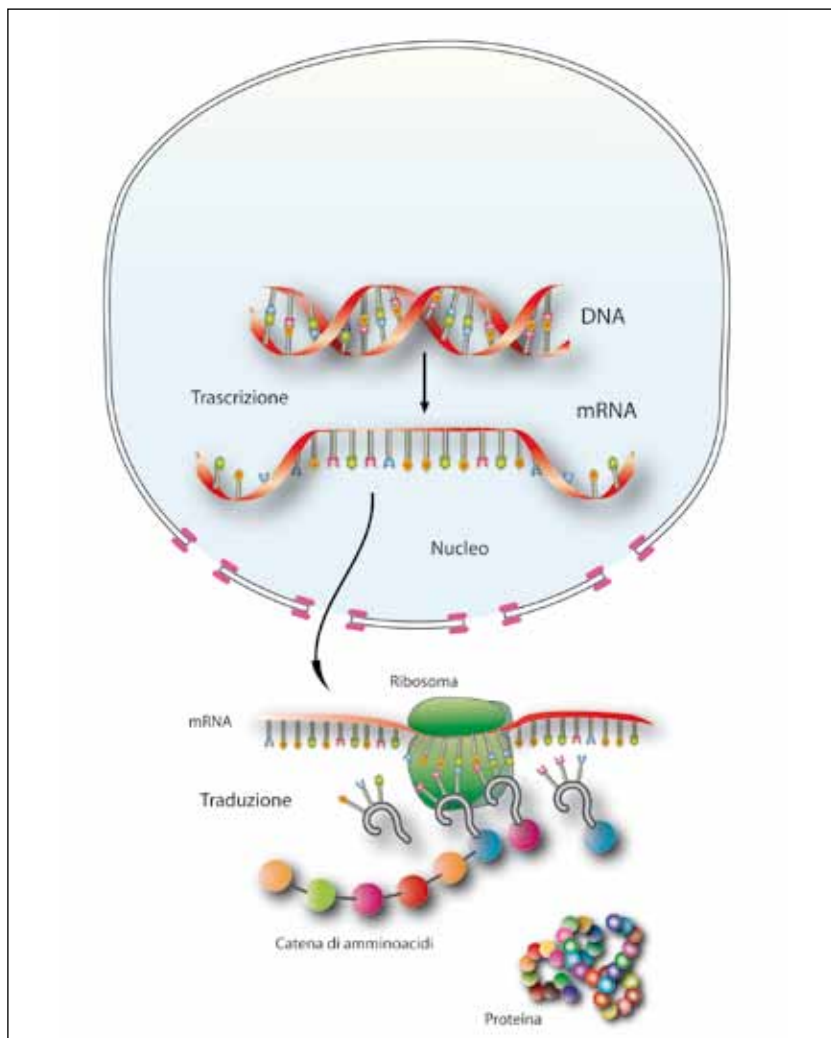


Figura 17 L'informazione contenuta nei geni viene copiata (trascrizione) in una molecola di RNA messaggero (mRNA), esportata dal nucleo al citoplasma ed utilizzata per produrre una proteina convertendo la successione di triplette di basi del DNA in una successione di aminoacidi (traduzione).

un gene avviene molte volte, producendo un numero molto elevato di copie di RNA messaggero: in questo modo l'informazione contenuta nel gene viene "amplificata" per produrre rapidamente più copie della proteina.

Ciascuna delle parole che costituiscono il messaggio in codice è costituita dalla combinazione di tre basi dell'elica

[illegible]

Figura 18 Il codice genetico, scritto per convenzione nella forma in cui appare nelle molecole di mRNA (la base uracile -U- sostituisce la base timina -T-). La decodifica dell'informazione genetica contenuta nel RNA messaggero ha sempre inizio in corrispondenza del codone AUG (codificante l'aminoacido metionina, Met, in verde). I codoni UAA, UAG e UGA non specificano nessun aminoacido e rappresentano il punto di fine della lettura (STOP, in rosso). Dato che la combinazione di quattro diversi nucleotidi può dare origine a 64 possibili triplette mentre nelle proteine si ritrovano solo 20 aminoacidi, la maggior parte di questi sono codificati da più di un codone. I codoni che specificano lo stesso aminoacido differiscono in genere solo nel terzo nucleotide.

del DNA (AA1, AAA, ATA, ecc.). Ciascuna tripletta della sequenza è la parola in codice che specifica uno dei 20 aminoacidi naturali, le molecole più semplici. La tripletta ATG, ad esempio, codifica l'aminoacido metionina. Leggendo quindi i messaggi in codice contenuti nei geni e allineando nel corretto ordine gli aminoacidi, i sistemi viventi possono assemblare le proteine, che sono appunto molecole costituite da catene di aminoacidi. Proteine diverse hanno funzioni diverse. Gran parte delle molecole fondamentali per il funzionamento della cellula, come trasportatori di molecole o ioni, anticorpi, enzimi, ormoni o elementi strutturali, sono infatti proteine.

I GENI SI MODIFICANO

I geni non sono entità sempre uguali, ma cambiano continuamente e casualmente a causa di variazioni nella loro struttura chimica dette *mutazioni*: un fenomeno che è alla base della variabilità biologica e dell'evoluzione.



Figura 19 Esempio di una mutazione spontanea a carico di un gene avvenuta dopo la germinazione del seme che ha determinato la perdita della clorofilla in piantine di limone.

Ci sono molti meccanismi “naturalisti” che possono alterare la sequenza del DNA e quindi provocare mutazioni. Ad esempio, quando i geni vengono duplicati prima di una divisione cellulare, si possono verificare errori accidentali che creano nuove sequenze. Mutazioni possono essere prodotte anche da certe sostanze chimiche presenti in natura e dalle radiazioni, sia quelle cosmiche che quelle emesse dagli elementi radioattivi della crosta terrestre.

Un'altra causa di mutazioni sono infine i virus e i *trasposoni*, porzioni di DNA che naturalmente saltano in maniera casuale da una posizione a un'altra all'interno del genoma, i quali inserendosi all'interno di un gene lo interrompono e ne determinano la perdita di funzione.

Poiché la “materia prima” a disposizione degli agronomi per il miglioramento delle colture è la variabilità genetica presente nelle varietà coltivate, a partire dalla metà del Novecento si è cercato di aumentarla creando nuove mutazioni. Trattando i semi con speciali sostanze chimiche o radiazioni ionizzanti, il DNA viene alterato in modo casuale. La maggior parte delle mutazioni sono dannose, ma qualcuna può trasformare un gene creando nuove caratteristiche utili.

Numerosi prodotti oggi sulla nostra tavola contengono geni che sono stati ottenuti attraverso programmi di *mutagenesi*. Il grano duro italiano, per esempio, è il prodotto di una ibridazione di molte mutazioni accumulate nel tempo dall'uomo. Il grano “Creso”, che da circa vent'anni ha conquistato il primato tra le varietà di grano duro utilizzate per la produzione della pasta, è nato da un incrocio tra una linea messicana ottenuta presso il Centro per il miglioramento del mais

e grano (CIMMYT) di Città del Messico, a sua volta derivata da un incrocio fra un frumento tenero e un frumento duro, e una linea mutante generata con l'uso di raggi X a partire dalla varietà italiana "Cappelli".

LA CONSERVAZIONE DEI GENI

Già nell'Ottocento, Charles Darwin aveva suggerito che tutti gli organismi oggi viventi sul nostro pianeta possono discendere da un unico antenato comune. La miglior prova è proprio il fatto che in tutti gli organismi l'informazione genetica è contenuta in molecole di DNA, è codificata nello stesso modo ed è poi espressa per mezzo degli stessi meccanismi molecolari. Da quando, più di recente, è stato possibile leggere i genomi di molte specie, ci si è anche accorti che una notevole porzione del DNA, e quindi dei geni, è simile in tutti gli organismi viventi. Questo rappresenta l'eredità, la traccia del percorso evolutivo comune. Dietro l'enorme diversità di forme, colori, dimensioni e adattamenti, si nasconde quindi una straordinaria somiglianza a livello genetico. Quanto più è importante la funzione di un gene, tanto maggiore è la probabilità che questo si conservi all'interno dell'albero evolutivo. Uno stesso gene, ad esempio, dà il via alla divisione nelle cellule del lievito e alla cascata ormonale responsabile del comportamento sessuale nell'uomo.

In generale, comunque, la probabilità che il gene si sia conservato e abbia mantenuto la stessa funzione è tanto maggiore, quanto minore è la distanza evolutiva fra un organismo e l'altro. Ad esempio, nonostante l'enorme differenza nella quantità di DNA posseduto dalle diverse specie di cereali, i geni e il loro ordine sui cromosomi sono molto simili nelle varie specie, essendo queste tutte discendenti da un antenato comune vissuto circa 60 milioni di anni fa. Ciò è di grande aiuto per i genetisti, perché permette di superare la difficoltà della ricerca di geni in specie che hanno un elevato contenuto di DNA. Infatti, una volta che un gene è stato identificato, per esempio, nel riso che ha un basso contenuto di DNA, è possibile identificare il gene corrispondente nel mais

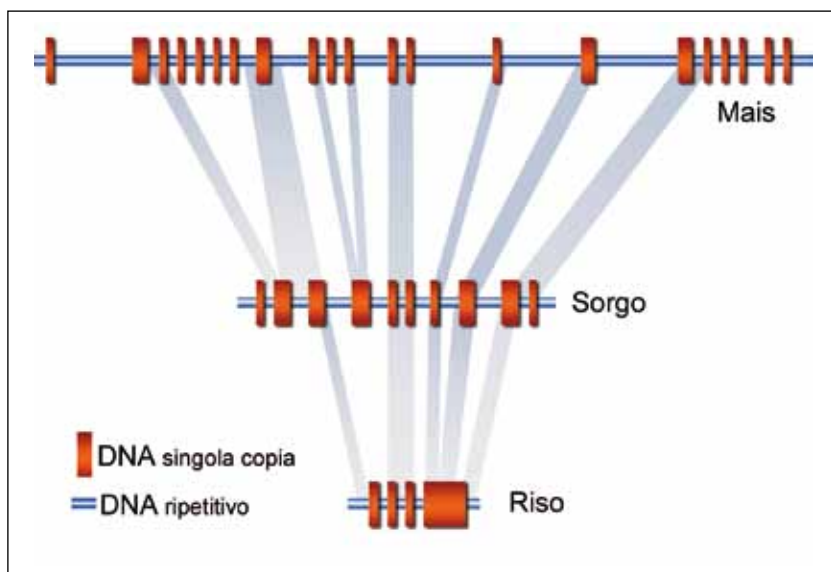


Figura 20 L'informazione contenuta nei geni è stata in gran parte conservata nel corso dell'evoluzione. Geni che svolgono la stessa funzione in diverse specie sono costituiti da sequenze di DNA molto omologhe e in specie affini occupano posizioni equivalenti sui cromosomi (sintenia).

che invece ne contiene di più, semplicemente in base alla conservazione della sua posizione sul cromosoma.

Tutte queste considerazioni ci fanno capire quanto utile potrebbe essere, per una specie, acquisire un gene contenuto in una specie diversa. In natura, però, uno scambio del genere non può avvenire a causa dell'isolamento riproduttivo che separa fra loro le specie, se non in modo del tutto eccezionale e fra specie affini.

Altri sviluppi della genetica molecolare, tuttavia, stanno portando al superamento di questo come di altri limiti.

DAL MIGLIORAMENTO CLASSICO ALL'INGEGNERIA GENETICA

In termini genetici, il miglioramento classico delle varietà è un processo casuale. Le nuove combinazioni di DNA vengono infatti create in maniera sconosciuta e imprevedibile. I selezionatori si limitano a identificare individui dalle

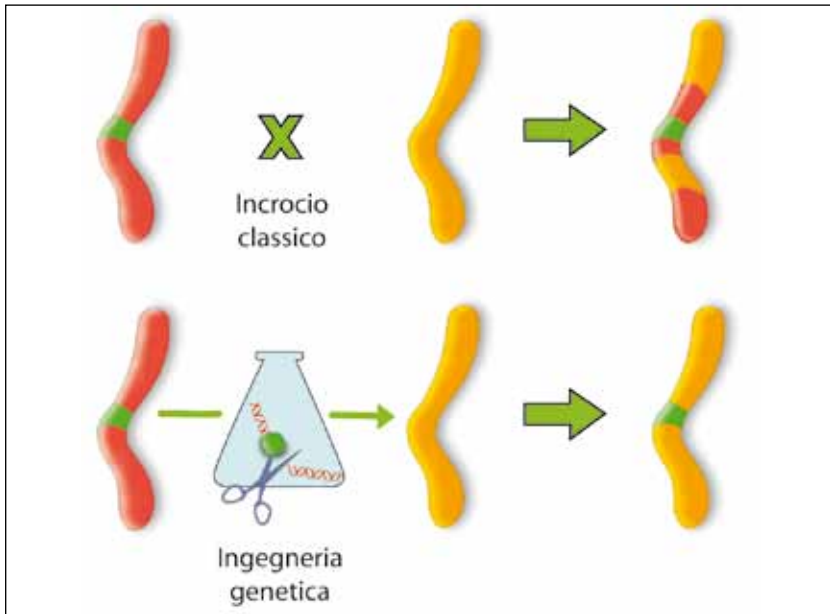


Figura 21 Quando una varietà selvatica viene incrociata con una coltivata lo scambio di materiale genetico è casuale ed oltre al carattere che si vuole trasferire vengono acquisite altre porzioni di DNA la cui funzione è ignota. Con l'ingegneria genetica, invece, viene trasferito solo il gene che conferisce il carattere desiderato.

caratteristiche desiderate tra la progenie dell'incrocio senza avere la possibilità di controllare esattamente quali e quanti geni sono stati trasferiti e l'influenza che essi hanno sulla varietà risultante. L'abilità dei selezionatori di nuove varietà sta quindi nel riconoscere i fenotipi utili che hanno caratteristiche visibili favorevoli. Utilizzando i normali incroci, infatti, non è possibile sapere cosa avviene a livello della ricombinazione e quindi dei singoli geni. In altre parole, non è possibile sapere quanti altri geni oltre a quello desiderato sono stati trasferiti. Questa variazione non voluta sui cromosomi può essere compresa tra i 1.000 e i 2.000 geni e sono necessarie molte generazioni di reincrocio, e quindi molto tempo, per eliminare tutti i caratteri indesiderati trasferiti insieme a quello utile. Ad esempio per il frumento occorrono da 5 a 8 generazioni e circa 10 anni per arrivare ad una nuova varietà coltivabile. E non sempre è possibile ottenere questo risultato.

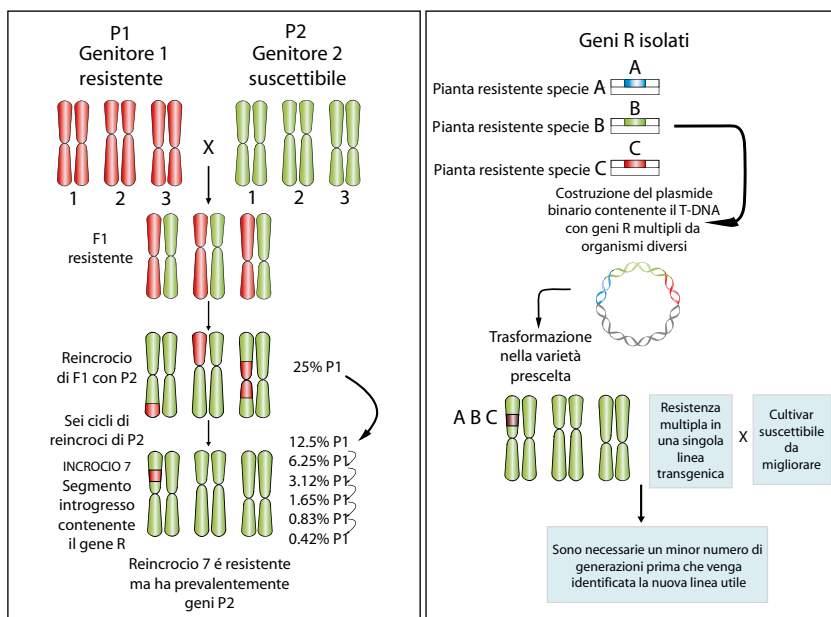


Figura 22 Il miglioramento genetico classico (a sinistra) e l'ingegneria genetica (a destra) a confronto in un esempio pratico di trasferimento di geni che conferiscono la resistenza a patogeni (geni R).

Anche le tecniche di mutagenesi sono casuali.

Un altro limite delle tecniche convenzionali di miglioramento genetico è che per mescolare i geni è necessario che due piante possano incrociarsi e produrre prole fertile. Poiché l'incrocio è possibile solo se le piante hanno un certo grado di compatibilità, i limiti ai potenziali partner sono notevoli. Infatti, la fecondazione e poi la nascita di una prole fertile avvengono in natura solo tra due organismi (una femmina e un maschio) appartenenti alla stessa specie o a specie vicine compatibili. Per questo motivo la gamma delle caratteristiche che ogni specie potrà esprimere naturalmente è limitata a quelle già presenti in organismi di quella specie. Spesso i selezionatori cercano di trasferire nelle varietà coltivate dei caratteri utili ma persi da lungo tempo, come la resistenza alla siccità o agli stress salini, recuperandoli dalle piante selvatiche più affini. A volte la distanza evolutiva tra la pianta coltivata e il suo antenato è però talmente grande che diventa molto difficile - se non addirittura impossibile - ibridare le

due piante e trasferire i geni nella varietà coltivata utilizzando le tecniche classiche dei selezionatori.

Le biotecnologie moderne sono nate, fra la fine degli anni Sessanta e i primi anni Settanta del secolo scorso, proprio per superare questi limiti. Esse consentono infatti di inserire nel genoma delle specie coltivate nuova informazione genetica in grado di conferire caratteristiche agronomiche interessanti. In laboratorio si possono infatti isolare porzioni di DNA utili da un ampio spettro di organismi, anche non imparentati e quindi sessualmente incompatibili, farne una copia e inserire la copia nella pianta senza introdurre altri geni indesiderati. La tecnologia è nota come “ingegneria genetica” e le varietà generate in questo modo vengono definite “geneticamente modificate” (GM). È così possibile intervenire con più precisione e rapidità poiché viene trasferito solo il gene in grado di conferire la caratteristica desiderata, e si conosce l'esatta natura molecolare della modificazione introdotta nella pianta. Inoltre è possibile superare le barriere tra organismi sessualmente incompatibili. Nel nostro racconto, siamo quindi arrivati all'oggi.

COME SI PRODUCONO LE PIANTE GM

3

DAI GENI AI SEMI

IDENTIFICAZIONE DEL GENE DA TRASFERIRE

Il primo passo per migliorare una pianta conferendole una caratteristica nuova è identificare, all'interno del genoma di un altro organismo che possiede già quella caratteristica, il gene che ne è responsabile.

Non si tratta di un compito facile. Una pianta, ad esempio, può possedere qualche decina di migliaia di geni: tipicamente si tratta di scovare una sequenza di poche centinaia di basi all'interno di un genoma fatto di miliardi di basi. Si tratta quindi di una vera e propria caccia al tesoro, il cui scopo è accertare le basi molecolari del carattere desiderato: non solo genetiche, ma anche biochimiche e fisiologiche.

La tecnica principale consiste nello scegliere dei marcatori, specifiche sequenze di basi distribuite nel DNA, di ciascuno dei quali si conosce la posizione, e poi seguirne la ricombinazione attraverso una serie di incroci.

Se il carattere desiderato si manifesta in individui che possiedono un certo marcatore e non si manifesta negli altri, vuol dire che il gene che ne è responsabile si trova più o meno vicino a quel marcatore.

La regione del DNA intorno al marcatore viene quindi sequenziata, e in base alle sequenze di basi trovate si cerca di risalire a quella corrispondente al gene desiderato. A seconda della funzione, infatti, i geni possono possedere sequenze di basi riconoscibili.

Un altro strumento che si è rivelato molto utile per identificare le sequenze geniche associate a una determinata funzione sono i trasposoni, gli elementi mobili di DNA. Quando la mutazione di un carattere interessante è causata dall'inserzione di un trasposone in un gene, è possibile rintracciare il trasposone e isolarlo insieme con parte del DNA che lo fiancheggia. In altre parole, il trasposone può essere utilizzato come un'etichetta per riconoscere la struttura del particolare gene distrutto, cosa esso fa nell'organismo e dove è localizzato sui cromosomi.

Se i geni implicati nella determinazione di un carattere sono più di uno, il lavoro è più complicato, perché gli indizi da trovare e collegare sono molti di più.

Fortunatamente, la nostra conoscenza del funzionamento degli organismi vegetali si è molto ampliata negli ultimi anni grazie all'utilizzo dell'approccio globale e quantitativo delle cosiddette scienze "omiche". Aniché cercare di isolare singole funzioni, l'idea è di trovare *tutti* i componenti molecolari presenti in un particolare momento in una data cellula, e poi, confrontandoli fra di loro, individuare quelli coinvolti nella catena metabolica o regolativa cercata.

La prima di queste scienze è la *genomica*, che consiste nel sequenziamento dell'intero genoma di un organismo.

Lo studio sistematico e il sequenziamento di tutto il patrimonio genetico di alcune specie modello, come l'*Arabidopsis*, il riso, il pioppo e la vite, e l'analisi comparata dei genomi di diverse specie dovrebbe facilitare il compito di assegnare una funzione a tutti i principali geni della pianta. Con queste informazioni, infatti, si può scegliere una serie di marcatori particolarmente fitta che consente di arrivare subito più vicino al gene cercato, restringendo il campo di ricerca. Diventa inoltre più semplice identificare geni omologhi con la stessa funzione in organismi di cui non si conosce ancora la sequenza completa del genoma.

Per identificare un gene ci si serve anche di altre "-omiche" che riguardano le molecole in cui l'informazione genetica viene convertita: gli RNA messaggeri (*trascrittomica*), le proteine (*proteomica*) e i prodotti delle reazioni enzimatiche (*metabolomica*). Conoscendo le basi chimiche del carattere, si può così risalire lungo la catena dei prodotti intermedi fino al gene.

Non solo. Lavorando a livello molecolare si possono seguire negli incroci anche i geni responsabili di caratteri invisibili, senza dover attendere di poterli vedere nella pianta cresciuta, con una notevole riduzione dei tempi (e quindi dei costi) necessari.

Buona parte di questo lavoro si fa ormai attraverso metodi altamente automatizzati, spesso miniaturizzati, che generano enormi quantità di dati. Per raccogliarli, analizzarli e

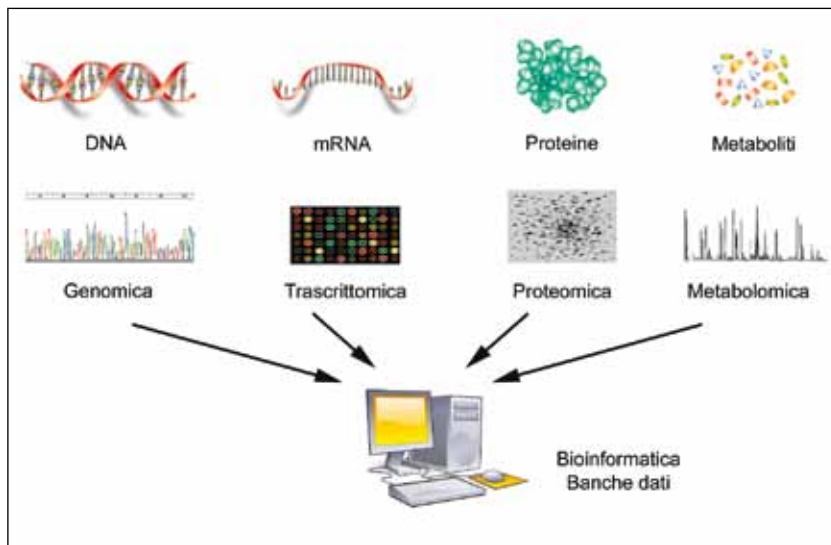


Figura 23 La genomica funzionale utilizza approcci sperimentali che permettono di ottenere informazioni su larga scala su sequenze genomiche, attività genica, proteine e piccole molecole presenti in un organismo in una data condizione. La grande quantità di informazioni così prodotte vengono raccolte in banche dati e analizzate con l'aiuto di strumenti bioinformatici.

archiviarli sono state create grandi banche dati, sono stati sviluppati metodi di analisi e software specifici e si fa ricorso a figure nuove per la biologia, come i matematici e gli ingegneri, tanto che è nato un nuovo settore scientifico: la biologia computazionale.

PREPARAZIONE E MOLTIPLICAZIONE DEL GENE

Una volta identificata la sequenza genica desiderata, questa va isolata dalla molecola di DNA originaria, le vanno aggiunte altre sequenze di DNA necessarie per il suo corretto trasferimento e funzionamento nella pianta ospite, e va poi prodotta in un grande numero di copie: un procedimento chiamato *clonaggio genico*.

Per effettuare questi passaggi gli ingegneri genetici hanno a disposizione attrezzi molto sofisticati forniti dalla natura stessa. Per tagliare il DNA esistono vere e proprie "forbici molecolari", gli enzimi di restrizione, ciascuno dei quali

taglia i filamenti di DNA in corrispondenza di sequenze diverse e specifiche. Si tratta di enzimi prodotti da batteri che li utilizzano per difendersi dal DNA estraneo iniettato da virus invasori.

I segmenti di DNA prodotti dal taglio devono essere poi separati. Una delle tecniche utilizzate per individuare i diversi frammenti è l'elettroforesi in gel. Le molecole di DNA, infatti, hanno carica elettrica negativa e tendono a migrare verso il polo positivo quando viene applicato un campo elettrico. Poiché la migrazione avviene attraverso i pori di cui si compone un gel, i frammenti più lunghi si spostano più lentamente dei frammenti più corti e quindi i diversi frammenti possono essere separati in base alla loro dimensione. Se la quantità di DNA presente è sufficientemente elevata da renderli visibili, i ricercatori riescono facilmente a individuare i frammenti desiderati. Una volta che il gene è stato isolato, gli viene aggiunta una sequenza di DNA che finge da promotore e un'altra, un marcatore di selezione, che nelle successive fasi del procedimento permetterà di identificarne la presenza.

Di questo nuovo frammento di DNA occorre quindi produrre delle copie. Per farlo si sfrutta normalmente l'*Escherichia coli*, un batterio innocuo per l'uomo, che come la maggior parte dei batteri contiene molecole circolari di DNA chiamate *plasmidi*.

Quando un enzima di restrizione taglia un filamento di DNA le estremità che rimangono esposte tendono a riunirsi con altre estremità seguendo le regole dell'appaiamento delle basi sui pioli della "scaletta" del DNA. Un altro enzima batterico, detto ligasi, agisce poi come una "colla" che salda le estremità tagliate del DNA. In questo modo, usando "forbici" e "colla", il gene che vogliamo utilizzare può essere inserito in un plasmide, e poi reintrodotta nel batterio ospite.

Quando il batterio si moltiplica produce non soltanto molte copie di se stesso ma anche molte copie del plasmide al cui interno dovrebbe essere contenuto il gene utile.

Poiché il segmento di DNA da trasferire non si inserisce in tutti i plasmidi, e non tutti i plasmidi poi si reinseriscono nel batterio ospite, occorre distinguere i batteri che ne sono portatori

dagli altri. Per farlo si coltivano i batteri in presenza di un antibiotico, nel quale sopravvivranno solo i batteri che contengono il nuovo DNA, il cui marcatore di selezione produce un enzima in grado di degradare proprio quell'antibiotico.

Alla fine di questa prima fase della procedura, quindi, sono disponibili, trasportate dal batterio ospite, milioni di copie del gene utile, accompagnato dal gene marcatore.

Le tecnologie più recenti consentono anche di togliere infine il gene marcatore di selezione, tanto che l'Unione Europea oggi non consente più di commercializzare nuove varietà geneticamente modificate (GM) che lo possiedono ancora.

INSERIMENTO DEL GENE NELLE CELLULE DELLA PIANTA

Trasferire il gene d'interesse dal plasmide modificato al DNA della cellula vegetale non è semplice, ma esistono vari metodi per farlo.

Il primo metodo utilizzato si basava sull'assorbimento diretto del DNA da parte delle cellule vegetali. Dopo la digestione enzimatica delle pareti cellulari per renderle più accessibili, le cellule venivano sottoposte a uno shock chimico o elettrico per favorire l'ingresso del DNA plasmidico.

Questo metodo, poco efficiente, è stato presto soppiantato da un sistema di trasferimento genico già presente in natura, l'uso del batterio *Agrobacterium tumefaciens*.

L'agrobatterio è un comune batterio del suolo capace di infiltrarsi attraverso le ferite della pianta e di trasferire stabilmente nelle sue cellule una parte del proprio DNA - detta transfer-DNA (T-DNA) - che si trova su un particolare plasmide.

L'infezione da parte dell'agrobatterio determina normalmente la formazione di una "galla" o tumore visibile sulla superficie della pianta. Per poterlo utilizzare come sistema di trasformazione delle piante è stato necessario eliminare i geni del batterio che hanno la capacità di indurre il tumore. Questo nuovo batterio "disarmato" è oggi utilizzato per trasferire, dal suo T-DNA alle cellule vegetali, il gene utile insieme a un gene marcatore necessario per la selezione di quelle che hanno acquisito il nuovo materiale genetico.

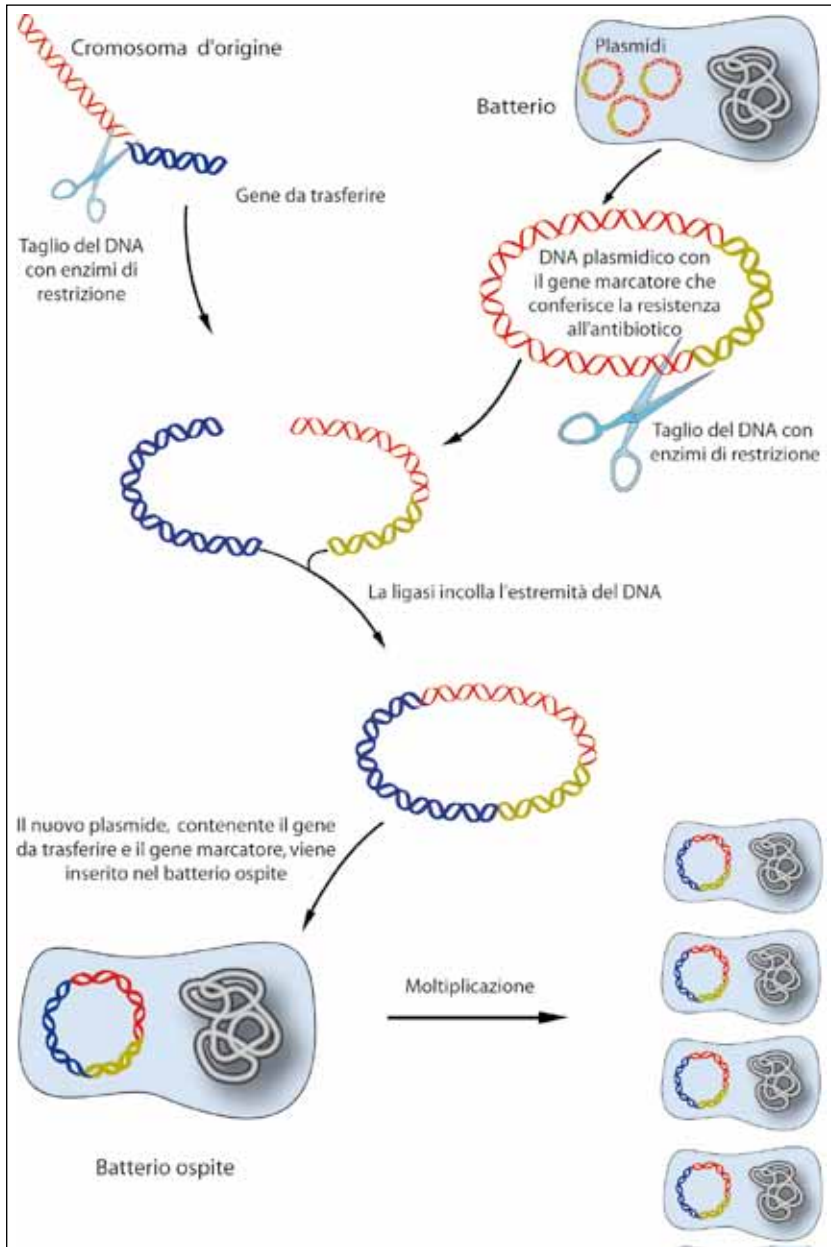


Figura 24 Il gene d'interesse viene isolato dal DNA d'origine ed inserito in piccole molecole di DNA circolare, i plasmidi, mediante enzimi di restrizione che tagliano il DNA e enzimi *ligasi* che lo incollano. Una volta reinseriti nelle cellule batteriche, i plasmidi sono in grado di replicarsi producendo al tempo stesso un gran numero di copie del gene d'interesse.

Il processo di trasferimento prevede l'immersione di alcuni pezzetti di tessuto della pianta in una coltura di agrobatterio per consentire l'infezione e il trasferimento del T-DNA in alcune cellule vegetali, da cui poi si rigenererà l'intera pianta. Il fatto che ci si basi sulla capacità biologica dell'agrobatterio di trasferire il DNA voluto nelle cellule vegetali è il principale vantaggio ma, al tempo stesso, il limite di questo metodo. Infatti, non tutte le piante sono suscettibili all'infezione e lasciano trasferire nel proprio genoma il T-DNA dell'agrobatterio. Fra queste ci sono alcune delle piante più importanti dal punto di vista alimentare come il mais, il riso e il frumento. Per ovviare a questo problema è stato messo a punto un metodo basato esclusivamente su proprietà fisico-chimiche, detto *biolistico*. Esso utilizza uno speciale cannoncino ad aria compressa per sparare direttamente nel tessuto vegetale microproiettili d'oro o tungsteno coperti del DNA da introdurre. Grazie all'alta velocità, i microproiettili riescono ad attraversare le pareti cellulari e a raggiungere il nucleo, dove in alcuni casi il DNA riesce a integrarsi stabilmente nel genoma della cellula vegetale.

Il trasferimento di un gene per mezzo di queste tecniche è più preciso rispetto all'incrocio classico, perché si trasferisce solo quel gene anziché ricombinare due interi genomi, ma non consente di scegliere dove – nel genoma della nuova pianta – il gene si inserirà. Lo si potrà verificare solo dopo, a trasformazione avvenuta.

RIGENERAZIONE DI PIANTE GENETICAMENTE MODIFICATE

Una volta che la trasformazione delle cellule vegetali è riuscita, il passo successivo consiste nel rigenerare delle piante intere a partire dalle singole cellule.

Quando per il trasferimento genico si utilizza un tessuto vegetale adatto, è possibile ottenere direttamente semi GM a partire dalle cellule che hanno acquisito il gene d'interesse. In altri casi, invece, per poter rigenerare una pianta intera a partire da una singola cellula è necessario procedere

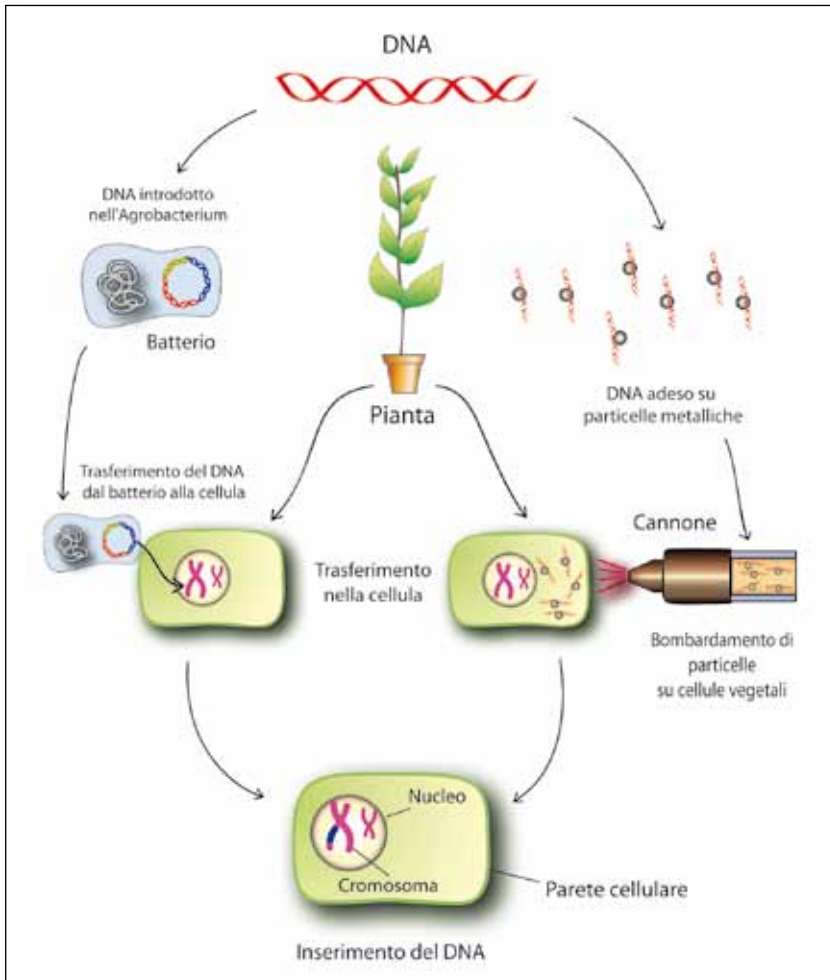


Figura 25 Un gene d'interesse può essere inserito nella cellula vegetale ed integrato stabilmente nei suoi cromosomi sfruttando la capacità naturale di un batterio del suolo di trasferire il DNA contenuto in un plasmide. Alternativamente si possono utilizzare dei microproiettili come vettori per far penetrare il DNA di cui sono ricoperti all'interno delle cellule.

attraverso una serie più o meno lunga e complessa di passaggi in vitro in cui le cellule vengono coltivate su un terreno sintetico (gel d'agar) contenente nutrienti e opportune miscele di ormoni vegetali regolatori della crescita.

Come già per il clonaggio nei batteri, la presenza di un gene marcatore nel DNA che viene trasferito è indispensabile per riconoscere e selezionare le cellule in cui il trasferimento

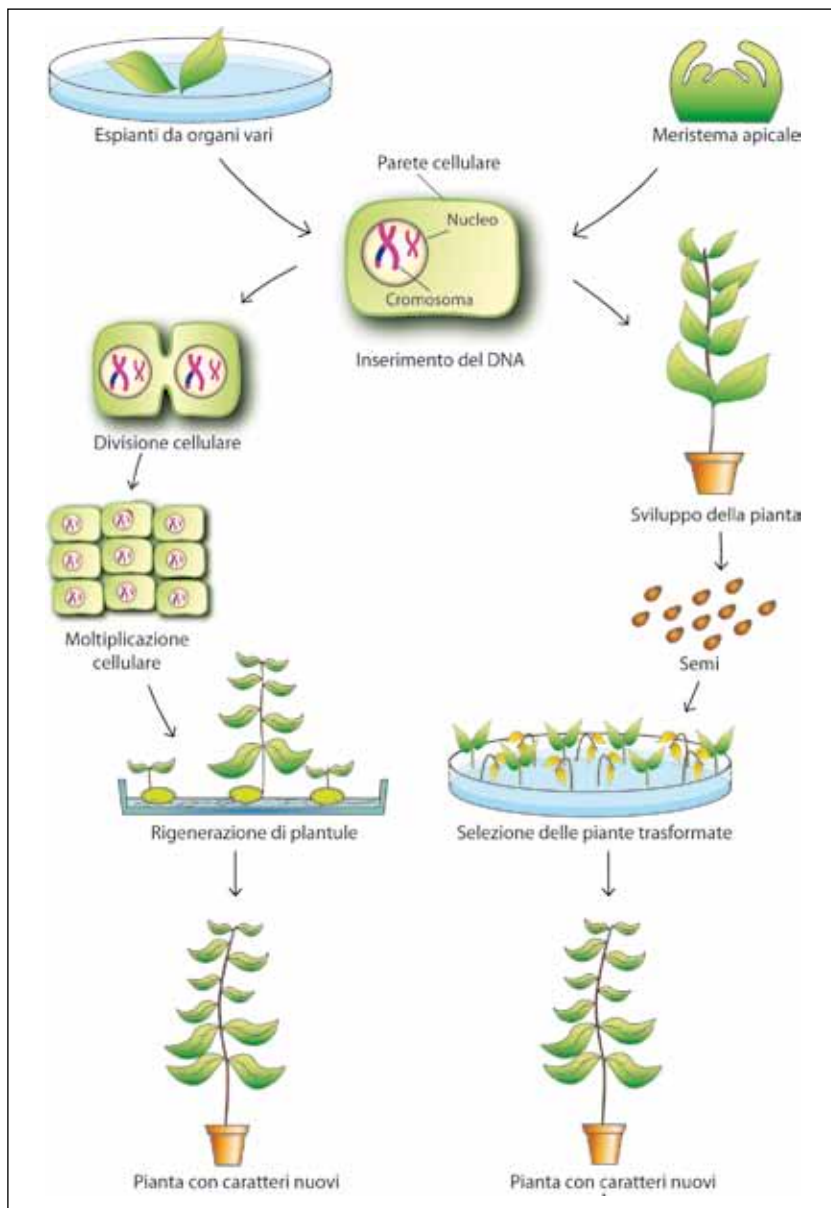


Figura 26 Una volta trasferito il gene d'interesse nella cellula vegetale è possibile ottenere piante geneticamente modificate direttamente, attraverso la produzione di semi, o attraverso una serie di passaggi di coltivazione delle cellule *in vitro*. In entrambi i casi è essenziale disporre di un sistema di selezione che permetta di distinguere le piante geneticamente modificate da quelle normali. Normalmente si utilizza un gene marcatore che permette alle cellule trasformate di sopravvivere nel terreno selettivo.

del nuovo DNA è avvenuto con successo, e in un secondo momento le piante GM ottenute da queste.

Al termine della procedura, tutte le cellule delle piante così ottenute contengono il gene desiderato integrato nel proprio genoma, e queste piante possono essere definite “geneticamente modificate” o GM.

VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA DEL PROCESSO DI MODIFICAZIONE GENETICA

Le attuali tecniche di trasferimento non consentono di prevedere il punto nel genoma in cui si andrà a inserire il nuovo gene, né il numero di copie inserite. Poiché la posizione in cui è inserito nei cromosomi può influenzare l'attività del gene stesso, l'ultimo passaggio della procedura consiste nel verificare se le piante GM ottenute presentano effettivamente le caratteristiche desiderate.

Innanzitutto, il ricercatore deve selezionare l'evento di trasformazione che ha funzionato nel modo migliore. Per esempio, una varietà GM con un gene di resistenza inserito in una certa posizione nel genoma può avere una maggiore capacità di resistere rispetto alla stessa varietà con il gene di resistenza inserito in una posizione diversa.

È necessario quindi controllare che il gene si esprima secondo le attese nelle diverse parti della pianta. Spesso, soprattutto nei prodotti attualmente sul mercato, sono stati utilizzati promotori molto potenti ottenuti dal DNA di alcuni virus vegetali per dirigere l'espressione del gene inserito. Il loro utilizzo ha il vantaggio di consentire una forte espressione genica ma lo svantaggio di mantenere il gene sempre espresso in tutti i tessuti.

Alcuni geni, invece, potrebbero essere fatti esprimere in certe parti della pianta, come foglie o radici, fiori o semi, cioè solo dove è necessaria la presenza della proteina codificata da quel gene. A livello molecolare, infatti, l'espressione dei geni inseriti può essere finemente modulata attraverso la scelta dei promotori giusti, facendoli “accendere” o “spegnere” a seconda delle necessità o di vari stimoli, come alcune variazioni ambientali o l'attacco di patogeni.

Infine, facendo crescere in campo più generazioni di piante, occorre verificare se nelle generazioni successive la sequenza del gene inserito sia stata mantenuta e si esprima in modo stabile, come si fa peraltro anche con le varietà ottenute mediante i classici incroci.

Ogni linea che non si comporta correttamente viene scartata. In questo modo il numero delle nuove linee GM viene drasticamente ridotto finché non si identifica quella che ha le caratteristiche agronomiche desiderate: un candidato per la commercializzazione.

LA VERIFICA DELLA SICUREZZA DEGLI OGM

Fin dall'inizio, lo sviluppo di piante GM è stato accompagnato dalla preoccupazione che la modificazione genetica possa provocare alterazioni impreviste nel funzionamento delle piante, inducendole a produrre sostanze tossiche o in grado di scatenare risposte allergiche.

In realtà, problemi di questo tipo si possono verificare anche nelle varietà prodotte con i metodi tradizionali di incrocio e mutagenesi, tanto che in passato è stato necessario ritirare dal mercato alcune varietà "tradizionali" che presentavano problemi di tossicità.

Forse per la prima volta nel caso di una nuova importante tecnologia, la sicurezza delle piante GM viene invece valutata obbligatoriamente e *prima* dell'immissione sul mercato, non dopo. In media, infatti, lo sviluppo di una nuova varietà GM richiede circa dieci anni: metà per produrla e metà per le sperimentazioni necessarie per richiederne l'autorizzazione alla messa in commercio.

Il settore è attualmente disciplinato dalla Direttiva Comunitaria 18/2001 (rilascio deliberato nell'ambiente), dal Regolamento 1829/2003 (alimenti e mangimi), e dal Regolamento 1830/2003 (tracciabilità ed etichettatura) che regolano la sperimentazione di OGM, il loro rilascio nell'ambiente e la loro eventuale commercializzazione, affrontando in maniera globale l'impatto degli OGM sull'uomo, sugli animali e sull'ambiente.



Figura 27 Varie fasi del processo di verifica delle piante geneticamente modificate. In alto: caricamento di materiale genetico (DNA) su di un gel d'agarosio e osservazione dei frammenti di DNA con luce UV dopo la separazione mediante elettroforesi. Al centro: analisi del DNA di piante GM mediante ibridazione molecolare ed autoradiografia, preparazione di campioni per l'analisi mediante PCR (vedere figura 29). In basso: verifica dei parametri di crescita delle piante transgeniche *in vitro* e in terra.

Prima di iniziare la coltivazione, sperimentale o commerciale, o di immettere sul mercato prodotti OGM è necessario ottenere l'autorizzazione da parte delle autorità nazionali competenti in materia (Direttiva 18/2001; per l'Italia è il Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare) o sottoporli alla valutazione del rischio da parte dell'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (European Food Safety Agency, EFSA) in base al Regolamento 1829/2003. L'EFSA esegue unicamente la valutazione del rischio per gli OGM, mentre l'approvazione, dunque la gestione del rischio, è di competenza degli organismi politici dell'Unione Europea. Durante queste procedure, il pubblico è informato e ha accesso ai dati disponibili ottenuti nella sperimentazione dei prodotti (gmoinfo.jrc.it).

Attualmente le specie autorizzate in Europa per l'importazione e l'uso negli alimenti e nei mangimi sono mais, soia, cotone, colza e barbabietola mentre quelle autorizzate per la coltivazione sono mais, soia e patata (dati aggiornati al primo trimestre del 2010). Per maggiori dettagli sulla normativa e l'elenco aggiornato degli OGM autorizzati per la coltivazione e la commercializzazione nell'Unione Europea si può consultare il sito web dell'EFSA e quello della Commissione Europea.

Che cosa prevedono queste normative?

Chi richiede l'autorizzazione per una nuova varietà transgenica deve innanzitutto presentare una documentazione completa sulla modificazione genetica realizzata, oltre che sulla composizione chimica e le caratteristiche nutrizionali e agronomiche della nuova varietà. I rischi e i benefici per la salute della manipolazione genetica dipendono infatti esclusivamente dalla composizione chimica (profilo dei nutrienti, metaboliti, fattori antinutritivi, etc.) del prodotto risultante e non dalla tecnologia usata per ottenere la modificazione.

Le proteine derivate dalla modificazione genetica vengono analizzate mediante test tossicologici. La procedura è la stessa che viene seguita nel caso di agrofarmaci e altri additivi usati nell'industria alimentare: ci deve essere una ragionevole certezza che non ci sia un



Figura 28 La sede dell'Agenzia Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA) a Parma.

rischio dovuto alla ripetuta esposizione e all'accumulo di sostanze a causa di un'alimentazione che contenga OGM. Inoltre, vengono effettuate analisi per verificare che gli OGM contengano gli stessi componenti, nutrienti e altre molecole delle varietà tradizionali e che non producano composti nocivi per la salute dell'uomo. Infatti, le piante sono in grado di sintetizzare un'ampia varietà di composti per difendersi da insetti, batteri e funghi. Se ingerite in piccole quantità queste molecole non sono pericolose, ma in alcuni casi potrebbero accumularsi raggiungendo livelli inaccettabili. Per verificare l'assenza di modificazioni non previste e la sostanziale equivalenza nella composizione degli alimenti derivanti da piante GM rispetto ai prodotti convenzionali, si possono oggi utilizzare le stesse tecnologie "omiche" largamente impiegate nello sviluppo di nuove varietà GM. Queste tecniche di indagine consentono infatti di compiere un'analisi più completa e oggettiva delle molecole (l'insieme dei geni espressi, proteine e piccoli metaboliti) presenti nella pianta GM nel loro insieme e forniscono una specie di "impronta digitale molecolare" di ciascun prodotto analizzato, permettendo così un confronto più accurato rispetto alla pianta tradizionale di riferimento.

In base alla struttura chimica e a test di laboratorio, si valuta poi se le nuove proteine possono scatenare reazioni allergiche in persone sensibili. In due casi questo si è verificato, e le varietà esaminate non sono mai arrivate sul mercato.

Metodi e risultati vengono poi regolarmente confrontati e aggiornati a livello internazionale.

Secondo la comunità scientifica, questi controlli funzionano: lo dicono gli studi commissionati dall'Unione Europea, la FAO e l'Organizzazione Mondiale della Sanità. In Italia ben 21 società scientifiche che operano nei campi dell'agricoltura, genetica e sicurezza alimentare, e alle quali aderiscono oltre 10.000 ricercatori, hanno dichiarato che gli alimenti derivati da OGM non presentano rischi o effetti a lungo termine diversi da quelli presentati dalle piante convenzionali. Infatti, a 16 anni ormai dall'introduzione delle prime varietà GM, non si è manifestato alcun effetto negativo, né sulla salute dei consumatori né sull'ambiente. Fino a oggi, inoltre, diverse generazioni di animali si sono alimentate con mangimi contenenti mais o soia GM, sempre senza alcun effetto negativo.

Di fatto, il sistema di controlli messo a punto per le varietà OGM ha creato un nuovo standard di sicurezza alimentare, ma questi controlli non sono richiesti per le varietà di piante ottenute con metodi tradizionali.

COME SI IDENTIFICANO GLI OGM

Le stesse tecnologie utilizzate per ottenere le varietà GM ci aiutano anche a capire se una pianta è GM, o se gli ingredienti di origine vegetale contenuti in una preparazione alimentare derivano da piante GM. Infatti, al momento della richiesta dell'autorizzazione alla commercializzazione i produttori sono tenuti a depositare le informazioni relative alle sequenze di DNA che sono state trasferite nel prodotto GM. Per poter lavorare sulle molecole di DNA che compongono il genoma vegetale e verificare se sono presenti delle copie del DNA utilizzato per ottenere la modificazione genetica, i ricercatori devono prima estrarlo dalle cellule nelle quali è

racchiuso. A seconda del tipo di organismo o del materiale con cui hanno a che fare, i ricercatori hanno messo a punto diverse tecniche per rompere le cellule, e per “ripulire” la molecola di DNA dalle proteine con cui è associata.

Nel caso degli alimenti trasformati, che hanno cioè subito trattamenti come per esempio la cottura, il DNA recuperabile è piuttosto scarso e danneggiato dai procedimenti di lavorazione. Per questo motivo occorre utilizzare una tecnica molto sensibile, in grado di distinguere anche una singola molecola specifica all'interno di una grande quantità di molecole di DNA eterogenee. Questa tecnica è chiamata reazione a catena della polimerasi o PCR (*Polymerase Chain Reaction*) e può produrre un numero illimitato di copie del gene di interesse anche a partire da un'unica molecola di DNA.

La DNA polimerasi è un enzima che nella cellula effettua la sintesi del DNA. Partendo dall'estremità di un piccolo filamento di DNA che funziona da “innesco”, e in presenza di un filamento di DNA complementare che fa da “stampo”, la DNA polimerasi è in grado di aggiungere in successione le basi fino a raggiungere l'estremità dello stampo. In effetti, questa tecnica riproduce in laboratorio un processo che si verifica in natura quando le cellule si dividono: separare i due filamenti della doppia elica e ricostruirne una copia identica utilizzando l'enzima DNA polimerasi come copiatrice.

La reazione a catena della polimerasi è un processo ciclico nel quale il numero di copie del DNA bersaglio raddoppia a ogni ciclo portando a una crescita esponenziale del numero di molecole.

Una variante più sofisticata di questa tecnica (detta PCR in tempo reale, RT-PCR, o PCR quantitativa, Q-PCR) permette inoltre di determinare non solo la presenza del DNA proveniente da piante GM ma anche la sua quantità. Utilizzando degli standard di riferimento è possibile infatti valutare la percentuale di materiale GM rispetto a quello convenzionale presente in alimenti o matrici di origine vegetale. Questo dato è importante perché la legislazione europea attuale impone un'etichettatura che indichi la presenza o la derivazione da OGM dei prodotti alimentari e dei mangimi contenenti OGM

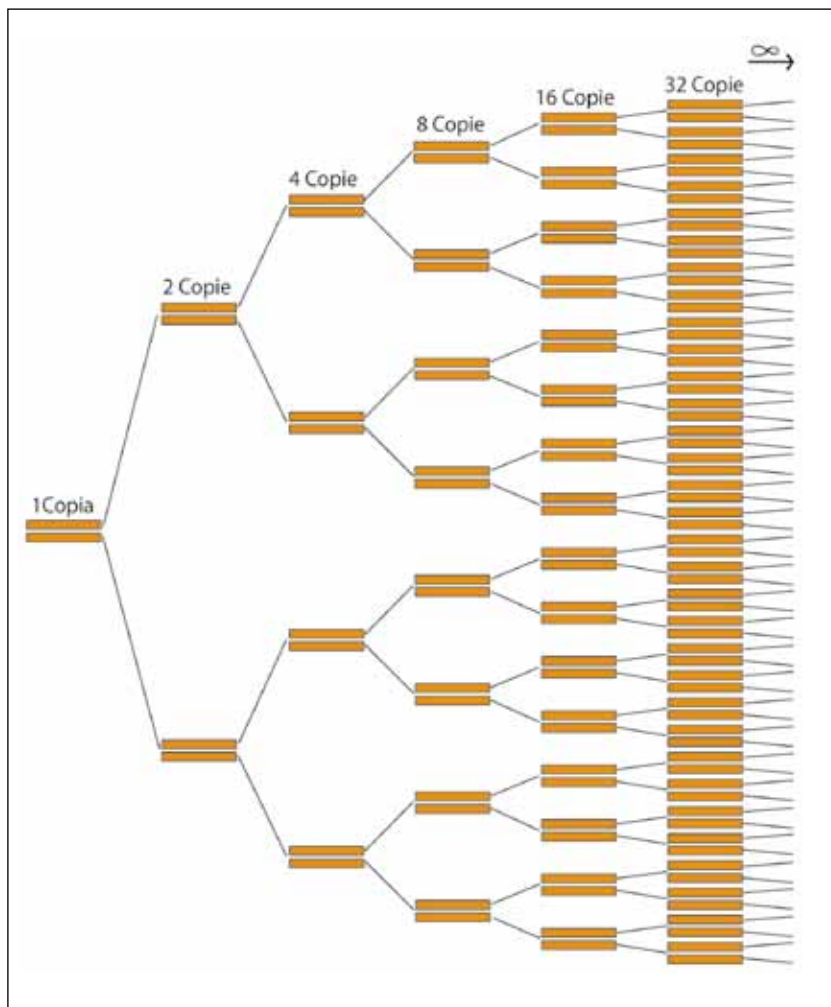


Figura 29 La PCR è un processo ciclico nel quale il numero delle molecole di DNA raddoppia ad ogni ciclo consentendo così di ottenere un gran numero di copie di un DNA bersaglio a partire da una singola molecola.

autorizzati in percentuali superiori allo 0,9% (calcolato su un singolo ingrediente). Questo livello soglia è stato introdotto perché si è tenuto conto della difficoltà di evitare le contaminazioni dei prodotti non GM da parte di quelli GM. Nel caso di OGM già autorizzati in paesi extra-europei ma non in Europa e che hanno però ricevuto esito positivo nella valutazione scientifica del rischio da parte dei Comitati scientifici competenti o dell'EFSA, viene dato come valore soglia

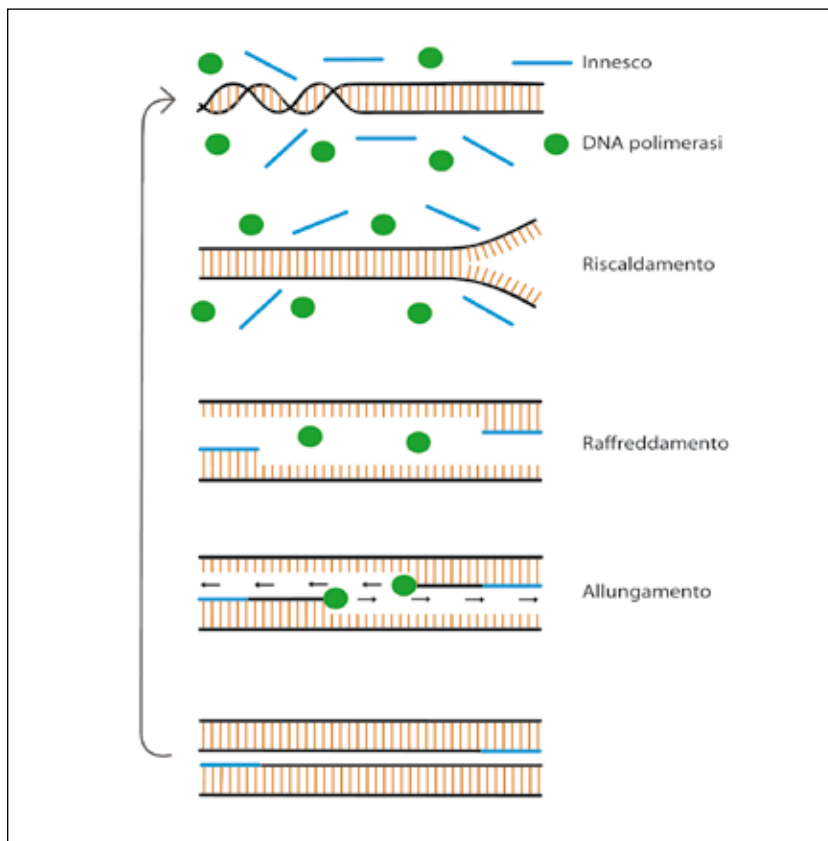


Figura 30 Nella reazione a catena della polimerasi (PCR), i due filamenti del DNA in esame vengono separati mediante riscaldamento e poi raffreddati per consentire il legame ad essi degli inneschi. Le DNA polimerasi possono quindi legarsi, aggiungere nucleotidi agli inneschi, ed allungarli producendo una copia del filamento di DNA stampo. Le copie prodotte vengono quindi sottoposte a questa serie di operazioni ed il processo è ripetuto in maniera ciclica.

lo 0,5%. La presenza di OGM non autorizzati in Europa a concentrazioni uguali o al di sotto di tale soglia è consentita purché la sua presenza possa essere considerata accidentale o tecnicamente inevitabile.

Tale normativa, naturalmente, è solo cautelativa e non offre in realtà alcuna particolare protezione, in quanto le verifiche di sicurezza cui questi prodotti sono sottoposti prima di essere autorizzati fanno escludere la presenza di rischi.

IL FUTURO DEL MIGLIORAMENTO GENETICO DELLE PIANTE

4

DAI GENI AI SEMI

LE NUOVE RICHIESTE ALL'AGRICOLTURA

Nei quasi cento anni che ci separano dalle prime applicazioni in agricoltura della scoperta delle leggi dell'ereditarietà, il miglioramento delle produzioni è stato enorme.

Negli ultimi anni, però, la produzione di alimenti per abitante, su scala globale, è rimasta inalterata. Il miglioramento genetico derivante dalla "Rivoluzione Verde" ha infatti ormai prodotto la maggior parte dei suoi effetti. Nel frattempo la popolazione mondiale continua ad aumentare e le abitudini alimentari dei grandi paesi emergenti, come Brasile, India e Cina, si stanno avvicinando a quelle dei paesi più avanzati. L'aumento dei prezzi delle derrate alimentari riflette quindi il crescente squilibrio fra domanda e offerta di cibo. Secondo la FAO, il nostro pianeta dovrà quindi aumentare la produzione agricola del 30% entro il 2030 e del 50% entro il 2050.

Allo stesso tempo, l'agricoltura deve cercare di ridurre il proprio impatto sugli ambienti naturali. In molte regioni la superficie coltivabile e l'acqua disponibile per l'irrigazione stanno cominciando a diminuire, mentre aumentano gli effetti nocivi generati sull'ambiente dall'uso intensivo di prodotti chimici e di energia, e dall'erosione del suolo favorita dalla meccanizzazione agricola.

Probabilmente nei prossimi decenni assisteremo anche ai primi effetti dei cambiamenti climatici, che richiederanno un grande sforzo di adattamento per non vedere diminuita la produttività agricola e compromessa la disponibilità di cibo sufficiente in alcune regioni.

Oltre alla quantità, andrà poi migliorata anche la qualità del cibo, da una parte per ridurre le carenze alimentari di cui ancora soffrono le popolazioni di molti paesi, dall'altra per arricchire l'alimentazione di sostanze in grado di tutelare la salute.

E a tutto questo si dovrà aggiungere la nuova richiesta di piante da coltivare a scopi non alimentari, come la produzione di energia o di materie prime, ad esempio biocarburanti e bioplastiche.

Si tratta di sfide formidabili alle quali potremo rispondere se saremo capaci di creare nuove varietà, ovvero con un ulteriore miglioramento genetico delle piante.

DALLA PRIMA ALLA SECONDA GENERAZIONE DI PIANTE GM

Il contributo dell'ingegneria genetica allo sviluppo di nuove varietà è probabilmente solo all'inizio.

Il primo paese che ha iniziato la produzione commerciale di piante GM è stata la Cina, all'inizio degli anni Novanta, con un tabacco resistente ai virus. Nel mondo occidentale il primo prodotto GM commercializzato, invece, è stato un pomodoro che mantiene più a lungo il grado di maturazione desiderato, distribuito negli Stati Uniti nel 1994.

A oggi sono stati autorizzati nel mondo 155 prodotti OGM appartenenti a 24 specie, molti dei quali sono già coltivati in varie parti del mondo e ammessi al consumo per l'uomo e/o per gli animali d'allevamento. La soia è attualmente la specie di maggior successo (77% della soia coltivata è costituita da varietà GM e rappresenta il 52% di tutte le coltivazioni GM), seguita da cotone (49%, 12%), mais (26%, 31%) e colza (21%, 5%). Varietà di riso GM sono in corso di sperimentazione in Cina e potrebbero arrivare sul mercato nei prossimi 2-3 anni. Inoltre, dal momento che l'analisi dei genomi è diventata più facile ed economica, sono in corso dei progetti per il miglioramento di specie coltivate nei paesi in via di sviluppo come la cassava, il miglio e il sorgo, che erano state finora trascurate.

Nel 2009 la superficie coltivata con varietà GM ha raggiunto i 134 milioni di ettari suddivisi fra 25 paesi. Nel 2009 i principali coltivatori di varietà GM (con più di 1 milione di ettari) sono stati gli USA (che da soli detengono circa il 50% della superficie coltivata con OGM), il Brasile, l'Argentina, l'India, il Canada, la Cina, il Paraguay e il Sud Africa. È interessante notare che il numero dei paesi in via di sviluppo che coltivano piante GM ha superato quello dei paesi industrializzati (rispettivamente 16 e 9) e che il 46% della superficie coltivata con OGM si trova in questi paesi.

La diffusione degli OGM è stata invece molto più modesta nell'Unione Europea, dove molti paesi, tra cui l'Italia, ne hanno limitato la coltivazione con leggi nazionali nonostante la coltivazione degli OGM autorizzati sia legalmente possibile in tutti gli stati membri. È infatti responsabilità dei singoli stati membri formulare linee guida per la coltivazione delle piante GM che tengano in considerazione il problema della coesistenza tra le colture tradizionali e quelle geneticamente modificate. Il solo paese europeo che coltiva quantità significative di piante GM è la Spagna (circa 100.000 ettari, pari al 22% della produzione totale di mais) e l'unico prodotto coltivato è il mais Bt resistente alle larve di un insetto, la piralide. Nel 2009 varietà GM sono state coltivate in 6 paesi dell'UE (Spagna, Repubblica Ceca, Portogallo, Romania, Polonia e Slovacchia).

Fra le ragioni di questo minore successo in Europa c'è il fatto che in questa prima generazione di OGM i benefici, anziché per i cittadini, sono stati quasi soltanto per gli agricoltori e per l'ambiente. La quasi totalità delle piante giunte alla fase di commercializzazione e coltivate presenta infatti modificazioni in due soli caratteri: la resistenza a erbicidi e quella ad agenti patogeni come insetti e virus. Ciò ha permesso di ridurre l'uso di agrofarmaci, di proteggere meglio gli insetti innocui, di ridurre l'aratura dei campi e quindi l'erosione dei suoli, di ridurre i consumi di energia e aumentare le rese.

Questa limitazione a due soli caratteri dipende da motivi tecnici, oltre che dall'interesse che essi hanno dal punto di vista della produttività agricola. Infatti, mentre è relativamente facile far acquisire la tolleranza agli erbicidi o la resistenza a certi patogeni attraverso il trasferimento di singoli geni, modificare i caratteri quantitativi, come la statura, o quelli che influenzano la risposta all'ambiente, come la capacità di resistere agli stress termici, idrici e salini, è molto più complesso perché questi possono dipendere da geni multipli la cui funzione è strettamente interconnessa al metabolismo generale della pianta.

La prossima generazione di varietà biotecnologiche, attualmente in fase di sviluppo in laboratori privati e pubblici di



Figura 31 Effetto dell'attacco alla spiga da parte della piralide, il principale parassita del mais. Per mantenere sotto controllo questo lepidottero, da più di 40 anni viene utilizzata come pesticida naturale una proteina prodotta da un batterio del terreno (*Bacillus thuringiensis*, abbreviato Bt). La proteina Bt è tossica per le larve della piralide ma innocua per l'uomo, per gli animali e molte specie di insetti. Da un punto di vista ecologico la proteina Bt è un insetticida ideale perché nel terreno si trasforma rapidamente in sostanze innocue. La sua efficacia quando spruzzata sulla pianta è però limitata dal fatto che la piralide, una volta insediata nel fusto della pianta ne è protetta dall'effetto tossico. Per questo si è pensato di trasferire il gene *Bt* nella pianta in modo da far produrre la proteina Bt direttamente da ogni cellula. La pianta modificata geneticamente con il gene *Bt* è quindi in grado di difendersi da sola, eliminando così la necessità di trattare le colture con insetticidi.

molti paesi, prevede però di unire i benefici per i produttori con quelli per i consumatori.

Negli OGM di seconda generazione si cercherà quindi di agire sulla regolazione di intere vie metaboliche, in modo tale da migliorare tratti quantitativi come la resa, l'efficienza nell'utilizzo dell'azoto e dell'acqua, o la resistenza agli stress fisici, oppure si inseriranno geni capaci di migliorare il contenuto nutrizionale delle piante.

PIANTE MEGLIO ADATTATE ALL'AMBIENTE E PIÙ PRODUTTIVE

Parte dei miglioramenti creati dalla Rivoluzione Verde sono dovuti al fatto che l'ambiente viene adattato alle esigenze

delle piante. Viene migliorata la fertilità del suolo con i fertilizzanti. Le erbe infestanti, che competono con i raccolti per i nutrienti, l'acqua e la luce del sole, vengono controllate con gli erbicidi o la lavorazione del terreno. Insetti, funghi e virus, che possono essere responsabili della perdita anche di interi raccolti, sono invece controllati con agrofarmaci. La resa delle piante è quindi aumentata in assoluto, ma non rispetto alla quantità e qualità degli input di sostanze chimiche e di energia.

Quello che si cerca oggi di fare è invece di migliorare l'adattamento delle varietà coltivate all'ambiente rendendole meglio attrezzate a procurarsi da sole i nutrienti e difendersi dai parassiti, ma anche per resistere al caldo o al freddo, alla scarsità d'acqua o a suoli salinizzati. Lo scopo è quello di portare le rese verso quelle tipiche dei luoghi ottimali anche nelle terre oggi marginali. Al sogno dell'agricoltura sostenibile di coltivare la terra con l'aiuto di minori input esterni ci si avvicinerà progressivamente proprio attraverso questo tipo di miglioramento genetico.

Se alla diminuzione dell'uso di agrofarmaci ed erbicidi si è già arrivati con la prima generazione di OGM, all'adattamento delle piante agli stress fisici (che coinvolge più geni) si sta giungendo con gli OGM della seconda generazione, con il rinnovamento dei metodi classici o con combinazioni delle due strade. Molti geni coinvolti nella risposta agli stress sono già stati identificati: si tratta di sequenze di DNA che permettono la sintesi di antiossidanti, di enzimi che modificano i lipidi della membrana cellulare, di sostanze che proteggono le foglie dalla disidratazione, di proteine che mantengono l'equilibrio ionico, di proteine indotte da shock termico, di fattori di trascrizione che regolano vie metaboliche implicate nell'adattamento della pianta agli stress.

Alcune sequenze geniche sono già state utilizzate. Molte piante capaci di crescere in presenza di forti concentrazioni di sali possiedono livelli naturalmente alti di una sostanza, la glicinetaina, e la capacità di aumentarne la produzione è già stata trasferita a una varietà di pomodori. Un altro sistema, basato su una proteina capace di far immagazzinare



Figura 32 Effetto di condizioni ambientali avverse, come la siccità (in alto) o l'eccessiva inondazione (in basso), che determinano forti perdite nella resa delle coltivazioni.

il sodio in eccesso in un compartimento cellulare in cui non può danneggiare la cellula è invece di applicazione commerciale più lontana.

C'è uno stretto intreccio fra adattamento all'ambiente e produttività, perché una pianta stressata – non importa se da fattori biologici o fisici – è una pianta che non produce quanto

potrebbe. Creare una varietà meglio adattata all'ambiente è inoltre più rapido rispetto ad altri tipi di miglioramento genetico che potrebbero avere lo stesso effetto, come ad esempio una migliore utilizzazione del suolo attraverso le radici o una diversa architettura della pianta stessa, per concentrare le risorse disponibili nella parte commestibile della pianta, a discapito di altre.

PIANTE CHE CURANO

L'affinamento delle tecniche di analisi e l'utilizzo di metodi di indagine simili a quelli usati per lo studio di nuovi farmaci stanno rivelando che, in aggiunta ai nutrienti "classici" e alle vitamine, un buon numero di molecole tipiche del metabolismo secondario delle piante, come alcuni carotenoidi, flavonoidi, fitoestrogeni e polifenoli, possono svolgere un ruolo protettivo nei confronti dell'organismo umano.

Un buon numero di modificazioni genetiche indirizzate a migliorare la qualità degli alimenti e la salute dell'uomo riguardano quindi il potenziamento del contenuto e della biodisponibilità di micronutrienti. Gli esempi non mancano. In colture come il mais o la soia si può modificare il contenuto e la composizione in trigliceridi degli oli, per contribuire a prevenire le malattie cardiovascolari, il diabete, l'obesità e alcune forme di cancro. Per le malattie cardiovascolari e alcune forme di cancro possono essere utili alcuni composti antiossidanti, come il licopene dei pomodori. Grano privo di alcune frazioni del glutine può aiutare i celiaci ad allargare la propria dieta, mentre in diversi alimenti si possono eliminare sostanze tossiche, allergeniche o antinutrienti.

L'inserimento nella dieta di alimenti arricchiti potrebbe costituire un'efficace alternativa alla supplementazione e alla fortificazione. Molti studi stanno infatti rivelando come sia difficile riprodurre gli effetti positivi di un determinato alimento o di una particolare dieta utilizzando come integratori alimentari componenti purificati o di sintesi. Con tutta probabilità è solo la combinazione di varie molecole nella matrice alimentare che è in grado di determinare l'effetto positivo sulla salute.

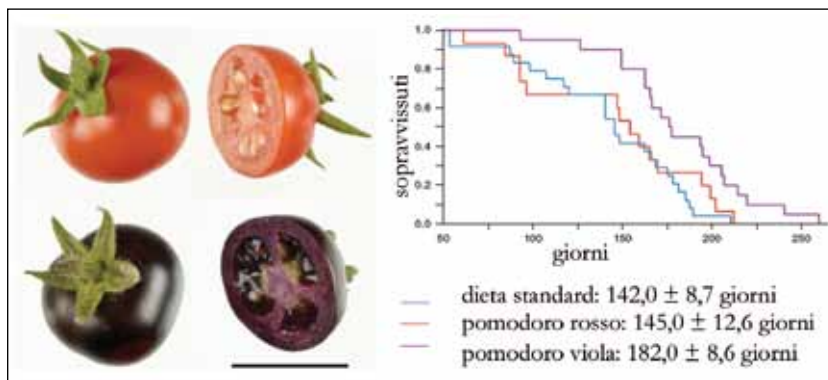


Figura 33 Le antocianine sono una classe di pigmenti con potenziali effetti benefici per la salute dell'uomo. Un accumulo di queste molecole nel frutto di pomodoro, che determina una caratteristica colorazione viola analoga a quella della buccia della melanzana è stato ottenuto mediante il trasferimento di due geni che ne controllano la sintesi (a sinistra). E' stato dimostrato che il consumo del pomodoro "viola" nella dieta da parte di topolini geneticamente più suscettibili a sviluppare tumori è in grado di prolungarne la vita media (a destra). Barra = 2 cm (da Butelli *et al.* Nature Biotechnology 2008, 26:1301-1308).

Per modificare il contenuto di un solo composto occorre spesso trasferire molti geni che codificano per le attività enzimatiche necessarie per la sua sintesi. Spesso, però, le proteine che partecipano a una via biosintetica vengono prodotte in maniera coordinata grazie a un unico fattore in grado di regolare la trascrizione dei diversi geni coinvolti, fattore la cui sintesi può essere modificata. Questo approccio è stato applicato con successo nel pomodoro, dove si è ottenuto l'aumento della produzione sia di carotenoidi che di flavonoidi attraverso l'eliminazione dell'attività di un fattore di trascrizione mediante l'interferenza dell'RNA guidata da un promotore specifico per il frutto. È interessante notare che questa modificazione utilizza sequenze di DNA della stessa pianta, non determina la produzione di alcuna proteina estranea e riproduce l'effetto di una mutazione naturale dello stesso fattore regolativo eliminandone però gli effetti negativi. Infatti, mentre la perdita di attività del fattore regolativo

in tutta la pianta causa un severo rallentamento nello sviluppo e nella crescita del mutante naturale, l'intervento biotecnologico fatto attraverso l'uso di un promotore specifico per il frutto consente di limitare gli effetti alla sola parte della pianta destinata al consumo.

La possibilità di istruire la pianta a sintetizzare e accumulare un determinato composto senza interferire con altri processi dipende strettamente dall'approfondimento della nostra conoscenza di base della fisiologia, della biochimica e del patrimonio genetico vegetale. Sono quindi in corso studi di genomica nutrizionale su organismi vegetali per identificare le vie metaboliche e i geni corrispondenti coinvolti nella sintesi di nutrienti, per caratterizzare i regolatori ambientali che influenzano la composizione nutrizionale degli alimenti e per sviluppare strumenti molecolari che consentano l'incremento di nutrienti e la riduzione di sostanze tossiche o allergeni.

Un aspetto importante per assicurare l'adozione delle varietà biofortificate da parte dei coltivatori sarà infine il trasferimento dei tratti modificati in varietà ad alta resa e l'adattamento al sistema agro-alimentare locale attraverso programmi di incrocio e selezione classici.

PIANTE PIÙ NUTRIENTI

Nei paesi in via di sviluppo, invece, gli alimenti fortificati possono essere usati per combattere specifiche carenze nutrizionali.

L'esempio più famoso è quello del *Golden rice*, il riso dai chicchi dorati per la presenza di carotenoidi. Questi ultimi sono pigmenti di colore giallo-arancio sintetizzati in tutte le parti verdi della pianta e accumulati particolarmente nei frutti maturi. I carotenoidi sono i precursori della vitamina A, necessaria per il corretto sviluppo e la crescita degli animali e dell'uomo. Il riso, pur sintetizzando carotenoidi nelle foglie, non è in grado di trasferirli nel frutto, cioè nel chicco, che è la parte utilizzata per l'alimentazione umana. Con un approccio anche tecnicamente molto brillante i ricercatori del Politecnico federale di

Zurigo guidati dal Prof. Ingo Potrykus e dell'Università di Friburgo guidati dal Prof. Peter Beyer sono riusciti, trasferendo 3 geni - due di origine vegetale e uno batterico - a far esprimere anche nel chicco di riso tutte le proteine necessarie per effettuare la catena di reazioni che trasforma le molecole incolori precursori dei carotenoidi nel beta-carotene.

La possibilità di ottenere l'accumulo di carotenoidi in un organo che ne è normalmente privo ha suscitato delle concrete speranze di poter alleviare le gravi conseguenze della carenza di vitamina A. Questa è estremamente diffusa, oltre che in Africa e in America Latina, fra le popolazioni più povere del Sud-Est Asiatico per le quali il riso rappresenta l'alimento principale. La FAO ha stimato che circa 120 milioni di bambini soffrono di carenza di vitamina A. Un miglioramento dell'alimentazione di queste popolazioni potrebbe salvarne dalla morte 1-2 milioni l'anno e potrebbe prevenire 500.000 casi l'anno di cecità permanente. Numerose sperimentazioni sono state effettuate per passare dalla dimostrazione iniziale allo sviluppo di varietà adatte ai diversi contesti locali e in



Figura 34 I carotenoidi sono una classe di molecole colorate che conferiscono il colore giallo-arancio ai frutti maturi e alle foglie cadenti.



Figura 35 L'accumulo di carotenoidi determina il colore dorato dei chicchi di riso arricchiti in provitamina A (a sinistra il riso non modificato, al centro il "Golden rice", a destra il "Golden rice 2"). Fonte: goldenrice.org.

grado di fornire un'apporto di provitamina A sufficiente per raggiungere le dosi giornaliere raccomandate (*Golden rice 2*). Anche se è difficile prevedere quale contributo il *Golden rice* e le varietà da esso derivate potranno realmente dare al grave problema della malnutrizione, - perché non è ancora coltivato - questo prodotto illustra molto bene il potenziale delle biotecnologie applicate a fini umanitari. Infatti, il passaggio del *Golden rice 2* dal laboratorio al campo è promosso da una fondazione appositamente costituita che ne assicurerà la distribuzione gratuita a tutti i piccoli coltivatori. Inoltre, poiché nelle popolazioni la cui dieta è basata quasi esclusivamente sul riso sono molto diffuse anche altre gravi patologie legate alla malnutrizione e l'assorbimento e l'efficacia di varie vitamine e minerali dipende dalla sinergia tra questi nutrienti, è in corso di studio la biofortificazione del *Golden rice 2* con proteine ad alto valore nutritivo, vitamina E ed elementi come ferro e zinco.

Un'altra importante carenza nutrizionale che colpisce ampie fasce di popolazione sia nei paesi in via di sviluppo che nel mondo occidentale è quella di acido folico, una vitamina del gruppo B la cui mancanza provoca seri problemi di salute, come l'anemia megaloblastica e la spina bifida. Sebbene non sia stato ancora dimostrato un legame causale, la carenza di acido folico è stata anche associata a un maggiore rischio di malattie neurodegenerative come l'Alzheimer, malattie

cardiovascolari e allo sviluppo di tumori. Gli alimenti di origine vegetale costituiscono la principale fonte di questa vitamina, ma la sua quantità, soprattutto nelle diete povere basate su cereali come il riso, è spesso insufficiente per raggiungere le dosi giornaliere raccomandate. La conoscenza delle reazioni e dei geni coinvolti nella biosintesi di questa vitamina ha permesso di sperimentare diversi interventi di ingegneria metabolica per aumentare il contenuto di acido folico nelle piante. Nelle prime prove di fattibilità, è stato ottenuto sia nel riso, una pianta monocotiledone, che nel pomodoro, una dicotiledone, un aumento dell'accumulo di acido folico superiore a quello necessario a soddisfare la dose giornaliera raccomandata con una porzione standard trasferendo simultaneamente i due geni necessari per la sintesi dei precursori della vitamina.

CONSERVAZIONE DI VARIETÀ TRADIZIONALI

Uno dei pregiudizi che circondano gli OGM è quello secondo cui questi prodotti siano necessariamente “nemici” della biodiversità e delle produzioni tradizionali locali. In realtà, l'ingegneria genetica può essere al contrario l'unico metodo per salvare varietà in via di estinzione, compresi molti dei nostri prodotti tipici.

Quasi tutti i frutti e gli ortaggi che oggi tanto apprezziamo e che costituiscono la base della dieta mediterranea e del mangiare bene italiano non sono infatti stati selezionati dai contadini nel corso dei secoli, come molti immaginano, ma sono il frutto dei miglioramenti genetici effettuati a partire dagli anni Venti del secolo scorso. Incrociando varietà di diversa provenienza e studiandone la discendenza grazie alla conoscenza delle leggi dell'ereditarietà, i genetisti sono riusciti a riunire più caratteristiche desiderate in una sola varietà, più adatta anche alle condizioni locali.

Ma le varietà di ortaggi e frutta vengono in genere coltivate solo per alcune decine di anni, fino a quando i parassiti non hanno imparato ad aggirarne le difese. Il pomodoro San Marzano, ad esempio, è diventato sensibilissimo a un virus.

Il riso Carnaroli e la cipolla rossa di Tropea ad alcuni funghi. La melanzana riminese a un insetto. La mela della Val d'Aosta alle larve di un maggiolino. I campi ne producono quindi meno, e il loro prezzo cresce. Così, molti prodotti tipici devono lasciare il posto ad altre varietà perché coltivarli conviene sempre meno, e con loro rischia di andarsene anche un pezzo della nostra cucina, oltre che un po' della competitività della nostra agricoltura.

Il problema è che è difficile aiutare i prodotti tradizionali, perché il segreto è proprio lo speciale assortimento di geni che vi si trova riunito, e spesso queste conoscenze non sono disponibili.

La tecnica classica consiste nell'incrociare la varietà minacciata con un'altra varietà che possiede il gene protettore, ottenendo un ibrido. Reincrociando più volte quest'ultimo con la varietà minacciata si cerca di ottenere una varietà con il gene protettore e il più possibile simile alla varietà tipica di partenza. Ma è molto difficile ricostituire esattamente *quell'*assortimento di geni. Oppure si espone la pianta ad agenti mutageni capaci di alterarne il DNA, sperando che un



Figura 36 Una pianta di pomodoro attaccata da un virus.

gene acquisti la capacità di proteggerla. Ma in questo modo possono mutare anche molti altri geni. In altre parole, in tutti questi casi la nuova pianta non sarà più quella originale, quella che si voleva salvare.

L'ingegneria genetica consente invece di aggiungere alla pianta il gene che le serve senza toccare gli altri: un "cura" del suo difetto, insomma, molto più rapida, precisa e quindi sicura.

Questa "via italiana" alle biotecnologie viene oggi seguita da alcuni ricercatori, che non lavorano per grandi multinazionali ma per università ed enti pubblici di ricerca. Le tecniche fino ad oggi sviluppate consentono di rendere gli albicocchi e i peschi resistenti ai virus, il riso e le cipolle resistenti a funghi, le viti e le patate resistenti a insetti, ma hanno consentito di ottenere anche piante di lampone e fragolina con più frutti e melanzane senza semi che crescono bene anche d'inverno.

LE BIOTECNOLOGIE POTENZIANO I METODI CLASSICI

La creazione di piante GM non è l'unico contributo della biologia molecolare al miglioramento genetico delle piante. I maggiori cambiamenti sono attesi dal sequenziamento dei genomi vegetali e dallo sviluppo di nuove tecnologie da utilizzare in programmi di miglioramento genetico. Per esempio, l'analisi a livello genetico e molecolare dei meccanismi di difesa contro gli insetti e i patogeni sta progredendo molto rapidamente nelle piante modello. Il confronto delle sequenze genomiche delle specie coltivate e quelle modello che appartengono alle stesse famiglie botaniche sta rivelando un grado molto alto di conservazione nella struttura del genoma. Questo vuol dire che geni omologhi sono posizionati nello stesso ordine sui cromosomi di specie differenti, come ad esempio – fra le solanacee – nel pomodoro, nella patata e nella melanzana. Questo fatto permetterà quindi di trasferire molto più facilmente le informazioni acquisite su una specie modello (il pomodoro, nel caso delle solanacee) alle altre piante coltivate della stessa famiglia.

Le conoscenze derivanti dallo studio dei genomi vegetali permettono dunque di affrontare in modo più efficace anche il

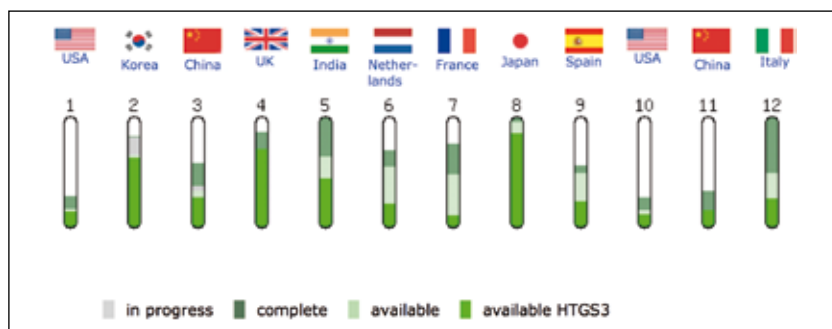


Figura 37 Schema del sequenziamento del genoma del pomodoro. La sequenza del genoma sarà presto disponibile grazie al lavoro di un consorzio internazionale. L'Italia, che partecipa al progetto grazie ad un finanziamento del MIPAF, sta lavorando al sequenziamento del cromosoma 12 (solgenomics.net/about/tomato_sequencing.pl)

miglioramento delle varietà con i metodi classici, poiché permettono di identificare la comparsa o la trasmissione dei caratteri desiderati anche in modo indiretto, senza dover attendere di scoprirne la presenza nelle piante coltivate in campo.

Un metodo è l'uso di marcatori molecolari (*Marker Assisted Selection*, MAS) per controllare nella discendenza la presenza di un carattere desiderato (come la resistenza alla siccità, la capacità produttiva, la resistenza a una malattia o un migliore contenuto in nutrienti) in modo indiretto, attraverso impronte molecolari di tipo genetico o biochimico. Questo metodo appare oggi particolarmente promettente per superare le limitazioni tecniche dell'ingegneria genetica, che non consente la modificazione di caratteri controllati da molti geni, oltre che per sopperire all'ancora scarsa conoscenza delle basi molecolari dei caratteri quantitativi.

Molto interessante appare anche una tecnologia di genetica inversa sviluppata di recente e denominata TILLING (*Targeting Induced Local Lesions IN Genomes*). Essa permette di identificare gli alleli di uno specifico gene all'interno di una popolazione nella quale sono state indotte mutazioni in maniera tradizionale attraverso l'analisi molecolare invece che fenotipica, cioè senza attendere che il carattere si manifesti a livello visibile magari nelle piante adulte o alla fioritura.

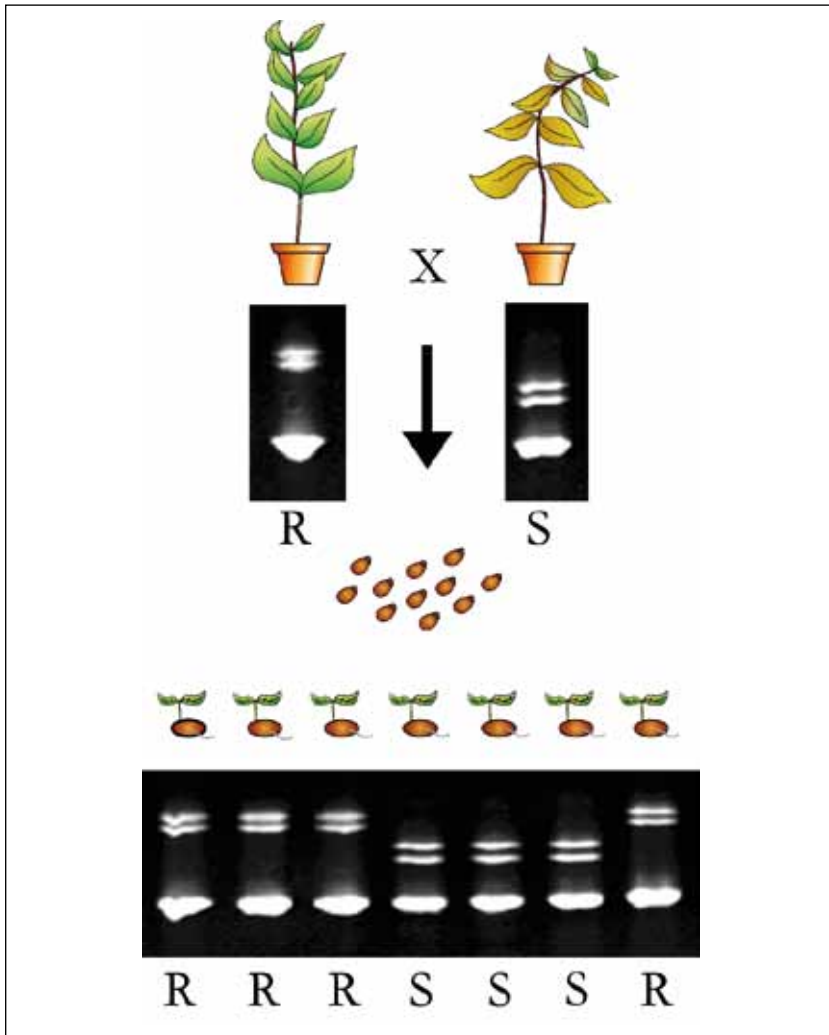


Figura 38 L'uso dei marcatori molecolari permette di identificare tra la progenie di un incrocio gli individui portatori di un carattere desiderato (ad esempio la resistenza ad un patogeno o la tolleranza alla siccità) prima che questo si manifesti nella pianta adulta. Per l'identificazione del tratto genetico di interesse il DNA genomico delle piantine della progenie ottenuta dall'incrocio delle linee parentali viene analizzato mediante elettroforesi su gel e confrontato con il DNA dei genitori. R = resistente, S = sensibile.

Questa strategia offre diversi vantaggi in quanto può essere applicata a tutte le specie, indipendentemente dalla dimensione del genoma e dalla capacità di essere trasformate, e permette di ottenere varietà non OGM e quindi più facilmente accettabili dall'opinione pubblica. Il TILLING é già stato utilizzato con successo per ottenere una nuova varietà di frumento che produce un amido con delle caratteristiche particolari e sono in corso progetti per la sua applicazione a molte altre specie di cereali, ortaggi e frutta.

Una variante di questo metodo, definita ECOTILLING, permette di identificare differenze nella sequenza di DNA di uno specifico gene (polimorfismi) tra individui diversi all'interno di una popolazione naturale o tra diverse varietà già utilizzate in agricoltura, fornendo così un potente strumento molecolare per l'isolamento di varianti naturali di caratteri agronomici utili.

Non sempre, infine, è necessario trasferire nella pianta un nuovo gene per ottenere una data caratteristica. In alcuni casi può rivelarsi più utile spegnere un gene che determina una funzione indesiderata che è già presente nella pianta. Esistono infatti metodi che permettono di interrompere il trasferimento dell'informazione di uno specifico gene facendo esprimere nelle cellule vegetali la sequenza di quel gene, o parte di essa, in orientamento contrario. In questo modo è possibile ottenere una riduzione o addirittura l'abolizione dell'espressione del gene creando di fatto un mutante nel gene specifico. Questo fenomeno è chiamato interferenza dell'RNA.

Il confine fra tecniche "tradizionali" e tecniche di ingegneria genetica non è dunque netto, né fisso, e tutte saranno necessarie per affrontare le prossime sfide dell'agricoltura.

CONCLUSIONI

DAI GENI AI SEMI

IL PROBLEMA NON SONO I METODI MA LE CONOSCENZE

Fin quasi dall'inizio, l'ingegneria genetica applicata al miglioramento delle piante coltivate è stata oggetto in alcuni paesi di timori speciali. Come abbiamo invece visto in queste pagine, con le nuove tecniche i genetisti non hanno fatto altro che continuare lungo una strada – quella del miglioramento genetico delle piante di cui ci nutriamo – iniziata molto tempo fa.

Il nostro racconto potrebbe tuttavia far pensare che esista un percorso di ineluttabile progresso dalla selezione che operavano i nostri antenati all'incrocio, alla mutagenesi e infine all'ingegneria genetica, in cui le nuove tecniche sostituiscono le precedenti. Ma le cose non stanno così. L'ingegneria genetica non è l'unico modo con cui le moderne biotecnologie possono contribuire al miglioramento genetico delle piante, e i metodi "classici" di incrocio, mutagenesi e selezione sviluppati nel corso del Novecento non vanno in soffitta. Anzi, proprio con l'aiuto di tecniche di biologia molecolare, essi stanno diventando più precisi e soprattutto più rapidi: una nuova stagione che qualcuno ha chiamato dello "smart breeding".

Di fatto, tutti questi metodi non hanno fatto altro che aggiungersi l'uno all'altro, integrandosi e migliorandosi a vicenda. E non è neppure detto che saranno i più recenti a fare più strada.

Tanta attenzione ai metodi usati, anziché ai risultati, è tuttavia anche fuorviante. Il vero limite a ciò che potremo ottenere è infatti costituito dalle nostre conoscenze sulle piante. Le scienze "omiche" ci aiutano a identificare sequenze geniche associate a caratteristiche desiderate, ma la nostra comprensione delle complesse reti di interazioni che hanno luogo all'interno delle piante in campo è ancora molto limitata. Abbiamo appena iniziato a esplorare gli intricati meccanismi che a partire da particolari sequenze di DNA e condizioni ambientali rendono possibile quello che avviene ogni giorno in natura, compresa la comparsa delle caratteristiche che ci

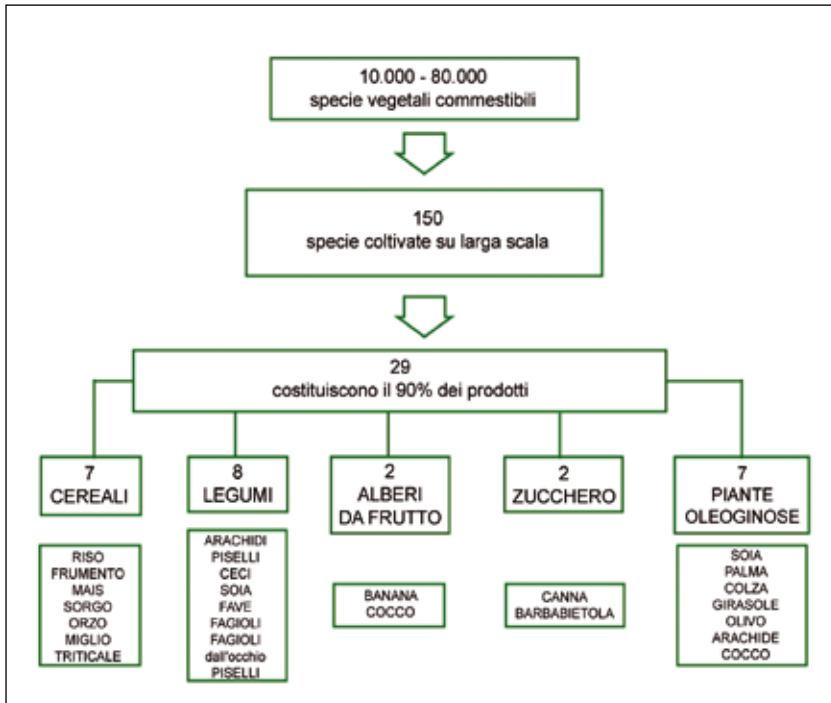


Figura 39 Schema che rappresenta le specie commestibili del nostro pianeta e quelle maggiormente coltivate. Solo un numero ristretto (meno dell'1%) sono attualmente coltivate su larga scala.

interessano. Altrettanto limitata è dunque la nostra capacità di scegliere quali geni trasformare, trasferire o regolare per ottenere i risultati che ci stanno a cuore. Qualunque sia il metodo utilizzato. È difficile infatti migliorare qualcosa di cui non si comprende il funzionamento. Allo stesso tempo, non bisogna neppure aspettare di aver capito tutto prima di tentare un miglioramento genetico, perché tra il fare e il capire c'è un interscambio e uno sviluppo continuo di conoscenze e di tecniche. Proprio come è sempre avvenuto in qualsiasi campo della scienza e della tecnologia.

Fra le conoscenze rese possibili dallo sviluppo delle nuove tecniche della biologia molecolare ci sono anche quelle relative ai segreti – genetici naturalmente – di quella ormai lontana prima domesticazione delle piante alle quali dobbiamo la nostra attuale sopravvivenza. Che sono poche, pochissime.

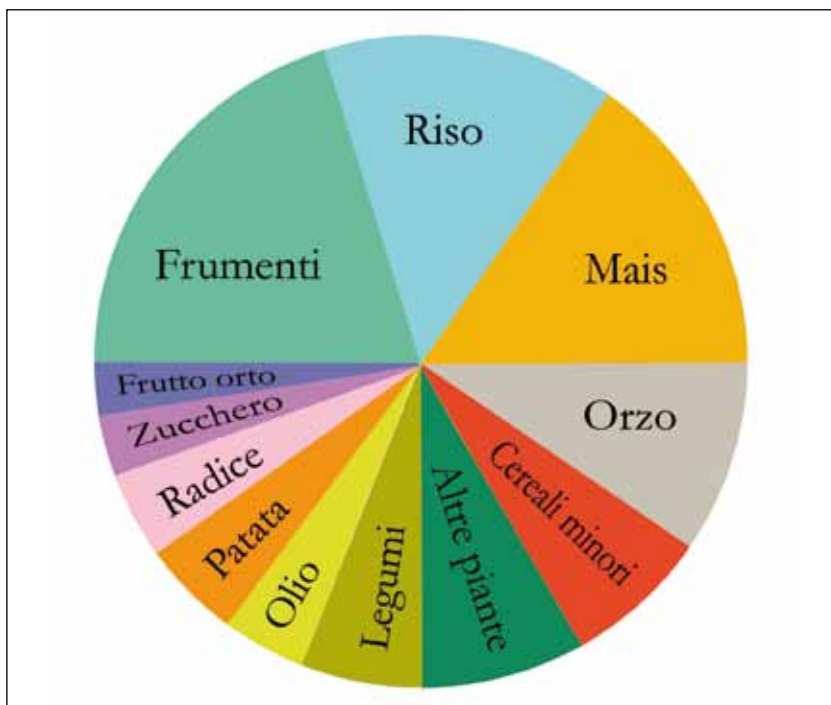


Figura 40 Diagramma che rappresenta la produzione delle principali specie coltivate. Circa il 50% della produzione agricola mondiale é costituita da tre cereali, frumento, riso e mais.

Fra le decine di migliaia di piante commestibili, solo 150 sono oggi coltivate su larga scala, e appena 29 di esse rappresentano il 90% dei prodotti alimentari.

Grazie a queste conoscenze potremmo forse ricominciare l'avventura della domesticazione con altre specie. Per mangiare tutti, per mangiare meglio, per mangiare senza chiedere troppo al pianeta che ci sostiene tutti.

Per fortuna, grazie alla ricerca, il futuro è sempre aperto.

GLOSSARIO

DAI GENI AI SEMI

Acidi nucleici: le molecole che portano le informazioni genetiche in tutti gli organismi viventi (DNA ed RNA).

Alimento GM: cibo derivato interamente od in parte da varietà GM.

Allele: una delle forme alternative di un gene che possono esistere in un dato sito dei cromosomi.

Aminoacidi: le 20 molecole che costituiscono le proteine.

Base azotata: la parte variabile dei nucleotidi che compongono gli acidi nucleici. Sono 5: Adenina (A), Citosina (C), Guanina (G), Timina (T) e Uracile (U)(che nell'RNA sostituisce la Timina).

Biodiversità: la varietà di flora e fauna nell'ambiente naturale.

Biofortificazione: la produzione di alimenti arricchiti in micronutrienti.

Bioinformatica: l'uso di banche dati e di risorse informatiche per l'archiviazione e l'analisi di dati su larga scala.

Codice genetico: stabilisce la corrispondenza tra ciascuna delle 64 triplette di basi possibili ed i 20 aminoacidi.

Codone: tripletta di nucleotidi che rappresenta un aminoacido o un segnale di terminazione della traduzione.

Coppia di basi: l'appaiamento di A con T o di G con C in una doppia elica di DNA.

Cromosoma: struttura cellulare che porta numerosi geni; è costituito da una molecola di DNA molto lunga associata a proteine ed è visibile come un'entità morfologica solo durante la divisione cellulare.

Dominante: allele il cui effetto fenotipico si manifesta anche nell'eterozigote.

Enzimi di restrizione: proteine che riconoscono il DNA in corrispondenza di brevi sequenze specifiche e lo tagliano.

Eterozigote: individuo diploide con due alleli diversi di un particolare gene.

Fenotipo: l'aspetto o altre caratteristiche di un organismo che risultano dall'interazione tra la sua costituzione genetica e l'ambiente.

Gene: segmento di DNA che rappresenta l'unità biologica di ereditarietà, trasmette le informazioni e controlla i caratteri; fanno parte di esso, oltre alla sequenza che codifica la produzione di una proteina o di un mRNA non codificante, anche le sequenze che la precedono e la seguono e che servono a regolarne il funzionamento.

Genoma: la costituzione genetica di un organismo. Le specie aploidi posseggono una copia sola del genoma, le diploidi due e le poliploidi numerose.

Genomica: lo studio strutturale e funzionale di tutto il patrimonio genetico (genoma) di una specie.

Genotipo: combinazione degli alleli presenti in un organismo.

Ibrido: pianta ottenuta dall'incrocio di due specie o varietà.

Ingegneria genetica: l'uso di tecniche molecolari per modificare il patrimonio genetico di un organismo copiando e trasferendo geni da un organismo vivente ad un altro.

Marcatore: gene che conferisce la resistenza ad un antibiotico o la capacità di sviluppare una particolare colorazione; permette di identificare le cellule batteriche o vegetali che hanno incorporato il DNA contenente la sequenza del marcatore.

Metabolomica: lo studio di tutte le piccole molecole (metaboliti) presenti in una determinata condizione in uno specifico tessuto o tipo cellulare.

Modificazione genetica (GM): alterazione del corredo genetico di un organismo; spesso usato come sinonimo di ingegneria genetica anche se in realtà molti tipi di modificazioni genetiche non sono ottenute attraverso l'ingegneria genetica.

mRNA: RNA messaggero, l'acido nucleico che serve a

trasportare l'informazione necessaria per l'assemblaggio delle proteine dal DNA localizzato nel nucleo all'apparato per la sintesi proteica localizzato nel citoplasma.

Mutazione: qualsiasi cambiamento del DNA che altera l'informazione contenuta in un gene; può essere letale se porta alla perdita di una funzione essenziale oppure può generare un nuovo allele.

Nucleotidi: molecole composte da una parte costante, lo zucchero-fosfato, ed una variabile, la base azotata; sono le unità che compongono le catene del DNA e dell'RNA.

Omozigote: individuo diploide che possiede lo stesso allele di un gene nelle due copie del genoma.

Plasmide: piccola molecola di DNA circolare autonoma ed in grado di autoreplicarsi.

Promotore: regione di DNA che precede la sequenza che viene trascritta; è coinvolta nella regolazione dell'inizio della trascrizione e determina dove e quando è accessibile l'informazione contenuta nel gene.

Proteomica: lo studio di tutte le proteine presenti in una determinata condizione in uno specifico tessuto o tipo cellulare.

Recessivo: allele il cui effetto fenotipico non si manifesta nell'eterozigote.

Replicazione: sintesi del DNA che viene trasmesso alla discendenza

Ricombinazione: la formazione di nuove combinazioni e disposizioni di geni.

Selezione: uso di particolari condizioni che permettono la sopravvivenza solo delle cellule o degli organismi con un determinato genotipo.

Specie: insieme di organismi viventi che condividono gli stessi tratti e sono interfecondi (in grado di riprodursi sessualmente tra di loro).

T-DNA: transfer DNA; porzione del DNA plasmidico di *Agrobacterium tumefaciens* che viene trasferita ed integrata nel genoma della cellula vegetale.

Terminatore: una sequenza di DNA che segue la sequenza che codifica la proteina e che determina la fine della trascrizione di un gene.

Traduzione: sintesi di una proteina utilizzando un mRNA come modello.

Trascrittomica: lo studio di tutti gli mRNA (trascritti), e quindi dei geni attivi, presenti in una determinata condizione in uno specifico tessuto o tipo cellulare.

Trascrizione: sintesi di mRNA utilizzando il DNA come modello.

Trasformazione: modificazione diretta di un genoma mediante l'ingegneria genetica.

Trasposone: elemento mobile di DNA che può integrarsi in un cromosoma mantenendo la capacità di cambiare di sito.

Varietà: gruppo di organismi all'interno di una specie che hanno caratteristiche simili tra loro e distinte da quelle di altri membri della specie ma non abbastanza distinte da formare una specie a sé (e interfecondi con gli altri membri di varietà diverse ma della stessa specie).

Zucchero-fosfato: la parte costante dei nucleotidi che compongono il DNA e l'RNA.

LE AGROBIOTECNOLOGIE SUL WEB

DAI GENI AI SEMI

Accademia Nazionale delle Scienze

www.accademiaxl.it/biblioteca_dgt_documenti.php

AGBIOS

www.agbios.com

Agenzia Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA)

www.efsa.eu.int

Agenzia per la Protezione dell'Ambiente e i servizi Tecnici

www.apat.gov.it

CODEX Alimentarius

www.codexalimentarius.net/web/biotech.jsp

Commissione Europea

gmoinfo.jrc.ec.europa.eu

ec.europa.eu/food/food/biotechnology

Dipartimento di Stato per l'Agricoltura degli Stati Uniti (USDA)

www.usda.gov/wps/portal/usdahome

www.aphis.usda.gov/biotechnology

FAO

www.fao.org/ag/agn/agns/biotechnology_en.asp

Fondazione Bill e Melinda Gates Grand Challenges in Global Health

www.gcgh.org/ImproveNutrition

GMO Compass

www.gmo-compass.org

INRAN

www.inran.it

ISAAA

www.isaaa.org

Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare

www.minambiente.it/

Ministero per le Politiche Agricole Alimentari e Forestali

www.politicheagricole.it

Ministero della Salute

www.ministerosalute.it

Organizzazione mondiale della Sanità (WHO)

www.who.int/foodsafety/biotech/en/

Società Italiana di Genetica Agraria (SIGA)

www.geneticagraria.it/SSR.asp?a_pag=7

The Biosafety Clearing-House (BCH) :

www.bch.cbd.int

Altre informazioni riguardanti alimenti arricchiti per ridurre problemi di malnutrizione:

www.aatf-africa.org

www.cgiar.org

www.gainhealth.org

www.harvestplus.org

SIMONA BAIMA

E' ricercatore dell'INRAN. La sua attività di ricerca ha riguardato inizialmente la regolazione della biosintesi dei carotenoidi in *Neurospora crassa*, e si è poi indirizzata sull'analisi funzionale di geni della pianta *Arabidopsis thaliana* implicati nella regolazione dello sviluppo e nelle risposte all'ambiente. Si occupa inoltre dello sviluppo di nuove tecnologie per l'analisi di prodotti del sistema agro-alimentare italiano e di OGM. Dal 1996 è rappresentante dell'INRAN nel Gruppo di lavoro "Biotecnologie" del Codex Alimentarius Commission FAO/WHO e dal 2009 nella Commissione Interministeriale di Valutazione (CIV) - D.Lgs n.224/2003 art.6 - che esamina le relazioni di valutazione e le informazioni relative all'emissione deliberata e all'immissione sul mercato di OGM. Svolge attività di valutazione per riviste internazionali di settore ed è stata membro del comitato editoriale di "Journal of Food, Agriculture and Environment" (2004-2006).

Svolge attività didattica e di divulgazione mediante seminari e lezioni presso Università, Istituti d'Istruzione Secondaria e istituzioni culturali sulle applicazioni delle biotecnologie nel settore agro-alimentare e sulla nutrigenomica.

GIORGIO MORELLI

E' coordinatore dell'Area Scientifico Tecnologica Scienze della Nutrizione dell'INRAN.

Dal 2001 è Professore a contratto di "Biotecnologie Alimentari" presso l'Università Sapienza – Polo di Latina. Il principale interesse di ricerca è incentrato sulla comprensione dei meccanismi che controllano lo sviluppo e la crescita delle piante in relazione all'ambiente. E' Direttore del Programma scientifico dell'INRAN "Genomica Funzionale e Biotecnologie Vegetali", e coordina numerosi progetti finanziati da agenzie nazionali e internazionali. E' autore di più di 60 pubblicazioni sulle principali riviste scientifiche del settore. Dal 1999 al 2007 è stato membro della "Commissione Interministeriale di coordinamento per la valutazione delle notifiche ai fini della commercializzazione di nuovi prodotti e nuovi ingredienti alimentari", tra cui prodotti OGM. Dal 2009 è membro della "Commissione Interministeriale di Valutazione (CIV) - D.Lgs n.224/2003 art.6 - che esamina le relazioni di valutazione e le informazioni relative all'emissione deliberata e all'immissione sul mercato di OGM. E' componente del Gruppo di Lavoro "Biotecnologie" del Codex Alimentarius Commission, FAO/WHO. E' co-chair della piattaforma tecnologica italiana Plant for the Future.



Finito di stampare nel mese di maggio 2010

presso il

Centro Stampa Università
Università degli Studi di Roma *La Sapienza*
P.le Aldo Moro, 5 - 00185 Roma

www.editricesapienza.it