

Agricoltura di una Nuova Generazione

Автор(и): Нора Иванова, Редактор Растителна Защита /РЗ/

Дата: 19.10.2020 Брой: 10/2020



Anno Internazionale della Salute delle Piante 2020

Il Premio Nobel per la Chimica 2020 è stato assegnato a Emmanuelle Charpentier e Jennifer A. Doudna per "lo sviluppo di un metodo per l'editing del genoma". Negli ultimi 10 anni questo metodo è entrato con successo in vari campi della scienza e sta gradualmente conquistando il mondo come un'opportunità per risolvere problemi intrattabili.

La rivoluzione genetica – il metodo di editing genomico CRISPR/Cas9 è un intervento preciso a livello del DNA in grado di cambiare il codice della vita in poche settimane. Le forbici genetiche, come viene chiamata questa tecnologia, avranno in futuro un enorme impatto sulle scienze della vita, trasformando completamente i metodi di trattamento in medicina per malattie pericolose ed ereditarie.

Ma non solo in medicina; anche in agricoltura questo metodo rivela nuovi orizzonti di ricerca che cambieranno completamente il nostro atteggiamento verso gli animali e le colture agricole.

Non è più un'utopia, un mondo in cui le piante destinate a nutrire la popolazione saranno in grado di resistere a estremi cambiamenti climatici e saranno resistenti a parassiti sempre più aggressivi.

La scienza agricola riuscirà a creare un'era più responsabile e sicura per i consumatori, con una catena alimentare sana e accessibile che opererà con meno risorse e risparmierà l'ambiente?

Un'agricoltura di nuova generazione

Secondo i dati dell'Organizzazione per l'Alimentazione e l'Agricoltura (FAO), quasi il 40% delle colture vegetali che servono come alimento base per la popolazione viene distrutto annualmente da varie malattie delle piante e parassiti. Ciò è particolarmente vero nelle regioni povere dove l'agricoltura è il principale sostentamento delle persone; la mancanza di cibo di alta qualità e accessibile porta a gravi conseguenze economiche e sociali. Un ulteriore fattore che contribuisce al compromesso delle riserve alimentari globali è la globalizzazione del commercio, che porta alla diffusione incontrollata di specie invasive.

Il deteriorato ambiente di salute delle piante, causato dai cambiamenti climatici, dalle attività umane e dall'uso improprio di pesticidi, è anche un fattore chiave non solo per l'aumento di malattie pericolose e parassiti che colpiscono le piante coltivate, ma anche per la riduzione della biodiversità. Pertanto, negli ultimi anni i settori pubblico e privato stanno investendo sempre di più in iniziative per la gestione integrata dei parassiti, la ricerca scientifica e le tecnologie innovative che si concentrano soprattutto non sulle conseguenze, ma sulle cause e sulle possibilità per la loro prevenzione.

La genetica vegetale sta fornendo una gamma sempre più ricca di opzioni per la prevenzione nel campo dell'agricoltura. L'obiettivo della modificazione genetica è ottenere linee di piante agricole con vantaggi rispetto a quelle classiche: qualità nutrizionali migliorate (ad esempio, arricchire il riso con carotene – il precursore della vitamina A); resistenza a parassiti e malattie; tolleranza agli erbicidi; maggiore tolleranza alla siccità o ai terreni salini.

Prevenzione attraverso la manipolazione del genoma – CRISPR/Cas9

Inaspettatamente, la risposta a tutti questi problemi nella scienza agricola moderna risiede nelle apparentemente minuscole molecole di DNA, il cui potenziale si rivela illimitato. Già nel 1953, furono gettate le basi della biotecnologia moderna con l'applicazione in condizioni di laboratorio degli *enzimi di restrizione*, che tagliano il materiale genetico. Da allora, sono stati introdotti numerosi metodi diversi per la manipolazione del genoma. Il passo rivoluzionario nella genetica è l'introduzione di uno strumento che consente l'editing rapido e preciso del genoma. CRISPR/Cas ("CRISPR") è preso in prestito da processi che avvengono nelle cellule batteriche. È un meccanismo che consente ai batteri di proteggersi dagli attacchi virali, costituito da due parti – un'impronta unica del virus (codificata in CRISPR) e un enzima (Cas) che ha la capacità di tagliare entrambi i filamenti del DNA. Quando attaccati da un virus noto, i batteri usano questa impronta per dirigere Cas verso il

suo materiale genetico. Una volta tagliato, viene inattivato e l'attacco virale è prevenuto. La modifica risultante può eliminare o sostituire segmenti specifici di DNA, migliorando o disattivando così determinati tratti.

Insieme ai vantaggi di questo metodo in campi come la farmacia, la terapia genica e il trattamento di malattie come HIV, malaria, cancro, diabete, ecc., la tecnologia CRISPR sta entrando sempre più con successo anche in agricoltura.

L'editing genomico preciso è di enorme interesse per il settore agricolo, perché tutti sanno quanto tempo e impegno ci voglia per creare nuove varietà resistenti. Esistono già numerose colture con prestazioni agronomiche migliorate – riso, grano, arance, pomodori e altre che sono resistenti ai patogeni; mais che resiste alla siccità; pomodori con resa aumentata. Oltre ai benefici per gli agricoltori, ci sono benefici per l'ambiente, poiché vengono utilizzate meno risorse per ottenere la produzione e si riduce l'uso di pesticidi. Ne beneficia anche il consumatore finale, poiché si sta lavorando attivamente per migliorare il valore nutrizionale e la qualità dei prodotti. Ad esempio, è del tutto possibile controllare la percentuale di glutine nel grano e ottenere risultati di – contenuto di glutine inferiore dell'85%. E in Asia, vengono condotte sempre più ricerche per creare riso con un contenuto aumentato di amilasi, che scompone i carboidrati complessi e li converte in monosaccaridi come il glucosio. L'amilasi è un enzima presente nella saliva umana e svolge un ruolo attivo nel corretto metabolismo del glucosio dell'organismo.

Mele resistenti al colpo di fuoco batterico

Uno degli ultimi studi sul metodo CRISPR/Cas utilizzando *Agrobacterium tumefaciens* è stato pubblicato sul Journal of Plant Biotechnology nel 2019. Il batterio *Erwinia amylovora*, che causa la malattia del colpo di fuoco batterico nel melo, induce l'infezione nel frutto attraverso l'effettore DspA/E, che interagisce con la proteina di suscettibilità del melo MdDIPM4. Gli scienziati usano CRISPR/Cas9 per creare una proteina MdDIPM4 difettosa, che viene introdotta nel melo (cv. Gala e Golden Delicious) tramite *Agrobacterium tumefaciens*. In questo caso, è di particolare interesse l'interazione tra la selezione classica che utilizza il batterio *A. tumefaciens* e i metodi rivoluzionari nella creazione di nuove varietà. Il batterio *Agrobacterium tumefaciens* ha la capacità di trasferire DNA nelle cellule vegetali. La sua funzione nel processo complessivo è infettare un gran numero di specie vegetali e indurre la formazione di tumori vegetali

in cui si sviluppa. I tumori sono in realtà causati da un plasmide del batterio chiamato Ti (da *tumor-inducing* in inglese). Una volta che la pianta è infettata, il plasmide Ti viene trasferito dalla cellula batterica in una cellula vegetale, si integra nel suo genoma e ne causa la trasformazione maligna. Il plasmide Ti non è cancerogeno

per animali e umani, e sulla base di esso, vengono creati vettori per la clonazione e l'espressione di geni estranei nelle cellule vegetali. Attraverso una combinazione dei due metodi di selezione nel melo, sono state ottenute in totale

57 linee transgeniche con un'efficienza di editing del 75%. Sette linee modificate con perdita di funzione della proteina MdDIPM4 sono state esposte al colpo di fuoco batterico, e i risultati hanno mostrato una significativa riduzione della suscettibilità alla malattia rispetto al controllo. I risultati dello studio dimostrano lo sviluppo e

l'applicazione di CRISPR-Cas9 per la creazione di mele modificate geneticamente con un'impronta minima di DNA esogeno.

Grano – la regina della modificazione genetica

All'altro capo del mondo, la siccità non è un problema per le colture agricole, e da anni vengono sviluppate varietà resistenti a lunghi periodi senza una goccia di pioggia. Tuttavia, le piogge prolungate in Giappone spesso distruggono completamente i raccolti degli agricoltori.

I ricercatori lì stanno lavorando su una nuova varietà di grano adatta per regioni con precipitazioni più elevate. Con l'aiuto del sistema CRISPR-Cas9, stanno sviluppando grano che in una fase successiva porta alla produzione di farina di qualità superiore. Per il loro esperimento, i ricercatori giapponesi usano una varietà di zone aride che è sensibile all'umidità. In caso di piogge intense e prolungate prima del raccolto, i semi spesso germinano nelle spighe, il che successivamente porta a farina di bassa qualità per l'industria alimentare. Applicando CRISPR-Cas9 tramite *Agrobacterium*, il team crea linee di grano con un gene Qsd1 non funzionale, che regola la dormienza o la germinazione dei semi. Dopo otto trasformazioni, uno dei tentativi si è rivelato di successo. La nuova varietà è stata incrociata con un grano di tipo selvatico per ottenere un mutante senza transgeni. Le piante risultanti sono state irrigate per una settimana e solo il 20-30% è germinato, mentre quasi tutti i semi di grano ordinario esposti alle stesse condizioni sono germinati. In questo caso, l'editing del genoma e la creazione di una nuova varietà di grano resistente alla pioggia hanno richiesto agli scienziati solo circa un anno. In confronto, con tecniche di selezione convenzionali uno sviluppo simile richiederebbe circa 10 anni. Nella genetica classica, gli scienziati usano il metodo del bombardamento di particelle (pistola genica), in cui particelle microscopiche, ad es. oro, vengono rivestite di DNA. Poi, sotto alta pressione, le particelle rivestite di DNA devono essere introdotte nella pianta ricevente. I risultati desiderati si attendono per anni e non sono sempre precisi e prevedibili come con la combinazione di CRISPR-Cas9 e *Agrobacterium*. Naturalmente, non tutte le varietà di grano rispondono all'infezione con batteri *Agrobacterium*.

Questo problema è stato corretto da un team di specialisti della Shandong Academy of Agricultural Sciences, Cina, che ha preso di mira con successo i geni del grano, optando per CRISPR-Cas9 consegnato attraverso *Agrobacterium* – trasformazione genetica. Così, sono riusciti a migliorare le caratteristiche qualitative del grano utilizzando batteri per inserzioni più precise del complesso di editing genomico CRISPR-Cas9.

Pomodori – un vero miracolo genetico

Un team internazionale di scienziati da Brasile, USA e Germania ha creato circa un anno fa un pomodoro utilizzando l'editing genomico CRISPR-Cas9. La nuova varietà di pomodoro, che ha un contenuto aumentato di licopene, è stata sviluppata da una pianta selvatica e solo all'interno di una singola generazione.

I ricercatori hanno usato come specie parentale *Solanum pimpinellifolium* – un pomodoro selvatico del Sud America e antenato del moderno pomodoro coltivato, i cui frutti sono delle dimensioni di piselli e la resa è minima, ma sono molto aromatici e il loro contenuto di licopene è impressionante.

Il team internazionale di esperti ha modificato il pomodoro selvatico di base applicando l'editing genomico CRISPR-Cas9, con le piante risultanti che portano piccole modifiche genetiche in sei geni che sono chiave per la domesticazione del pomodoro.

Il pomodoro modificato ha frutti tre volte più grandi del tipo selvatico. Ciò corrisponde alle dimensioni dei pomodorini. Ha 10 volte più frutti, e la loro forma è ovale, a differenza dei frutti rotondi selvatici (un tratto importante, perché in caso di pioggia i frutti rotondi si spaccano più velocemente di quelli ovali). Le piante hanno anche un'abitudine di crescita più compatta. La nuova varietà di pomodoro ha un contenuto molto alto del pigmento carotenoidico licopene, che è un potente antiossidante e protegge l'organismo dallo stress ossidativo. Così, la pianta selezionata ha il doppio del contenuto di questo pigmento benefico rispetto al suo genitore selvatico e cinque volte di più rispetto alle sue controparti moderne – i pomodorini.

Secondo un articolo pubblicato a gennaio 2019 su *Trends in Plant Science*, con le nuove tecniche di editing del genoma è possibile creare un pomodoro che compete con alcuni dei peperoncini più piccanti. I risultati del sequenziamento dell'intero genoma nei pomodori mostrano che questa coltura orticola ha i geni per la piccantezza, ma non possiede il meccanismo che permetterebbe a questi geni di diventare attivi. Così, attraverso CRISPR-Cas9, possono essere creati pomodori che sintetizzano capsaicinoidi, affermano i ricercatori che attualmente stanno lavorando a questo progetto. L'obiettivo non è soddisfare la nicchia culinaria in crescita, ma aumentare la produzione di capsaicinoidi per scopi commerciali. La sostanza attiva nei peperoncini piccanti (capsaicina) è nota per le sue proprietà antibiotiche e analgesiche e per la protezione contro i parassiti.