



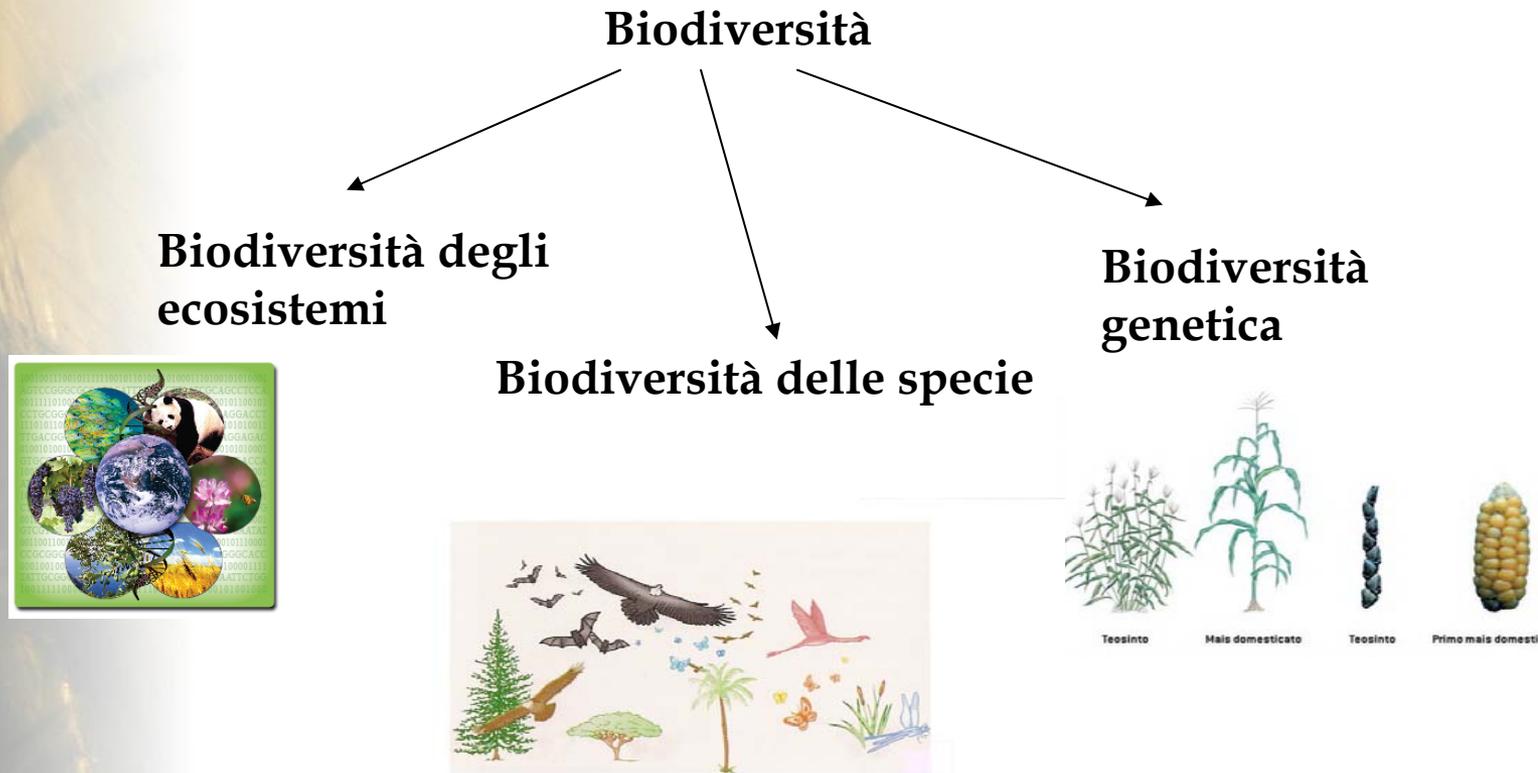
# *Viaggio al centro... della Biodiversità*

*Biodiversità all'interno di ogni specie e  
varietà dovute all'azione dell'uomo in  
ambito genetico*



2010 Anno Internazionale della Biodiversità

Nell'articolo 2 della Convenzione sulla Diversità Biologica, la **biodiversità** è definita come *“la variabilità fra organismi viventi di qualunque origine, compresi gli ecosistemi terrestri, marini e gli altri ecosistemi acquatici e i complessi ecologici di cui fanno parte”*.



# Biodiversità in ambito agricolo

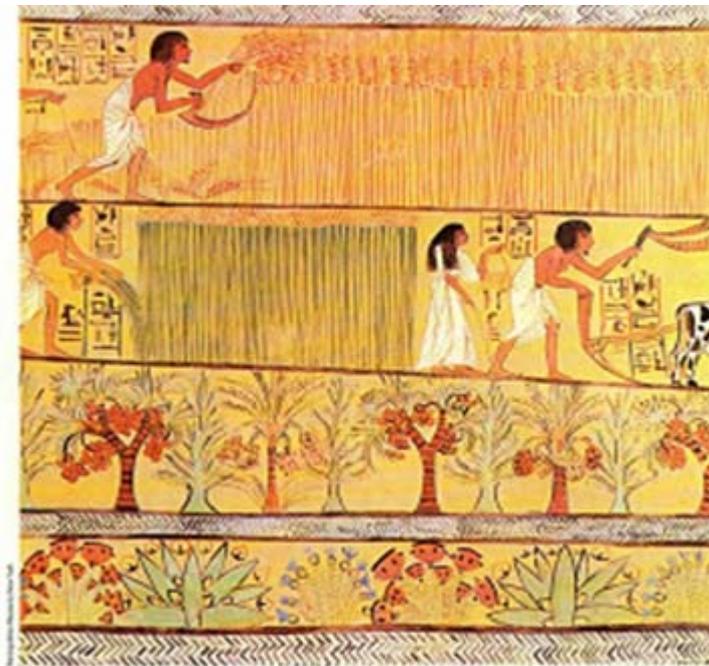
Per secoli l'agricoltura si è basata su un numero limitato di specie vegetali, dalle quali è stato ottenuto un numero enorme di varietà distinte.

La diversità genica nei vegetali offre spesso reali benefici pratici, ad esempio la coltivazione di diverse varietà della stessa pianta rappresenta una garanzia per l'agricoltore nei confronti di eventuali stress biotici o abiotici .



Fin dai tempi più antichi l'uomo ha cercato il miglioramento delle colture per soddisfare le proprie esigenze alimentari, incrociando tra loro piante della stessa specie i cui fenotipi rivelavano la presenza di qualità interessanti.

I diversi fenotipi sono dovuti alle differenze contenute nel materiale genetico, conservato all'interno degli organismi e trasmesso di generazione in generazione, e alle variazioni prodotte dall'ambiente su ciascun individuo.



# Diversità genetica e ibridazione

Le variazioni del patrimonio genetico costituiscono la materia prima su cui lavorano sia la selezione naturale che artificiale e sono quindi alla base di gran parte della biodiversità osservabile oggi.

Per favorire la comparsa di caratteristiche utili, nel secolo scorso l'uomo ha imparato a generare lui stesso **variabilità genetica**, inducendo **mutazioni** nei genomi di alcuni vegetali con l'uso di radiazioni ionizzanti o mutageni chimici e procedendo poi agli incroci tra piante sessualmente compatibili per stabilizzarle e diffonderle.

Orzo produttivo ma  
suscettibile a malattie



Orzo selvatico resistente



INCROCIO

X



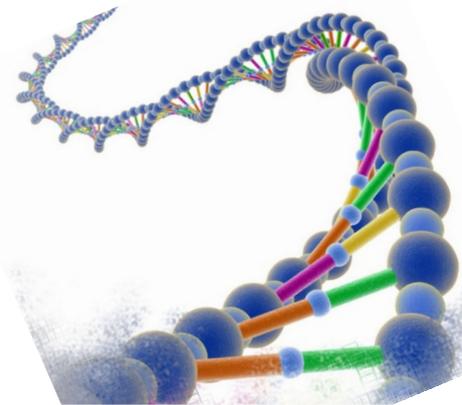
Orzo altamente produttivo resistente alle malattie

Tali incroci, tuttavia, non sono immuni da svantaggi:

- tempi lunghi per la selezione e i reincroci
- possibile inserimento di geni ignoti o portatori di caratteristiche indesiderate
- ambito applicativo limitato a specie interfertili

Oggi, con lo sviluppo dell'ingegneria genetica e grazie all'universalità del codice genetico, l'uomo è riuscito ad integrare nel genoma di una pianta anche geni appartenenti ad altri organismi.

Oltre a ciò, le biotecnologie forniscono strumenti di indagine utili al miglioramento genetico, senza che venga modificato il genoma della pianta.





# Marcatori molecolari

L'utilizzo dei marcatori molecolari associati a geni d'interesse consente:

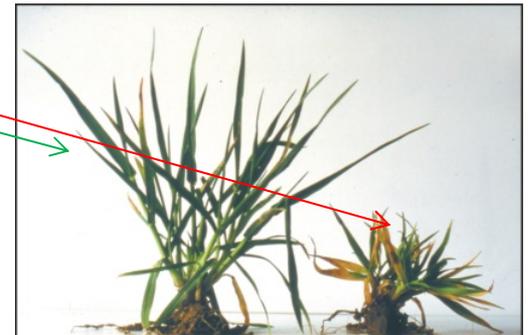
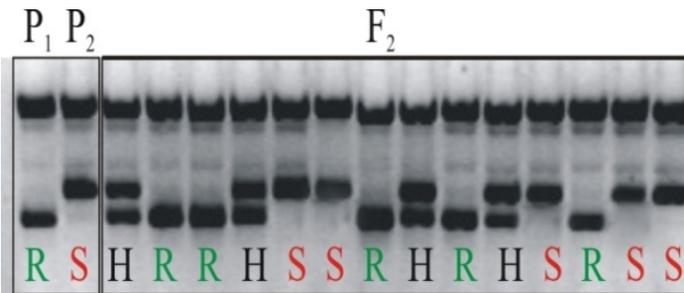
- indagini dirette del DNA per caratterizzare varietà e genotipi
- tempi brevi di esecuzione delle analisi
- eliminazione dell'effetto ambientale sull'espressione del carattere oggetto di studio

Il loro uso a supporto del miglioramento genetico è detto "breeding assistito" .

In particolare, l'identificazione di singoli geni e delle loro funzioni nelle piante permette di cercare nelle colture moderne e nei loro parenti selvatici le versioni di tali geni che conferiscono tratti fenotipici desiderabili.

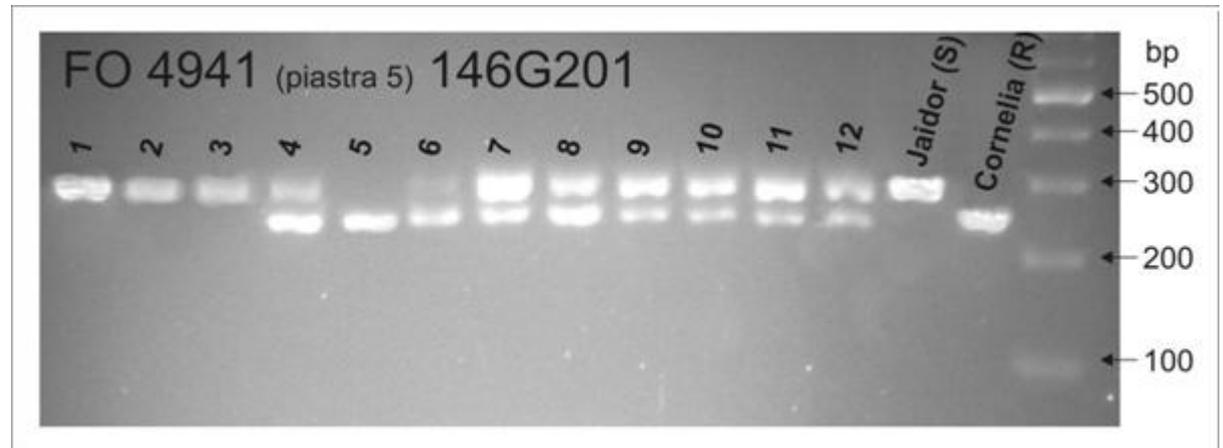
# MAS - Marker Assisted Selection

Il metodo consiste nell'identificare marcatori molecolari in associazione con il gene di interesse attraverso la rilevazione mediante sonde o tecniche basate su PCR .



# Quali sono i vantaggi della MAS ?

- Selezione di caratteri di difficile visualizzazione fenotipica
- Accelerazione dello sviluppo di nuove varietà (genotipizzazione della F2)
- Selezione simultanea di più geni di resistenza a più patogeni o ceppi di un patogeno (gene-pyramiding)



Esempio di gene-pyramiding

146G20-1 è un marcatore associato al gene *Rdg2a*, che conferisce all'orzo resistenza alla striatura bruna, malattia causata dal fungo *Pyrenophora graminea*.

# CRA

## Centro per la genomica e la postgenomica in agricoltura sede di Fiorenzuola d'Arda

Il Centro di Ricerca si occupa principalmente:

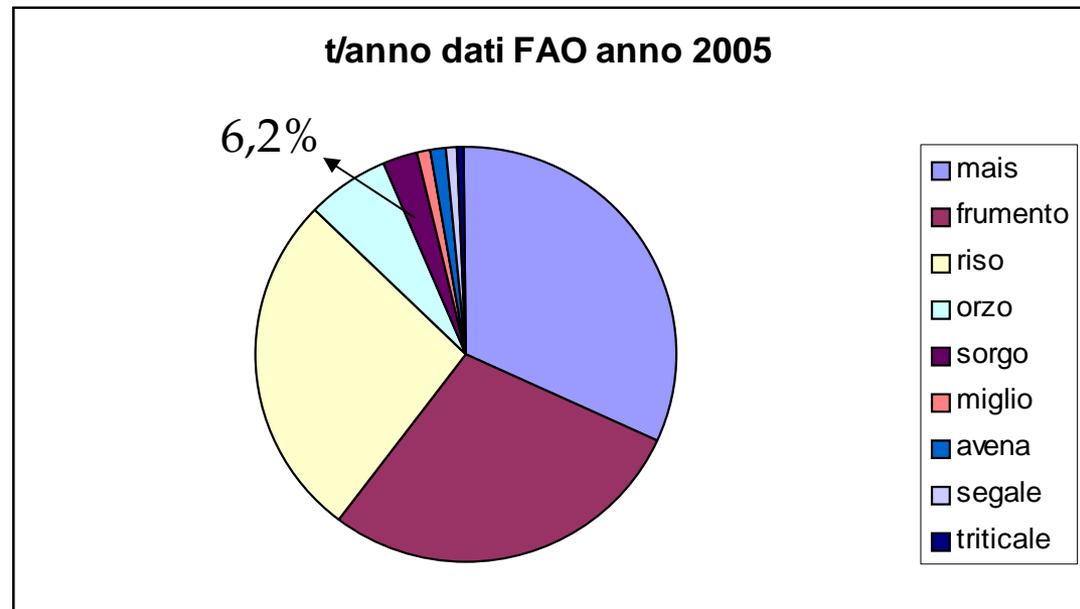
- dello studio, isolamento ed utilizzo di geni attivati dalla pianta in seguito a stress biotici ed abiotici
- dell'identificazione di geni e marcatori coinvolti nello sviluppo e nel conferimento alla pianta di aspetti qualitativi fondamentali
- della fenotipizzazione e conservazione di risorse genetiche
- dello sviluppo di marcatori per la tracciabilità di caratteri legati alla sicurezza e qualità dei prodotti agroalimentari
- di breeding



# Orzo

Nei laboratori di Fiorenzuola la MAS viene utilizzata sui cereali, che costituiscono il cibo più diffuso tra la maggior parte delle popolazioni del globo.

In modo particolare si studia l'orzo, 4° cereale al mondo per superficie coltivata, con impieghi nella produzione di granella per l'alimentazione animale, nella produzione di malto, nell'industria della torrefazione e nell'alimentazione umana.



# Varianti dell'orzo

L'orzo presenta diverse varianti:

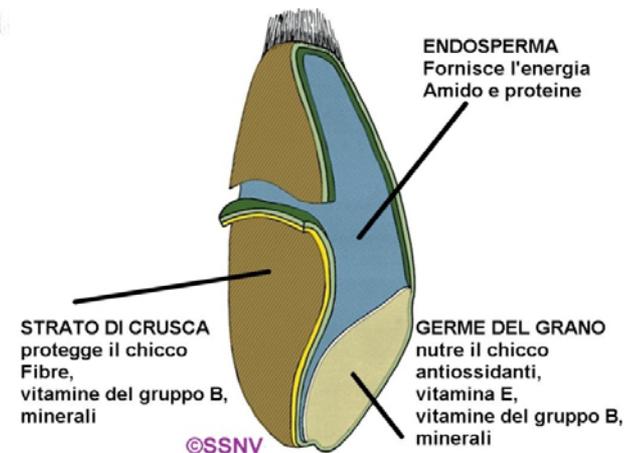
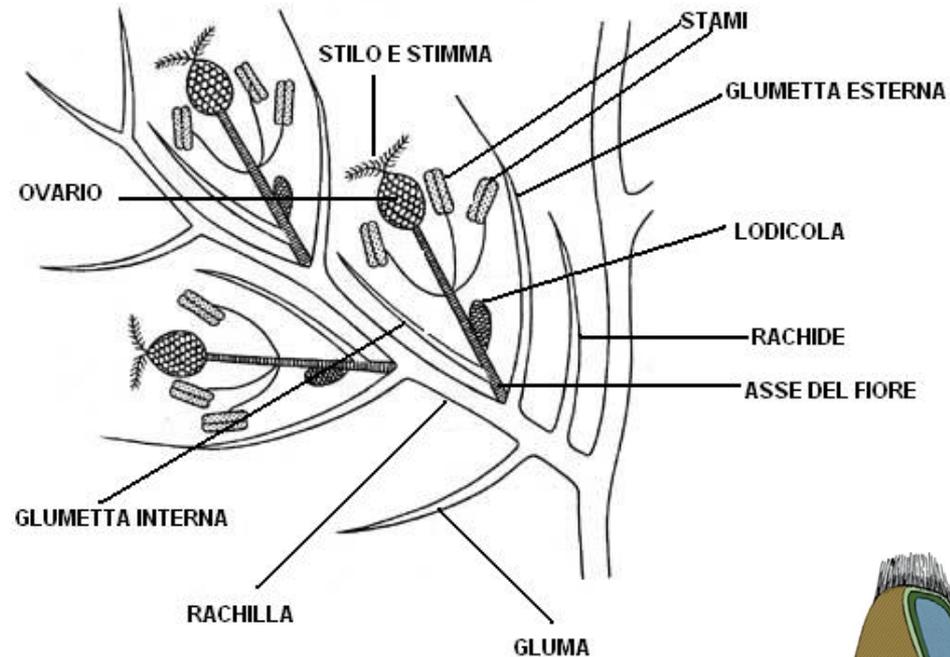
- distico/polistico
- primaverile/autunnale
- nudo/coperto
- rosso/bianco
- con ciclo di maturazione rapido/tardivo

La presenza di numerose varianti è fondamentale, perché i cereali hanno tra i loro genomi un elevato grado di corrispondenza e si possono considerare come un sistema genetico unico:

la scoperta di un gene o di una sua funzione in un cereale può aiutare a comprendere e migliorare anche gli altri



# Caratteristiche dell'orzo



# Malattie dell'orzo

- Danno quantitativo: resa minore
- Danno qualitativo: - riduzione del contenuto proteico  
- alterazione della frazione lipidica  
- riduzione della germinabilità dei semi  
- accumulo di composti tossici

## MALATTIE PIU' COMUNI:

- Rinco (manifestazione di chiazze bordate)
- Teres (manifestazione di righe giallastre)
- Oidio (manifestazione di macchioline grigie)
- Carbone (fungo che mangia i chicchi)
- Elmento
- **Striatura bruna\***
- Nanismo giallo
- Mosaico giallo



# Striatura bruna\* dell'orzo

La striatura bruna è causata dall'ascomicete *Pyrenophora graminea*, si manifesta con striature longitudinali brunonerastre lungo le nervature della lamina fogliare e provoca la distruzione parziale o totale della pianta; dopo la spigatura, infatti, la spiga si presenta secca e completamente sterile.

La ricerca riguardo la striatura bruna porta:

- al mappaggio fine del gene di resistenza
- all'identificazione di geni indotti dall'infezione
- allo sviluppo di marcatori molecolari per la selezione assistita



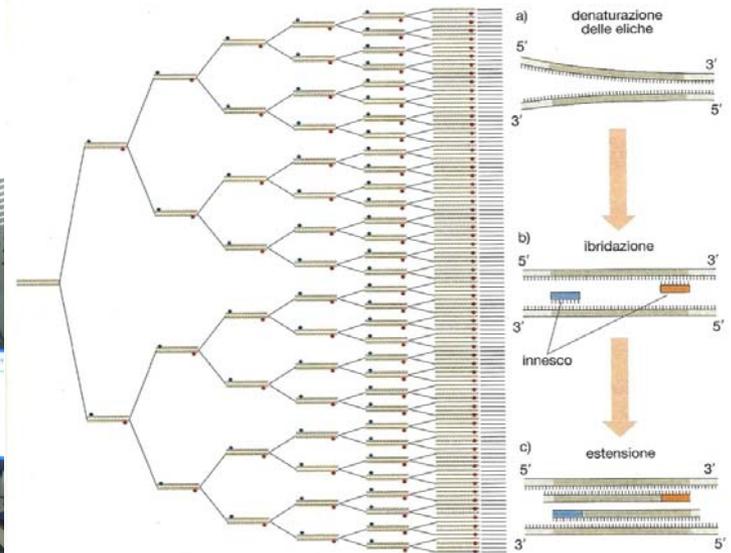
# PCR - Reazione a Catena della Polimerasi

Per visualizzare se i campioni di DNA di diverse piantine d'orzo contengono il gene per la resistenza alla striatura bruna si utilizza dapprima la PCR

La PCR è una tecnica che consente l'amplificazione esponenziale di segmenti di DNA , a partire da una quantità stampo detta template.

La PCR si suddivide in 3 fasi:

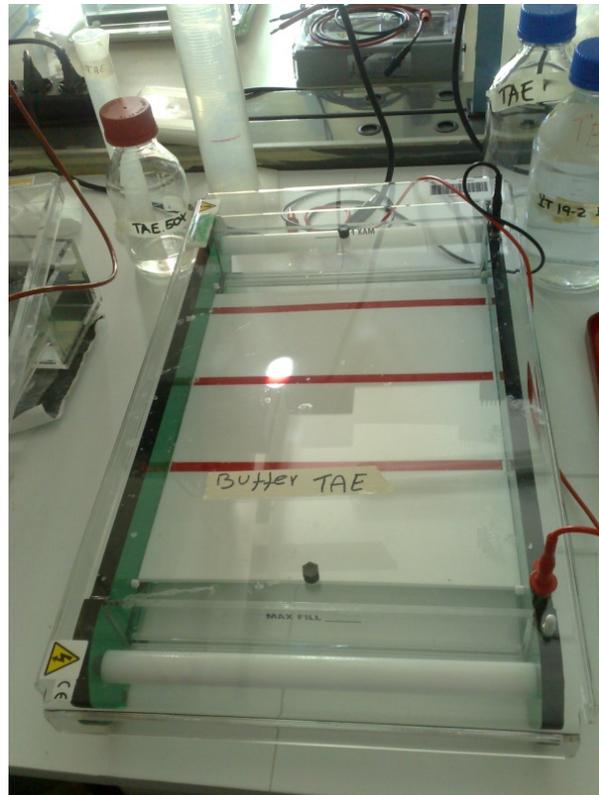
- Denaturazione
- Annealing
- Estensione



# Elettroforesi

Le copie dei segmenti di DNA d'interesse sono successivamente analizzate attraverso il processo di elettroforesi.

L'elettroforesi sul gel di agarosio è un metodo semplice e veloce che permette di separare e quindi identificare frammenti di DNA in base al loro peso molecolare.



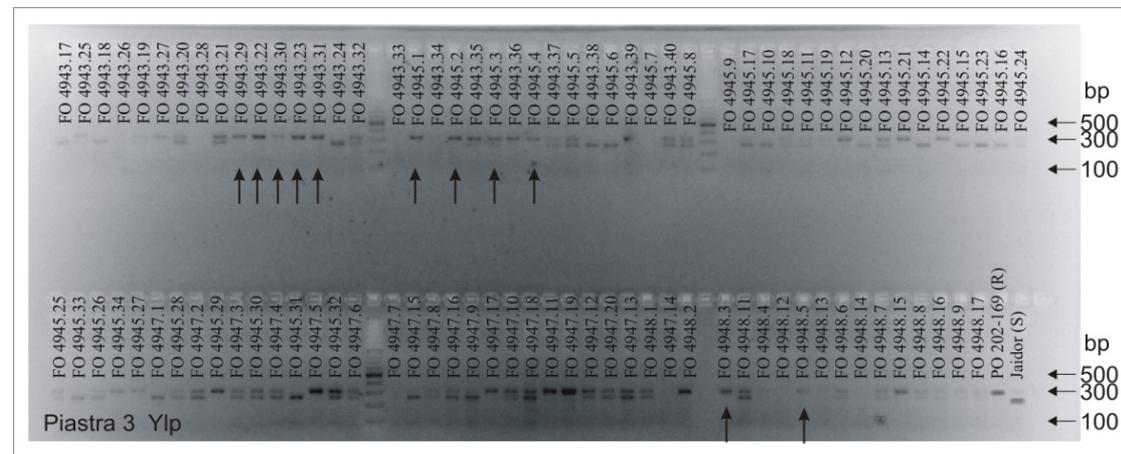
# Corsa elettroforetica su gel di agarosio

I frammenti di DNA carichi negativamente, sottoposti a un campo elettrico, tendono infatti a migrare verso il polo positivo.

Usando una griglia molecolare di agarosio polimerizzato, i frammenti vengono “setacciati” in base a dimensioni e peso: i frammenti più grandi restano indietro rispetto ai frammenti più piccoli.

La visualizzazione della corsa elettroforetica è resa possibile dall’uso di Bromuro di Etidio (EtBr), sostanza in grado di intercalarsi con le molecole di DNA e che risulta fluorescente se esposta ai raggi UV a 320 nm.

L’uso di un ladder, cioè di una serie di frammenti a dimensione nota, permette di avere informazioni sulle dimensioni dei vari frammenti che sono stati separati.

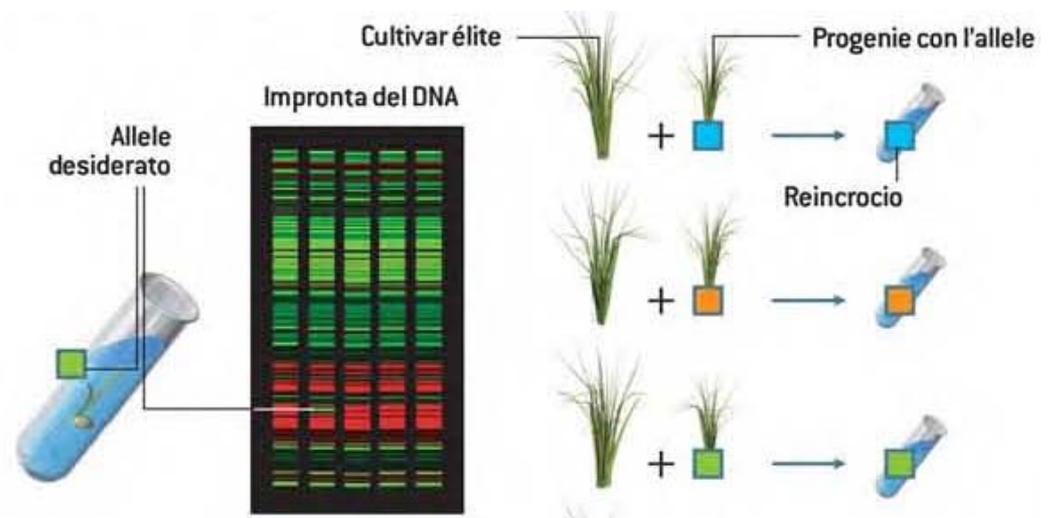


# Ibridazione guidata dai marcatori genici

La tecnica utilizzata è in pratica quella del fingerprinting :  
le piantine nelle quali sarà stato individuato il marcatore  
per il carattere desiderato saranno poi incrociate con una  
cultivar élite.

Anche il DNA della progenie verrà a sua volta testato e le  
piantine con i geni desiderati saranno reincrociate con la  
cultivar élite e così via fino ad ottenere una popolazione  
di piante simili in tutto alla cultivar élite, ma con l'allele  
acquisito.

L'uso del fingerprinting per individuare in ogni stadio la  
presenza dei marcatori dei tratti desiderabili consente di  
procedere in modo veloce e preciso.



# L'uomo contro o a tutela della biodiversità?

Il valore della diversità è particolarmente evidente in campo vegetale, in quanto strettamente legato al problema dell'alimentazione, della tutela ambientale, della ricerca di principi attivi per trattare malattie umane, del mantenimento della vita stessa sul nostro pianeta.

Anche la ricerca scientifica può promuovere e sostenere azioni mirate alla sua salvaguardia, in una visione non di contrapposizione ma di equilibrio tra uomo e natura.



**CRA**

CONSIGLIO PER LA RICERCA  
E LA SPERIMENTAZIONE  
IN AGRICOLTURA  
Genomic Research Centre - Fiorenzuola



*Si ringrazia il  
Centro di Ricerca  
per l'Agricoltura  
di Fiorenzuola.*

Martina Rossi, Silvia Caborni, Mara Cignatta, Maite Franzini



2010 Anno Internazionale della Biodiversità

# Fonti

- Materiale prodotto durante lo stage di maggio 2010 presso il centro CRA di Fiorenzuola d'Arda
- Le Scienze n. 433 maggio 2004
- Le Scienze n. 471 novembre 2007
- Enciclopedia Encarta
- Enciclopedia Rizzoli La Rousse
- Google immagini

