

Anna Meldolesi è una giornalista scientifica. Il suo ultimo libro è *E l'uomo creò l'uomo. CRISPR e la rivoluzione dell'editing genomico* (Bollati Boringhieri, 2017). Scrive per il «Corriere della Sera» e cura CRISPer Mania, un blog dedicato agli sviluppi delle nuove biotecnologie.



AGRICOLTURA

Biotecnologie per il made in Italy

Un programma ministeriale finanzia progetti di genetica agraria dedicati alle filiere produttive più importanti per l'Italia

di Anna Meldolesi

Sei milioni di euro. Tre anni di tempo. Dodici gruppi di ricerca, coinvolti in altrettanti sottoprogetti che coprono tutte le filiere produttive più importanti per il *made in Italy*. Dalla «a» di agrumi alla «v» di vite. È finalmente partito il programma BIOTECH, finanziato dal Ministero delle politiche agricole, alimentari, forestali e del turismo (MiPAAFT) e gestito dal Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria (CREA).

Il primo obiettivo è di fatto raggiunto: far crescere il numero dei gruppi italiani attivi nelle nuove biotecnologie «sostenibili», come le ha definite l'ex ministro Maurizio Martina prima di passare il testimone a Gian Marco Centinaio. «È un investimento in *know-how*, che rafforza le competenze nazionali in un settore strategico», ci dice Luigi Cattivelli, che dirige il Centro di ricerca genomica e bioinformatica del CREA e anche questo progetto. Il paradosso italiano è presto detto. Siamo ricchi di germoplasma, cioè di variabilità genetica, ma importiamo le nuove varietà dall'estero. Vantiamo una gloriosa tradizione di genetica agraria e abbiamo investito milioni di euro nel sequenziamento di molte specie, ma non siamo organizzati per sfruttare le conoscenze generate con la genomica.

Oggi abbiamo ancora un'occasione da cogliere con l'uso di bio-

tecnologie *soft* come cisgenesi ed *editing* genomico. Il primo approccio prevede il trasferimento di geni utili dalla stessa specie o da specie sessualmente compatibili, a differenza della *trangenesi* che attinge anche a organismi molto lontani. Il secondo approccio, esploso grazie all'invenzione della tecnica CRISPR, permette di spegnere i geni dannosi generando mutazioni puntiformi indistinguibili da quelle che avvengono ogni giorno in natura.

Come illustrano i quattro articoli a seguire, il CREA intende servirsi di queste tecnologie per gettare le basi di un'agricoltura più sostenibile. Le ricadute economiche dipenderanno da come l'Europa e l'Italia decideranno di regolamentare le varietà così prodotte e dall'accoglienza a esse riservata dai consumatori. Il Centro politiche e bioeconomia del CREA, comunque, si prepara a fare i conti. «Sonderemo le propensioni all'acquisto e proveremo anche a stimare il rapporto tra costi e benefici delle varietà allo studio», rivela Annalisa Zezza. Si calcherà, per esempio, quanto diminuirebbe l'uso di pesticidi se le produzioni resistenti ai patogeni funzionassero bene in campo e fossero adottate. «In ogni caso, anche nello scenario normativo più restrittivo, BIOTECH darà i suoi frutti», assicura Cattivelli. Direttamente mediante il rilascio di piante editate o, indirettamente, aiutando a riprodurre con sistemi tradizionali le mutazioni identificate grazie a CRISPR.

IN BREVE

Il settore agricolo è strategico per l'economia italiana. Ma pur essendo ricchi di germoplasma importiamo nuove varietà dall'estero. E anche se abbiamo una gloriosa tradizione di genetica agraria e abbiamo investito milioni di euro nel

sequenziamento di molte specie, non siamo organizzati per sfruttare le conoscenze ottenute con la genomica.

Un'opportunità per guadagnare competitività è data da cisgenesi ed editing genomico; queste

biotecnologie sono al centro di un programma finanziato dal Ministero delle politiche agricole e gestito dal Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria, che vuole gettare le basi per un'agricoltura più sostenibile e produttiva.



Biosphoto/AGF

Succoso è il futuro

Per i pomodori gli obiettivi sono piante più resistenti a siccità, malattie e parassiti, e frutti migliori anche grazie al contributo di specie selvatiche e progenitrici

Grandi e costolati, o al contrario piccoli e lisci come biglie. Rosso fuoco, come nei disegni dei bambini. Ma anche di un rosa delicato, bruni, screziati o dotati come vorrebbe il nome. A giudicare dalla varietà di forme e colori esposta nei supermercati, possiamo tirare un sospiro di sollievo: la tendenza verso i pomodori omologati è stata nettamente invertita. Passando in rassegna la letteratura scientifica recente, l'ortaggio più coltivato e amato d'Italia appare proiettato verso un futuro succoso. Gli strumenti *biotech* oggi in voga promettono di coniugare la praticità dei pomodori moderni con i sapori di campagna dei nostri nonni. Usando cisgenesi ed editing genomico, i ricercatori potrebbero mettere insieme il buono del vecchio e il bello del nuovo.

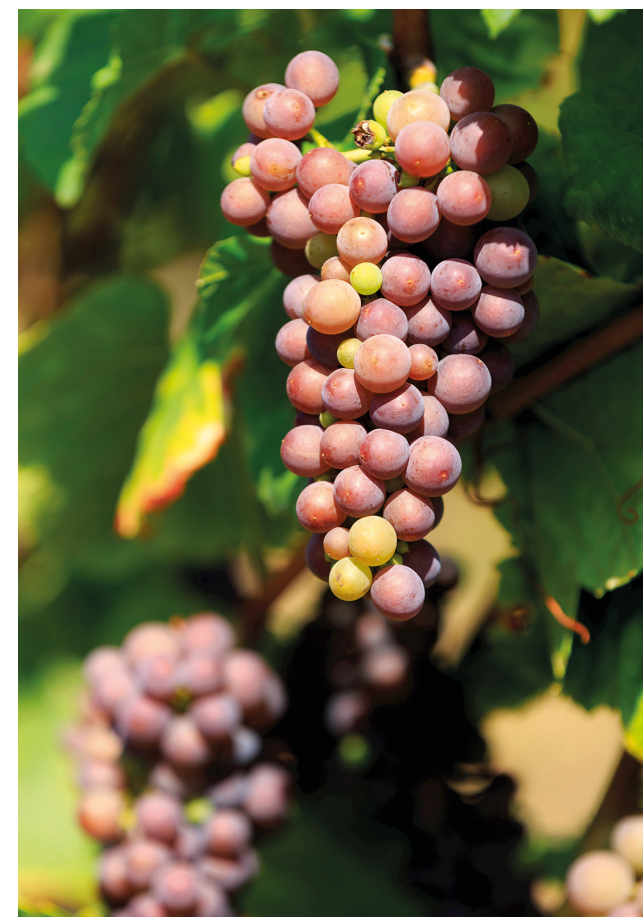
Ne è convinto Teodoro Cardi, responsabile del sottoprogetto CISGET (CISgenesis and Genome Editing in Tomatoes). «Il pomodoro presenta alcune caratteristiche che lo rendono una specie di elezione per le nuove tecniche di miglioramento genetico»,

ci dice il direttore del Centro di ricerca orticoltura e florovivaiismo di Pontecagnano Faiano. Ecco le carte fortunate che abbiamo in mano. Numero uno: un'ottima conoscenza del genoma di questa pianta, che è stato sequenziato in molteplici varietà e specie affini. Due: molta domestichezza con la sua genetica classica. Tre: buoni protocolli per trasformare le singole cellule e poi rigenerare *in vitro* le piante intere. Quattro: il pomodoro ha un sistema riproduttivo semplice che permette di autofecondare e incrociare facilmente genotipi diversi, e semplifica le operazioni per eliminare il materiale genetico estraneo, dopo gli interventi di editing.

Nelle sedi di Pontecagnano e Monsampolo del Tronto, con il coinvolgimento di unità operative esterne, i ricercatori del CREA tenteranno di rimodulare il processo fotosintetico. Lavoreranno per rendere le piante più resistenti alla siccità, alle malattie, a vegetali parassiti come le orobanche. Ma ai consumatori interesserà sapere soprattutto che si dedicheranno a migliorare la qualità dei frutti cantati dal poeta Pablo Neruda. «Il progetto prevede di

introdurre mutazioni per innalzare il contenuto di solidi solubili nel frutto, un carattere importante sia per la trasformazione industriale che per il consumo fresco», spiega Cardi. Pomodori acquosi, addio: affonderemo i denti nella polpa. Potenziando il livello di antiossidanti, come flavonoidi e acido ascorbico, si attendono vantaggi per la salute e la conservabilità del prodotto. La lunga vita di bancone non è necessariamente nemica del gusto. «L'ammorbidimento del frutto può essere controllato senza perdite qualitative, disattivando un gene implicato nella degradazione della parete cellulare», ci dice il genetista.

Negli anni ottanta e novanta la ricerca si era data come primo obiettivo lo sviluppo di cultivar adatte alla grande distribuzione. Maneggiabilità e trasportabilità sono arrivate a discapito del sapore, e le tipologie in commercio si sono ridotte a una manciata. A differenza del passato, però, ora sappiamo quel che serve per soddisfare il palato. Lo studio sistematico dei metaboliti prodotti in quasi 400 varietà, pubblicato due anni fa su «Science» da un gruppo internazionale, ha fornito la *roadmap* per recuperare gusti e aromi dell'estate. E adesso, con l'aiuto di CRISPR, la comunità scientifica sta già esplorando varie strade. Le specie selvatiche o progenitrici potranno essere usate come serbatoio di variabilità genetica, in un processo di re-inselvaticimento mirato dei tipi commerciali. Oppure si potrà procedere al contrario, seguendo l'esempio di due lavori pubblicati su «Nature Biotechnology». Con una domesticazione *ex novo*, nell'arco di qualche anno anziché di secoli, e senza commettere gli errori del passato.



Un'identità sostenibile

Il miglioramento genetico della vite incrementerà la sostenibilità ambientale e la competitività della filiera enologica, mantenendo il legame con i luoghi e le tradizioni dei vini italiani

Alcuni miglioramenti genetici

a cui mira il sottoprogetto VITECH del CREA riguardano lo sviluppo di portainnesti tolleranti agli stress idrici e la produzione di uva da tavola senza semi.

Ronald Wittek/AGF

Il vino è poesia in bottiglia, ha scritto Robert Louis Stevenson, autore di *Il dottor Jekyll e Mr. Hyde*. Ma era l'Ottocento. Nel XXI secolo, insieme al fascino di storia e tipicità, versiamo nei bicchieri anche una quantità crescente di conoscenze scientifiche. I vini di domani continueranno a regalare esperienze sensoriali uniche, intimamente legate a luoghi e tradizioni, ma dovranno diventare anche gentili con l'ambiente e la salute.

A chiederlo sono le leggi sull'uso dei fitofarmaci, via via più restrittive, e nuove generazioni di consumatori esigenti e consapevoli. Un dato basta a rendere la sfida che abbiamo davanti: oggi i filari occupano il 3 per cento del terreno coltivato in Europa, ma impiegano ben il 65 per cento dei fungicidi. Ce lo ricorda Riccardo Velasco, direttore del centro di Viticoltura ed enologia del CREA. Il sottoprogetto che coordina, VITECH, si propone di applicare le biotecnologie al miglioramento genetico della vite per incrementare sostenibilità e competitività della filiera. Diversi geni per la resistenza sono stati individuati, o almeno sono noti i *loci* in cui si trovano, cioè le posizioni sui cromosomi. Si spera dunque di poterli trasferire ai vitigni di interesse. Ma i ricercatori pensano anche di editare

Mint Images/AGF

in modo mirato il genoma della vite, spegnendo con mutazioni puntiformi (mutazioni riguardanti una o poche basi del DNA) i geni che la rendono vulnerabile ai patogeni. Nel centro di Conegliano si lavorerà per «piramidare» i diversi tipi di resistenza, al fine di ottenere varietà multiresistenti, sia all'oidio che alla peronospora, e auspicabilmente anche in grado di eludere i tentativi dei funghi di aggirare gli ostacoli genetici posti dai ricercatori.

Cisgenesi ed editing genomico, insomma, promettono di ridurre l'applicazione di pesticidi, preservando al tempo stesso l'identità varietale e il legame territoriale del germoplasma viticolo. Se non esistessero chiusure preconcrete, potrebbero beneficiarne anche i produttori biologici, che lavorano con difficoltà nelle aree geografiche umide e sono alle prese con la diminuzione dei livelli di rame consentiti.

«L'importanza commerciale delle denominazioni di origine rende l'impiego di queste tecniche in viticoltura ancora più vantaggioso che nei fruttiferi, nelle cerealicole e nelle orticole», sostiene Velasco. «Le altre piante da frutto non sono così caratterizzate. Coltivi albicocchi, non Cabernet Sauvignon». Con gli incroci si possono trasferire i geni per la resistenza dalle varietà di vite non vinifera americane e asia-

tiche, ma il lavoro è lungo e faticoso, e alla fine ci si ritrova con un genotipo troppo rimescolato per potersi fregiare del nome del vitigno originario. I paesi del centro Europa, e più recentemente l'Università di Udine, hanno prodotto in questo modo ottimi vini. Ma per arrivare a un vitigno che sia *Vitis vinifera* al 98 per cento è necessario re-incrociare per molte generazioni, e il prodotto finale faticherà comunque a farsi strada nel tradizionalismo del mondo enologico. «Se vuoi poterlo chiamare Glera, Chianti, Pinot nero o Primitivo e lo vuoi resistente, non hai altre strade che cisgenesi ed editing genetico», insiste Velasco.

VITECH comprende anche altri due filoni di ricerca. Uno mira allo sviluppo di portainnesti tolleranti agli stress idrici, che i cambiamenti climatici renderanno sempre più frequenti. Richiederà la collaborazione di un ente terzo, e trovare i geni candidati farà parte del gioco. L'altro riguarda la produzione di uva da tavola senza semi e gli esperimenti verranno eseguiti nella sede di Turi, nel quadrilatero pugliese dei grappoli da consumare freschi. Le varietà che vanno per la maggiore adesso sono straniere e senza semi. Ma disattivando con l'editing un fattore di trascrizione chiave, il CREA conta di produrre la prima uva Italia con semi assenti o impercettibili.



Tutti frutti

Cisgenesi ed editing genomico saranno usati su pesco, albicocco, ciliegio, melo, pero e kiwi con lo scopo di innovarne la produzione per non perdere posizioni nel mercato globale

In Italia, il settore frutticolo fattura oltre il 7 per cento del comparto agricolo: il giro di affari è di miliardi di euro. Gli alberi da frutto, inoltre, vedono il nostro paese tra i maggiori produttori su scala globale.

Cereali sfrenati

Sfruttando conoscenze acquisite su piante modello si cercherà di aumentare le rese del grano duro e di quello tenero allentando freni genetici che inibiscono la crescita

Aguardare le distese di spighe dorate nei campi, o gli spaghetti fumanti nel piatto, forse non si direbbe. Ma il frumento duro ha un genoma che è circa il quadruplo di quello umano. Questo cereale si è originato molte migliaia di anni fa dall'incrocio spontaneo tra due progenitori selvatici ed è tetraploide. Ovvero presenta quattro copie di ogni gene, anziché due come noi. Ancora peggio va per il frumento tenero usato per fare il pane, che conta un terzo progenitore e di copie ne ha sei. Questa complessità ha rappresentato a lungo un ostacolo per la ricerca e contribuisce a spiegare perché il cereale più coltivato del mondo si è rivelato anche il più difficile da migliorare. In effetti, dopo il balzo di produttività della rivoluzione verde, i progressi sono arrivati meno velocemente di quanto sperassimo. La convinzione diffusa è che d'ora in avanti, con i genomi sequenziati e l'aiuto di CRISPR, sarà tutto più facile.

«Faremo anche esperimenti su piante modello, tra cui orzo e ri-

so. Ma la strategia più semplice e veloce punta a sfruttare le conoscenze già acquisite nel riso, il cui genoma è abbastanza piccolo e ben studiato», ci spiega Raffaella Battaglia, responsabile del sottoprogetto dedicato, con base al centro CREA di Fiorenzuola d'Arda. Si chiama WHEADIT, che sta per Wheat Edit, ed è finalizzato al miglioramento della produttività dei cereali. Nel riso sono già stati identificati alcuni geni che inibiscono la crescita in dimensione dei semi o ne limitano il numero. L'idea, dunque, è di rintracciare i geni omologhi nel frumento duro, disattivarli con l'editing e poi verificare se la resa aumenta di conseguenza. Per fortuna CRISPR è in grado di lavorare in multiplex, tagliando il suo bersaglio anche se è presente in molteplici copie, dunque è la tecnica ideale per le specie poliploidi.

«Abbiamo una serie di geni candidati che regolano delle vie di segnalazione ormonali», racconta Battaglia. Sono interruttori all'interfaccia tra ambiente esterno e interno della pianta e ne regolano lo sviluppo. «Li useremo come target e ci aspettiamo di ve-

GomezDavid/Stock

Per gli animi romantici è il simbolo stesso della primavera, con quei fiori che «splendono limpidi come schiuma di rose» (Hermann Hesse). Ma per i genetisti agrari il pesco è l'albero da frutto più difficile su cui lavorare. Una specie recalcitrante, così si dice in gergo. Per questo mettere a punto protocolli di rigenerazione *in vitro* efficaci per *Prunus persica* e le sue sorelle è uno degli obiettivi più importanti di BioSofru. Di questo sottoprogetto, il cui nome vuol dire BIOTecnologie di nuova generazione per migliorare la produttività e la SOSTenibilità delle specie da FRUtto, ci ha parlato Ignazio Verde, del Centro per l'olivicoltura, la frutticoltura e l'agrumicoltura di Roma.

Cisgenesi ed editing genomico saranno usati per migliorare tre drupacee (pesco, albicocco e ciliegio), due pomacee (melo e pero) e l'actinidia (kiwi). Gli alberi da frutto vedono l'Italia tra i maggiori produttori su scala globale. Basta ricordare che per il pesco arriviamo terzi, dopo Cina e Spagna, mentre per il kiwi siamo superati solo dalla Cina. Tutto sommato, il settore frutticolo fattura oltre il 7 per cento del comparto agricolo, con un giro d'affari di miliardi di euro. Innovare è l'unico modo per non perdere posizioni, in un mondo in cui tutto

cambia, dai patogeni al clima. «A differenza di quanto accade per la vite, che è come se fosse stata collocata in un museo, sul mercato arrivano continuamente nuove varietà di pesche, albicocche, mele», spiega Verde.

Non sempre i consumatori se ne accorgono, perché l'aspetto resta grosso modo lo stesso. A pensarci bene, tuttavia, se quando eravamo bambini le albicocche si mangiavano solo a giugno, mentre adesso le gustiamo da maggio a settembre, qualcosa deve essere successo: è stato ampliato il calendario di maturazione. Ora Verde e i suoi colleghi del CREA vogliono accorciare il ciclo riproduttivo delle specie incluse nel sottoprogetto, riducendo la durata del periodo giovanile, durante il quale le piante non sono ancora pronte per fruttificare. In questo modo si comprimerebbero di molto i tempi necessari per effettuare gli interventi di miglioramento genetico, che richiedono 50-70 anni in piante come il melo.

Tra gli obiettivi dichiarati c'è, per esempio, il portamento colonnare. In pratica si tratta di editare le drupacee per modificare l'architettura della pianta. Il trucco consiste nel mettere fuori uso un gene che influenza l'angolazione dei rami, per favorire una migliore intercettazione della luce e

facilitare raccolta e potatura. Nel mirino dei genetisti c'è anche il virus della Sharka, che attacca i peschi e le altre specie di *Prunus*. Questa malattia da quarantena ha colpito duramente il Nord Italia negli anni duemila per poi diffondersi in tutto il paese. Non uccide repentinamente gli alberi, ma li indebolisce danneggiando la qualità dei frutti. «Cercheremo di far sottoesprimere i geni della pianta di cui il virus ha bisogno per completare il suo ciclo vitale», ci dice Verde. L'approccio della cisgenesi, invece, servirà a sviluppare portinnesti resistenti ai vermi nematodi, che attaccano le radici. Un'unità operativa esterna userà il trasferimento di geni da varietà affini anche nel melo, per contrastare la ticchiolatura e il fuoco batterico.

L'editing genomico sarà sfruttato per superare i problemi di autoincompatibilità del pero. «Nella maggior parte delle piante arboree il fiore è ermafrodito ma non si autofeconda, motivo per cui nei frutteti si piantano degli alberi impollinatori per la cultivar principale. Superando questo blocco si otterrebbe una produzione più uniforme», ci spiega l'esperto. Per i kiwi si punta sulla resistenza ai batteri. In agenda, infine, ci sono le fragole, di cui si spera di aumentare la produzione inducendo la doppia fioritura.

dere almeno un effetto positivo, per esempio un maggior numero di semi, sperando che questo non comporti una riduzione delle loro dimensioni». Se questo approccio dovesse funzionare, sarà anche la dimostrazione di quanto è importante lavorare con le specie modello e quanto sia utile la ricerca di base.

La seconda strategia prevista da WHEADIT si concentra sul meccanismo di trasporto degli zuccheri durante la formazione dei semi. «Questo è un collo di bottiglia con conseguenze notevoli sul contenuto in amido, e dunque sulla qualità del seme», spiega la genetista. Il piano consiste nel rimuovere un freno alla crescita, mettendo fuori gioco un fattore che a sua volta reprime un fattore di trascrizione. La produttività nel frumento appare influenzata da tanti freni molecolari, che bisogna imparare a rilasciare in modo controllato. Anziché premere il pedale per l'accelerazione, forse basterà evitare di decelerare.

La terza strategia, infine, è la più innovativa dal punto di vista scientifico ma è destinata a dare i suoi frutti su tempi più lunghi. «Gran parte del miglioramento genetico effettuato in passato è avvenuto selezionando caratteri utili senza conoscerne le basi molecolari», premette Battaglia. I grani antichi presentano un numero di fiori per spigetta inferiore rispetto ai frumenti moderni, ma non sappiamo esattamente perché. «Confrontando i trascritti degli uni e degli altri, speriamo di capire che cosa è cambiato e se esiste ancora un margine di miglioramento». In questo modo saranno identificati nuovi geni candidati, che in futuro potranno essere editati per aumentare la produttività sul campo.



Petra Daisenberger/AGF