



crea

Consiglio per la ricerca in agricoltura
e l'analisi dell'economia agraria

Centro di ricerca
Viticoltura ed Enologia

Biotechnologie green: una grande opportunità



***Riccardo Velasco,
Direttore del CREA VE***



Home > Strategia > Priorità 2019-2024 > Green Deal europeo > Azioni intraprese dall'UE > Dal produttore al consumatore

Dal produttore al consumatore

Il nostro cibo, la nostra salute, il nostro pianeta, il nostro futuro

La Commissione adotterà misure per:



- ✓ ridurre del 50% l'uso di pesticidi chimici e il rischio che rappresentano entro il 2030
- ✓ ridurre del 50% l'uso dei pesticidi più pericolosi entro il 2030



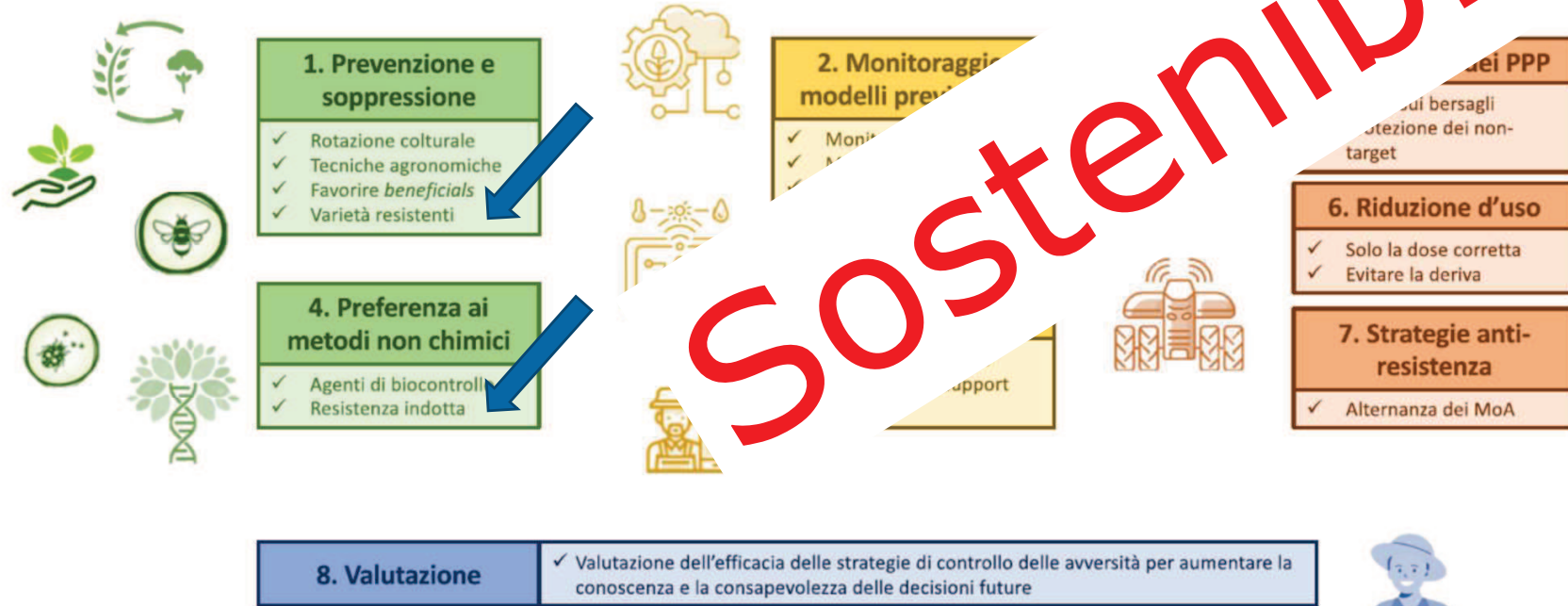
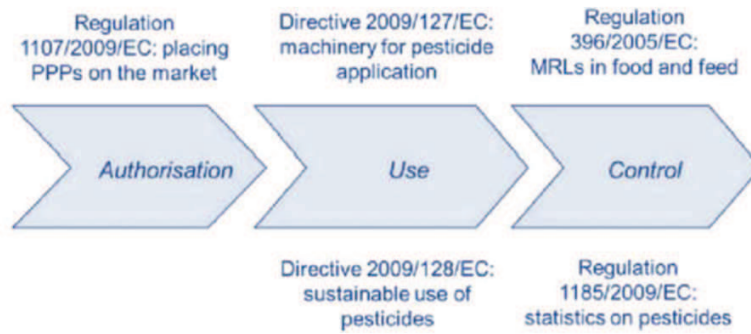
- ✓ ridurre almeno del 50% le perdite di nutrienti, senza che ciò comporti un deterioramento della fertilità del suolo
- ✓ ridurre almeno del 20% l'uso di fertilizzanti entro il 2030



- ✓ Portare al 25% del totale i terreni agricoli dedicato all'agricoltura biologica entro il 2030

La strategia Europea – Direttiva 128/2009

European strategy for PPPs (Pesticide Package)



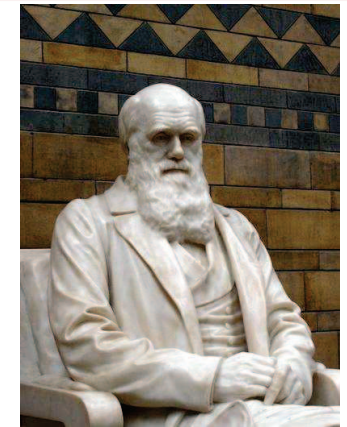
Sostenibilità



Breeding tradizionale ma moderno grazie a:

Mappe genetiche, marcatori molecolari e selezione

N. Borlaug

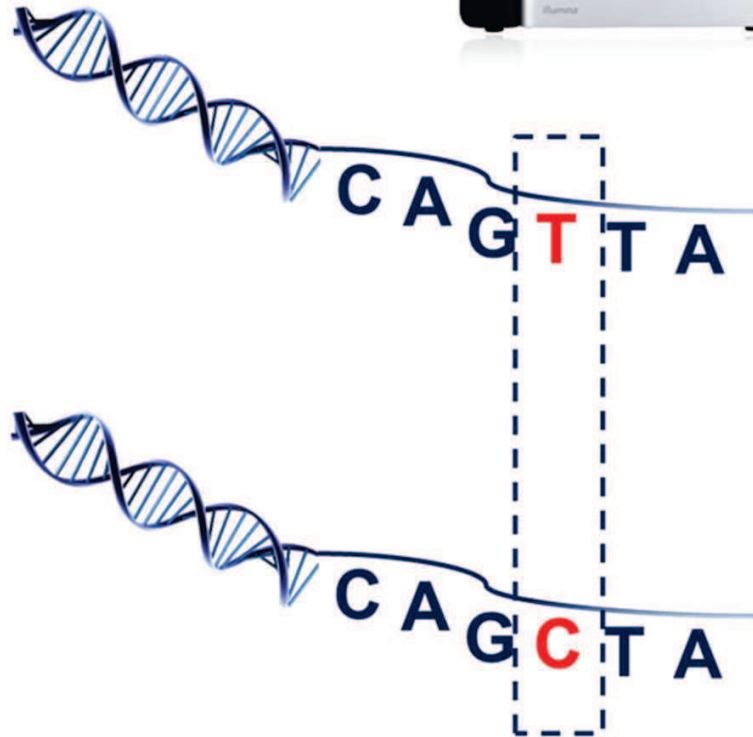


C. Darwin



G. Mendel

Nuove varietà mediante incroci



Cutting-edge array scanner

Highest Data Quality
Highest Sample Throughput
Flexible Platform



**Grapevine
SNPs array
(18,000 SNPs)**

L'obiettivo di uno scienziato è riuscire a spiegare le differenze misurabili/visibili in termini di piccole differenze genetiche (Sean Myles 2009)

Ma se vuoi continuare ad usare le
varietà che ben conosci quali
strumenti hai?

Biotecnologie “antiche” e “moderne”
Quali prospettive?

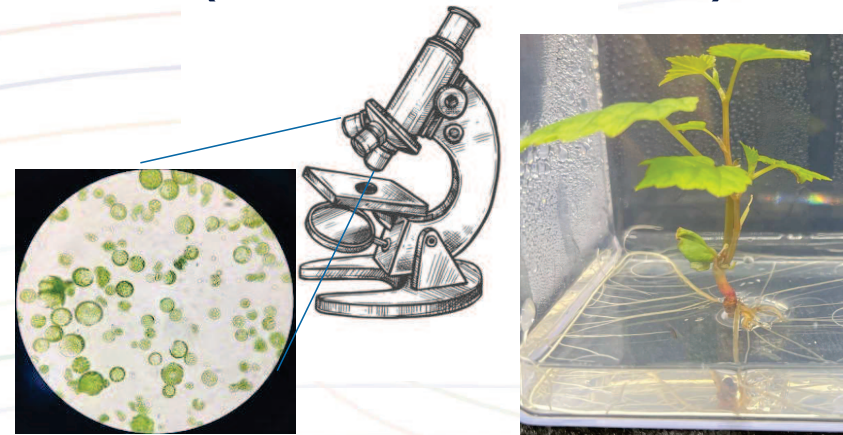
Dal miglioramento genetico all'avvento delle biotecnologie vegetali



Incroci classici = **nuove varietà**
(polline su fiore femminile)



Bioteχνologie = **stesse varietà**
(moderne non-OGM)



Stralci della 18/2001

Riguardo agli organismi geneticamente modificati la Direttiva 2001/18/EC recita all'articolo 2:

«organismo geneticamente modificato (OGM)», un organismo, diverso da un essere umano, il cui materiale genetico è stato modificato in modo diverso da quanto avviene in natura con l'accoppiamento e/o la ricombinazione genetica naturale. Ai fini della presente definizione:

a) una modificazione genetica è ottenuta almeno mediante l'impiego delle tecniche elencate nell'allegato I A, parte 1;

...

Il successivo Articolo 3 specifica delle deroghe:

Deroghe

1. La presente direttiva **non si applica** agli organismi ottenuti con le tecniche di modificazione genetica di cui **all'allegato I B**.

...

Segue...

Allegato 1A

TECNICHE DI CUI ALL'ARTICOLO 2, PARAGRAFO 2

PARTE 1

Le tecniche di modificazione genetica di cui all'articolo 2, paragrafo 2, lettera a), comprendono tra l'altro:

- 1) **tecniche di ricombinazione** dell'acido nucleico che comportano la formazione di nuove combinazioni di materiale genetico mediante inserimento in un virus, un plasmide batterico o qualsiasi altro vettore, di molecole di acido nucleico prodotte con qualsiasi mezzo all'esterno di un organismo, nonché la loro incorporazione in un organismo ospite nel quale non compaiono per natura, ma nel quale possono replicarsi in maniera continua;
- 2) **tecniche che comportano l'introduzione diretta** in un organismo di materiale ereditabile preparato al suo esterno, tra cui la microiniezione, la macroiniezione e il microincapsulamento;
- 3) **fusione cellulare** (inclusa la fusione di protoplasti) o tecniche di ibridazione per la costruzione di cellule vive, che presentano nuove combinazioni di materiale genetico ereditabile, mediante la fusione di due o più cellule, utilizzando metodi non naturali (**non-sessualmente compatibili**).

Sono OGM

.....

Allegato I B

TECNICHE DI CUI ALL'ARTICOLO 3

Le tecniche o i metodi di modificazione genetica che implicano l'esclusione degli organismi dal campo di applicazione della presente direttiva, a condizione che non comportino l'impiego di molecole di acido nucleico ricombinante o di organismi geneticamente modificati diversi da quelli prodotti mediante una o più tecniche oppure uno o più metodi elencati qui di seguito sono:

1. **la mutagenesi;**
2. la **fusione cellulare** (inclusa la fusione di protoplasti) di cellule vegetali di organismi che possono scambiare materiale genetico anche con metodi di riproduzione tradizionali (**sessualmente compatibili**).

Soggetti a deroga

**Varietà mutate ottenute in numerose specie di uso agricolo:
2500 varietà coltivate di cereali, industriali e ornamentali**

Here to Stay

More than 2,500 mutant crop varieties have been officially registered with the United Nations and the International Atomic Energy Agency. About three-quarters of the varieties were directly induced by gamma radiation.



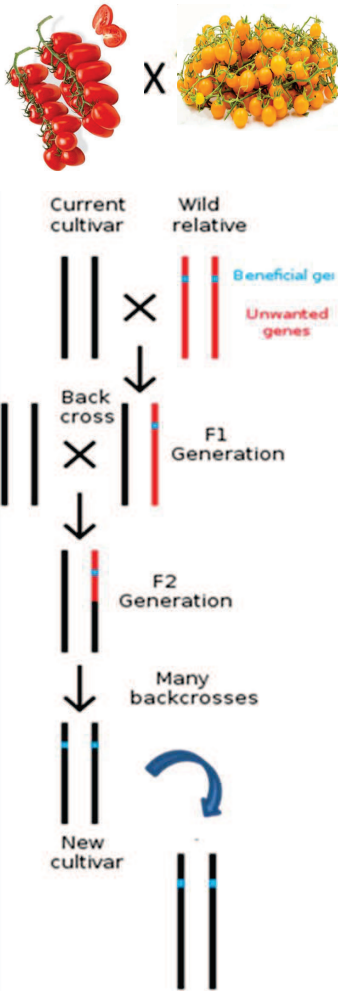
**Il pompelmo rosa
È un agrume ottenuto per mutagenesi**



Nuove opportunità dopo l'avvento della CRISPR/Cas



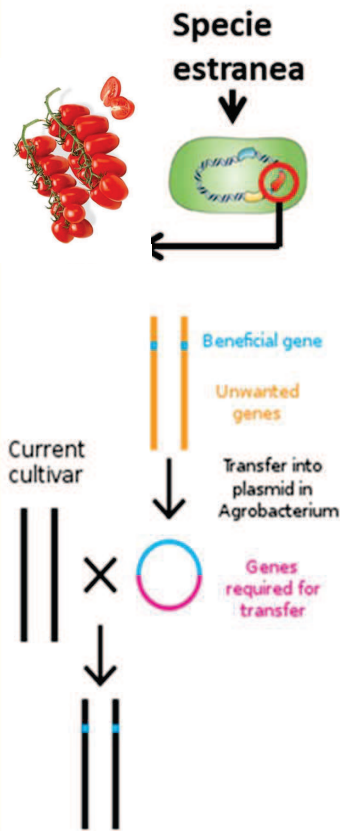
Incrocio Convenzionale



5 anni

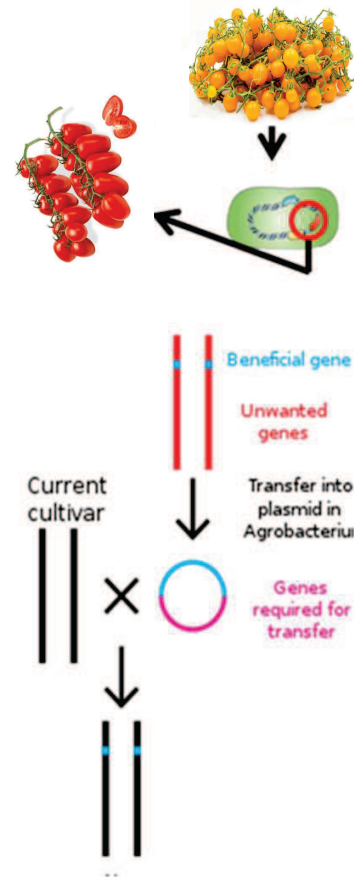
Modifica Genetica

Trangenesi



1 anno

Cisgenesesi



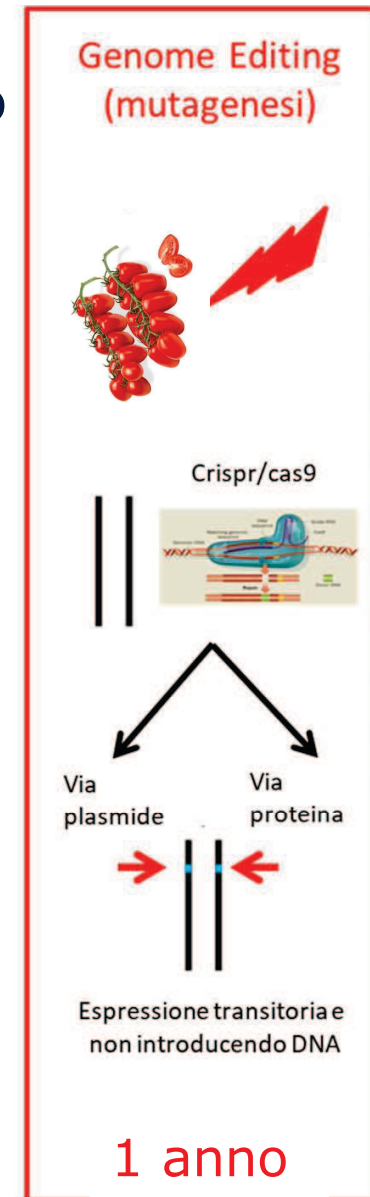
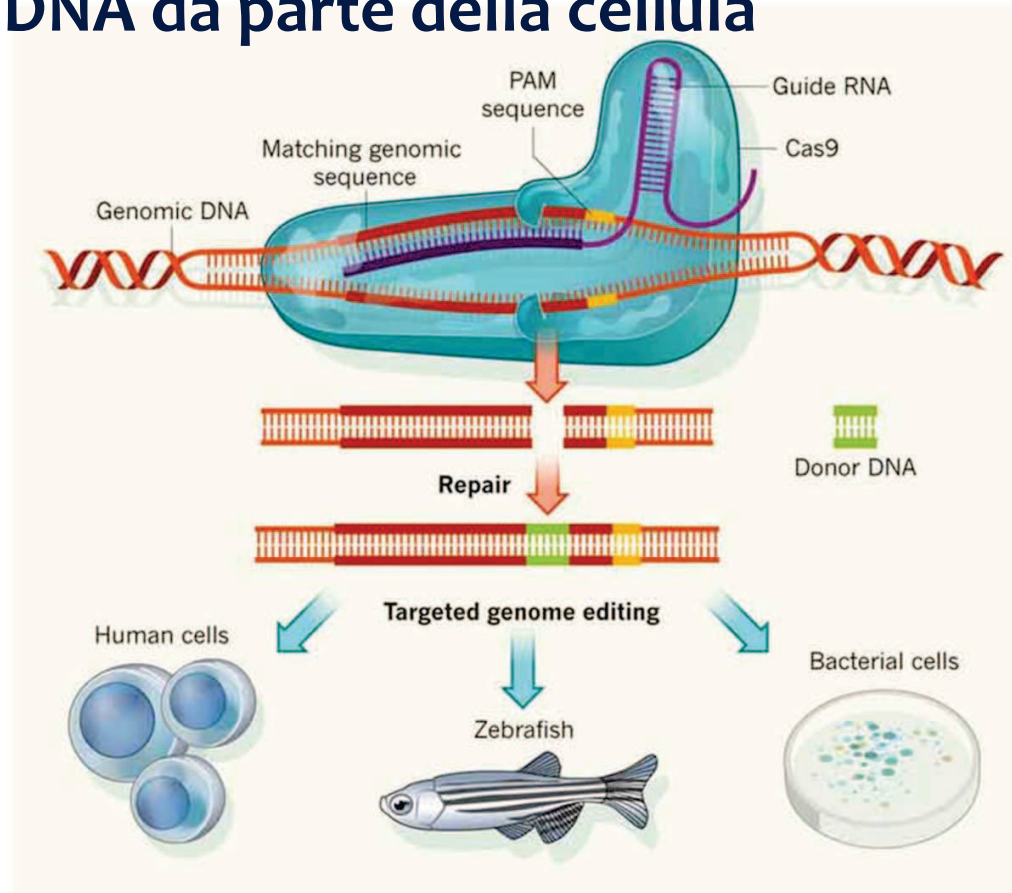
1 anno

Cisgenesesi

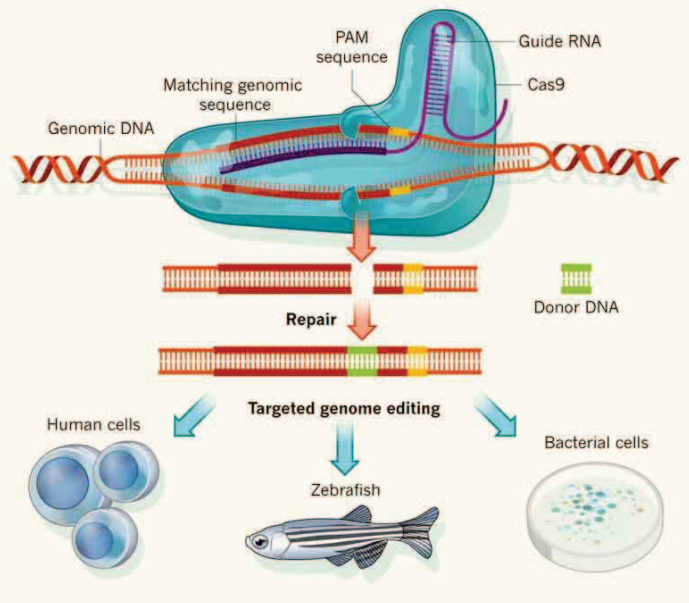
Specie affini

1. Materiale genetico trasferibile sessualmente
2. Gene trasferito nella forma "nativa"
3. Nessuna traccia di DNA esogeno rimanente dopo il trasferimento

CRISPR/Cas9 una proteina capace di indurre mutagenesi tramite taglio dello «specifico» sito del DNA seguito da riparazione dello stesso DNA da parte della cellula



CRISPR/Cas9: biotechnology revolution (genome editing = mutagenesi biologica?)



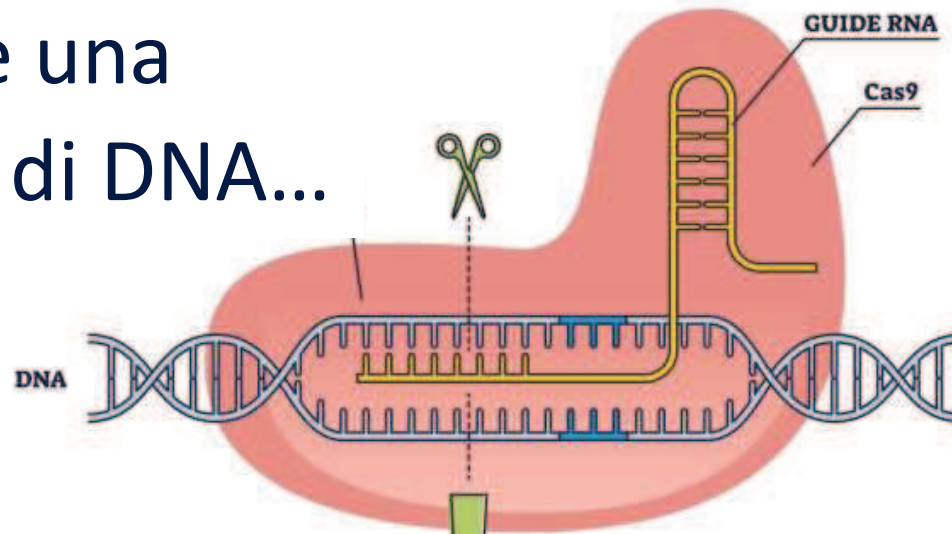
Premi Nobel per la chimica 2020
J. Doudna e M. Charpentier

Sono da considerarsi OGM o no?

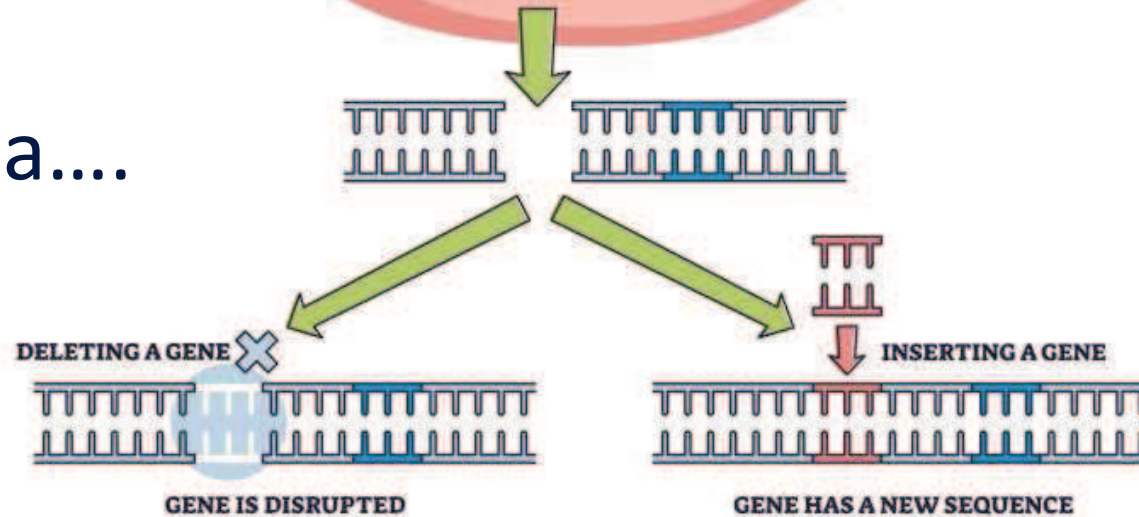


CRISPR/Cas

Riconosce una
sequenza di DNA...



...e la taglia....



....la cellula poi lo ripara

DNA danneggiato

.....viene riparato dalla cellula

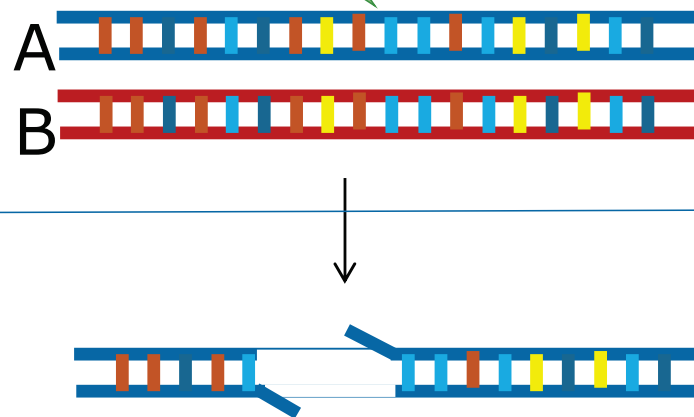
Esterno

Solar radiation
CRISPR/Cas9

Interno

Chromosomal stress,
Duplication of the DNA,
DNA crossing over,
O₂ free radicals

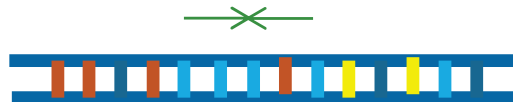
Doppia rottura
(DSB)



DNA repair
(possible errori)

*Non Homologous End
Joining*

Delezione




Mutazione



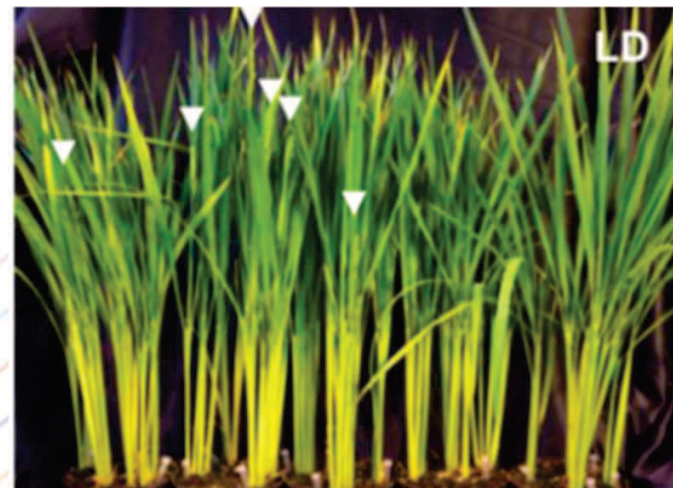
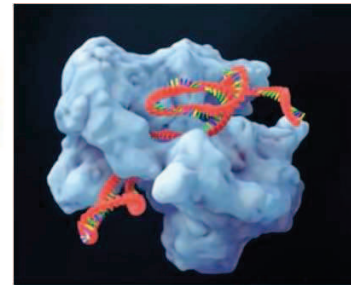
Inserzione





Caratteri su cui in Italia stiamo lavorando nei Progetti Biotech

Abbiamo mutato geni che reprimono la fioritura in riso per fare piante con ciclo più corto



#2.1 #1.2 #4.2 #4.1 WT

PER
ANTICIPARE LA
RACCOLTA

Brambilla et al., 2017

Il mutante FT-L1 mostra un incremento nella ramificazione del panicolo



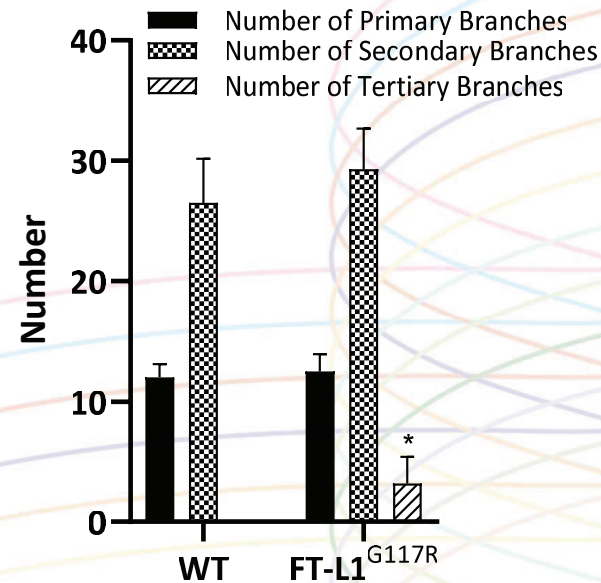
WT



FT-L1^{G117R}

Number of primary, secondary and tertiary branches

Natural LD conditions



Volano lines

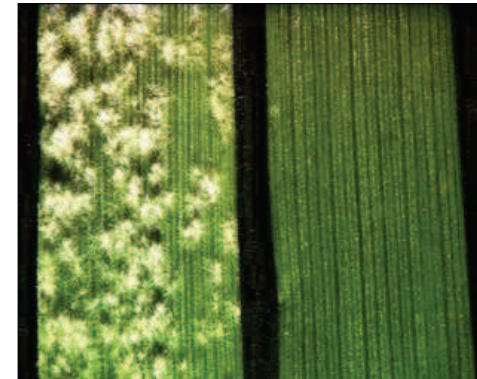
le foto sono di mutanti EMS ma i CRISPR hanno lo stesso fenotipo, solo avevamo meno piante e quindi la statistica non era buona perché i CRISPR non li abbiamo potuti crescere in campo...

Giaume et al., 2023



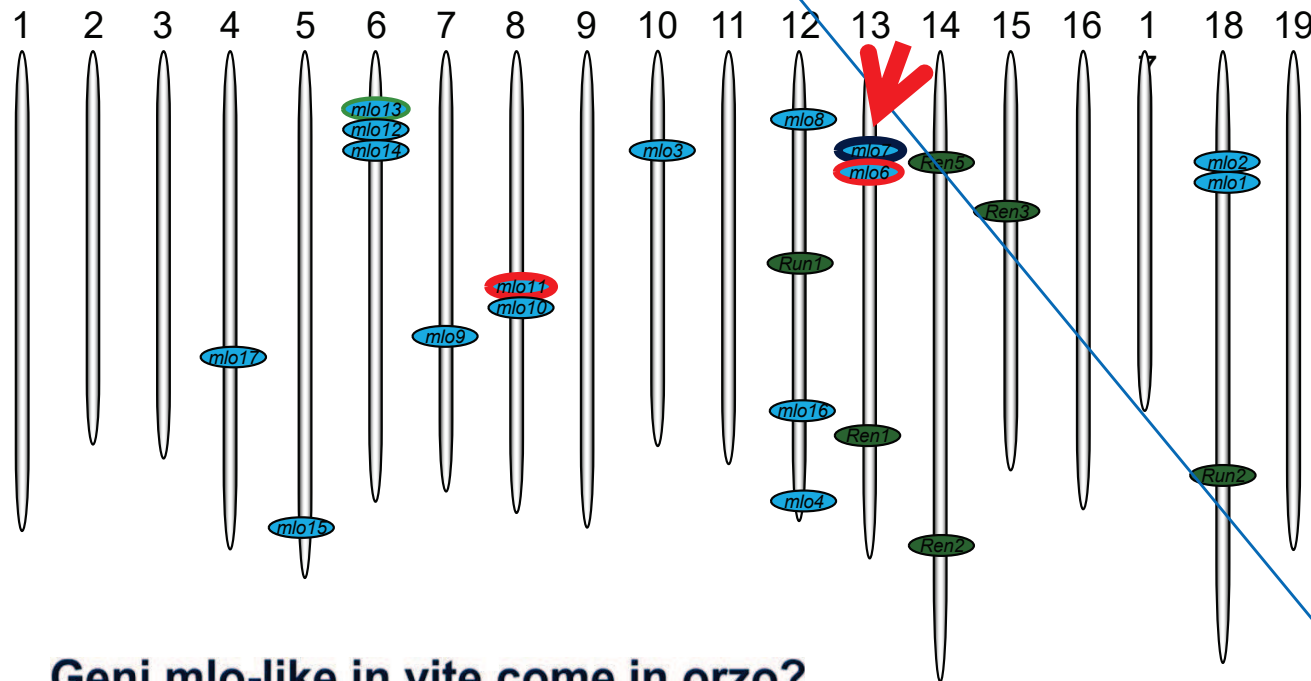
Büschges, R. et al., (1997)
The barley *Mlo* gene: a novel control element of plant pathogen resistance. *Cell* 88: 695-705

Pessina, S. et al., (2016)
Knock out of *Mlo* genes reduce susceptibility to powdery mildew in grapevine. *Hort Research* 3: 16016



Orzo *Mlo* vs. *mlo*

Mlo gene family in grapevine – distribution along the 19 chromosomes



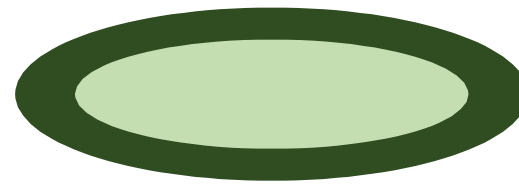
Geni *mlo*-like in vite come in orzo?



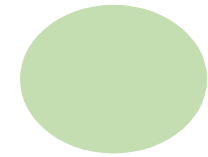
Brachetto vite suscettibile



Brachetto-*mlo7* mutata

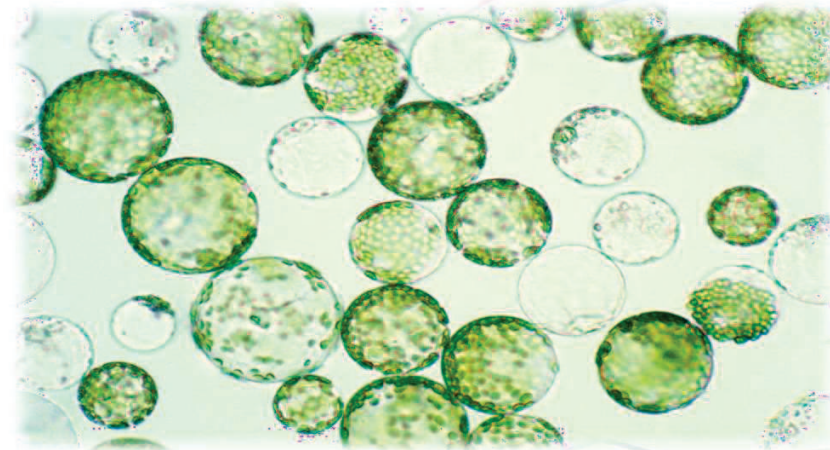


Cell wall digestion



Plant cell

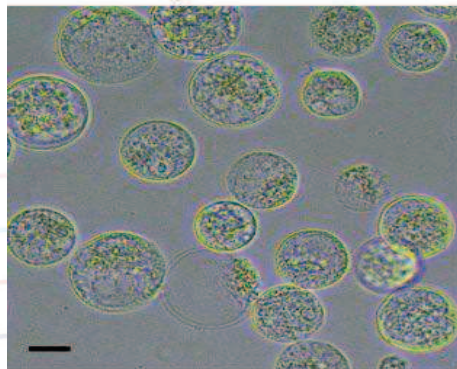
Protoplast



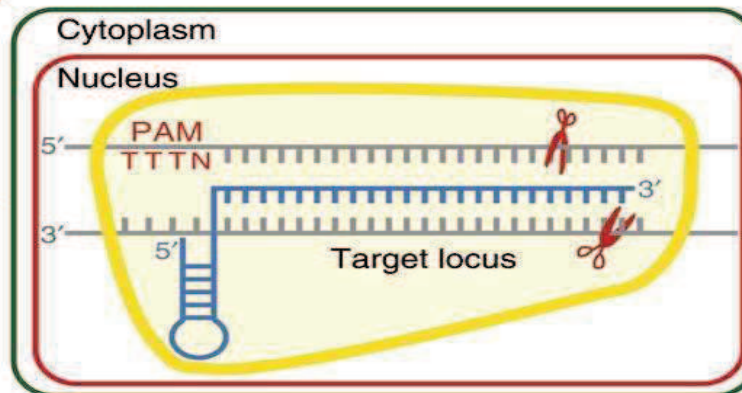
Cpf1-crRNA (RNP) complex

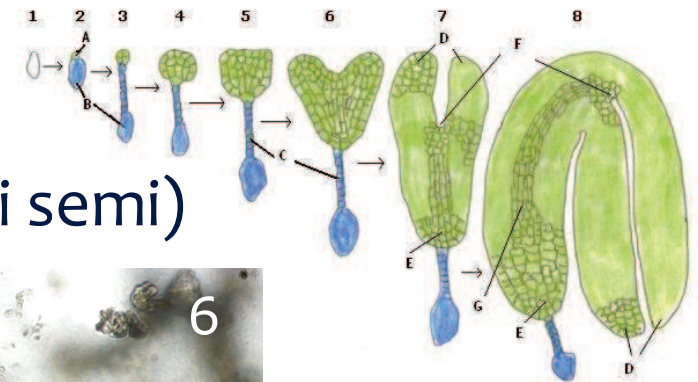


PEG-mediated RNP delivery

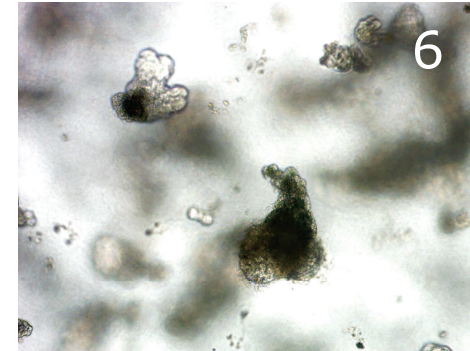
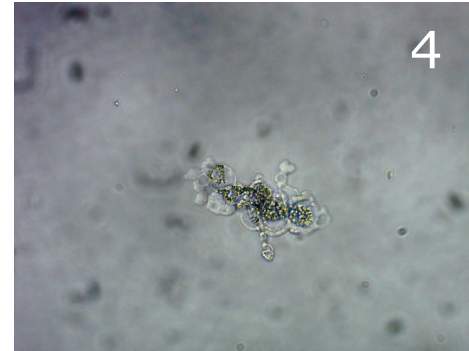
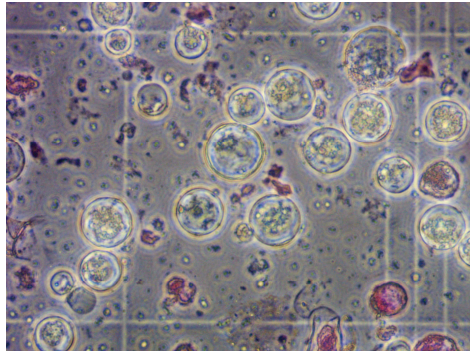


Target genome editing



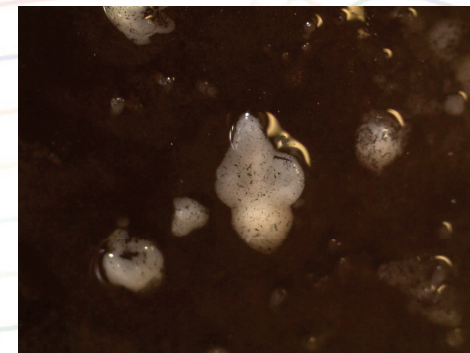
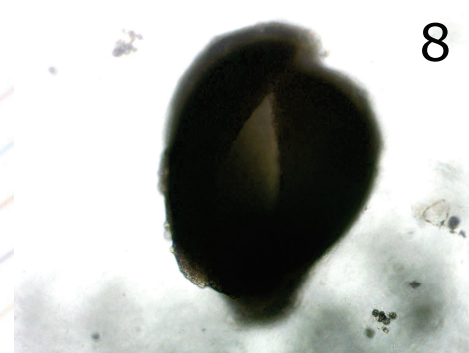
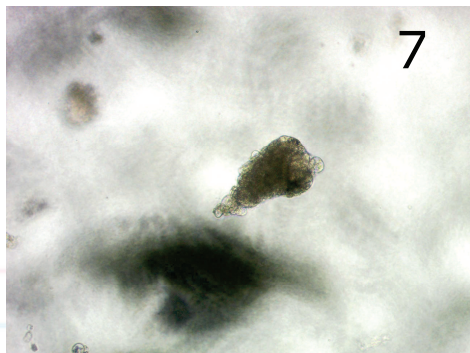


Saranno editati? (AGL11 gene per l'assenza di semi)



Conta dei protoplasti (Chardonnay) Fase globulare (Chardonnay)

Victoria fase a cuore



Chardonnay fase torpedo

Victoria embrioni vitali

Victoria embrioni in sviluppo

Il vuoto legislativo

NON ricadono nella definizione vigente di OGM:

- Piante dove è stato eliminato il DNA transgenico (ma rimane solo il DNA cis-genico)
- Piante dove è stato eliminato il transgene per realizzare il genome editing (ma resta il DNA editato)
- Piante ottenute tramite azione della proteina mutagena e rigenerate post-mutagenesi