



Genetica e genomica

per il miglioramento della sicurezza alimentare della materia prima nella filiera della pasta

Da anni, la Società Produttori Sementi fa ricerca per individuare delle regioni del genoma del frumento che influenzano caratteri di elevato interesse agronomico e qualitativo per la produzione della pasta.

*di **Andrea Demontis***

Società Produttori Sementi di Bologna

Nell'ambito della filiera della pasta ogni miglioramento, in ambito della materia prima, ha elevate ricadute sul prodotto finale in considerazione della sua semplicità. La pasta secca di grano duro si produce, infatti, unicamente con semola ed acqua. Le caratteristiche di sicurezza alimentare, intesa come salubrità (la cosiddetta "safety") della materia prima, hanno

quindi notevoli conseguenze sul prodotto finale.

In ogni caso, anche il processo di trasformazione industriale, che comporta l'eliminazione di alcune frazioni e l'applicazione di temperature relativamente elevate, determina in genere un notevole miglioramento di salubrità del prodotto. Possiamo, quindi, affermare che la pasta è un alimento ad

elevata salubrità, ma, in considerazione del fatto che rappresenta una parte consistente della nostra dieta, è ugualmente giustificata e meritoria ogni azione mirata al miglioramento anche di questi aspetti. La sicurezza, nel caso della materia prima, è prevalentemente legata alla presenza di contaminanti che possono essere dannosi per la salute. Nel caso della pasta

prodotta da frumento duro si annoverano: residui di fitofarmaci, micotossine e metalli pesanti (Silvestri, Pasta e Pastai n° 74/2009). Coltivazione e stoccaggio sono le fasi che determinano i livelli di contaminanti nella materia prima.

Minore impiego di fitofarmaci

L'utilizzo di fitofarmaci in campo deriva dalla necessità di contrastare fattori di stress, cosiddetti biotici, che determinano decrementi di produzione e qualità del prodotto finale. La genetica può fornire un notevole contributo nel ridurre le necessità del loro impiego, in particolare con il miglioramento delle caratteristiche di resistenza ai patogeni delle varietà coltivate. I moderni programmi di miglioramento genetico danno molta importanza a questo tipo di selezione. Nel frumento duro le patologie più importanti sono di origine fungina: Ruggini, la Bruna in particolare (*Puccinia triticina*), Oidio (*Erysiphe graminis*), Septoria (*Septoria tritici*) e Fusariosi del-

la Spiga (*Fusarium spp.*). Le biotecnologie forniscono strumenti molto efficienti ai selezionatori, che, rispetto alle metodiche tradizionali, permettono di selezionare con maggiore precisione ed efficacia. Si tratta di applicazioni basate sui profili molecolari del DNA ed universalmente accettate poiché non prevedono la manipolazione diretta (es. inserimento, silenziamento o la modifica) dei geni, tramite tecniche di ingegneria genetica, i cui prodotti continuano ad essere avversati in ambito europeo.

Nel caso dei marcatori molecolari, metodiche di laboratorio permettono di verificare la presenza delle caratteristiche genetiche desiderate tramite l'analisi del DNA delle piante ottenute con un approccio tradizionale (incrocio tra genotipi diversi). I marcatori molecolari non sono altro che sequenze di DNA che, se presenti in forme diverse ("polimorfiche" per gli addetti ai lavori) nei diversi individui analizzati, consentono

l'identificazione delle piante con i geni desiderati (es. geni che conferiscono resistenza alle malattie). Queste metodiche molecolari si stanno diffondendo rapidamente, permettendo di analizzare con costi e tempi concorrenziali (screening definiti high-throughput) le migliaia di piante utilizzate nei programmi di selezione.

Questo nuovo processo selettivo basato sull'uso dei marcatori molecolari viene definito "selezione assistita da marcatori" (MAS dall'inglese Marker Assisted Selection), in cui la presenza della caratteristica genetica desiderata viene determinata direttamente a livello del DNA (vale a dire del "genotipo"), al contrario della selezione tradizionale che si basa sulla valutazione dei caratteri tramite una analisi del "fenotipo" a livello dell'intera pianta o di sue porzioni.

L'esperienza della Società Produttori Sementi

Da diversi anni, la Società Produttori Sementi SpA di Argelato, nel Bolognese (PSB), è coinvolta in attività di ricerca volte all'individuazione delle regioni del genoma del frumento che influenzano caratteri di elevato interesse agronomico e qualitativo (per la produzione della pasta). Fra questi la resistenza ai patogeni, per i quali l'attività è condotta principalmente con il laboratorio di Biotecnologie Vegetali presso il DiSTA (Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali dell'Università di Bologna) e con il coinvolgimento di diversi Centri di ricerca in Italia ed all'estero. Alcuni risultati importanti sono già stati ottenuti e, per alcuni di questi, è già stata avviata l'applicazione della MAS per il rilascio di varietà migliorate. È il caso, ad esempio, della resistenza alla Ruggine Bruna della varietà Creso che è stata largamente impiegata



Moltiplicazione di isolati di Ruggine Bruna per l'esecuzione degli inoculi artificiali (PSB, Argelato - Bologna). (Foto PSB)

come fonte donatrice in numerosi programmi di miglioramento genetico, non solo in Italia.

La Ruggine Bruna è quella che più frequentemente crea problemi nei nostri areali di coltivazione, sia per la frequenza che per l'intensità degli attacchi, che risultano particolarmente dannosi quando colpiscono organi strategici nella fase di accumulo come la foglia bandiera.

L'identificazione dei geni di resistenza

Nel corso degli anni, sono stati identificati molti geni di resistenza in grado di conferire completa resistenza alla malattia (resistenze verticali o razza specifica).

Purtroppo, la loro efficacia si è rivelata limitata nel tempo, in quanto il fungo è in grado di sviluppare rapidamente nuove forme virulente (foto 1). Più interessanti per il miglioramento genetico sono forme di resistenza parziale (resistenze orizzontali o non razza-specifiche), in genere a controllo genico quantitativo (i cosiddetti QTL, da Quantitative Trait Locus), che sono efficaci nei confronti dei diversi ceppi del patogeno e quindi maggiormente durevoli nel tempo. L'identificazione e la selezione di questi geni ad azione quantitativa è tuttavia molto più complessa ed ardua rispetto ai geni per le resistenze razza-specifiche.

La nuova razza di Ruggine Nera

Il lavoro di selezione per resistenza ai patogeni è, quindi, in continua evoluzione in relazione alla comparsa di nuove razze.

Un caso emblematico è quello della nuova razza di Ruggine Nera (*Puccinia graminis*) UG99 che, isolata per la prima volta in Uganda nel 1999 (da cui deriva l'acronimo "UG99"), si è diffusa rapidamente nei paesi del Corno

d'Africa (Etiopia, Eritrea e Somalia) per poi raggiungere il medio oriente e sconfinare in Siria e Iran. Il patogeno, in Etiopia, ha creato danni molto ingenti alle coltivazioni di grano, in prevalenza tenero, generando allarme presso la FAO e altre istituzioni internazionali, preoccupate per le conseguenze di questa epidemia sulle economie dei Paesi in via di sviluppo. Attualmente, è in corso un grande sforzo per sviluppare conoscenze utili alla selezione di varietà di frumento tenero e duro resistenti a questa nuova razza che si è dimostrata aggressiva verso la maggior parte delle varietà coltivate.

Fra le diverse iniziative, quella di maggior rilievo è la Borlaug Global Rust Initiative (www.global-rust.org), che con un approccio transnazionale, ha sviluppato un gruppo di lavoro permanente, presieduto dal premio Nobel per la Pace N.E. Borlaug (il padre riconosciuto della "Rivoluzione Verde"), che ha come obiettivo quello di affrontare la lotta alle ruggini a livello globale, unendo le competenze di selezionatori e patologi di varie nazionalità.

A questa iniziativa partecipano tra gli altri il Cimmyt e l'Icarda, con cui PSB ha rapporti di collaborazione nell'ambito di progetti di ricerca sul grano duro.

L'Oidio mette a rischio produzione e qualità

Altro patogeno fungino di notevole rilevanza economica per il frumento è l'Oidio, la cui presenza può determinare riduzioni di produzione e qualità, prevalentemente negli ambienti del Centro Nord Italia. PSB e DiSTA hanno ottenuto risultati lusinghieri anche per quanto riguarda l'identificazione dei QTL che conferiscono resistenza orizzontale a questo patogeno.

Sono, infatti, state individuate tre QTL e marcatori molecolari associati, della varietà Claudio, in grado di conferire la resistenza.

Un altro patogeno in grado di determinare notevoli perdite di produzione e qualità è la Settoria che, per il frumento duro, causa danni sempre maggiori nei Paesi del Mediterraneo e richiede trattamenti con fungicidi anche in areali dove in passato erano poco diffusi.

La complessità del controllo genetico della resistenza richiede un lavoro di ricerca articolato che PSB sta portando avanti con il coinvolgimento del DiSTA, del Centro di ricerca internazionale Cimmyt in Messico e dell'Inrat in Tunisia. Importante è il coinvolgimento di quest'ultimo, in quanto la Tunisia è una delle aree dove il patogeno causa maggiori danni alla coltura (foto 2). L'attività prevede anche il coinvolgimento dell'Università di Wageningen in Olanda, per valutazioni in serra con singoli isolati del patogeno. Ci si attende, per i prossimi anni, di ottenere risultati che permettano l'applicazione della selezione assistita anche per questo carattere.

Ridotto contenuto in micotossine

La Fusariosi della spiga è una patologia che ha notevole importanza per la sicurezza (safety) del frumento. Infatti, i contaminanti che ne derivano non si limitano ai residui dei fungicidi impiegati per la difesa, ma anche alla produzione di micotossine che possono dare luogo a gravi patologie acute o croniche nell'uomo.

L'ottenimento di varietà resistenti e soprattutto a ridotto accumulo di micotossine è l'opzione migliore per risolvere il problema. Purtroppo, considerata la scarsità di fonti di resistenza e la complessità della valutazione del

carattere, questo obiettivo è molto difficile da raggiungere.

La genomica ha fornito strumenti molto efficaci che, però, sono stati individuati in frumento tenero ed in frumento duro hanno per ora fornito risultati contrastanti. Considerata la ridotta variabilità per resistenza a FHB nel duro, si sono cercate fonti di resistenza nei progenitori tetraploidi. Ad oggi, comunque, i risultati pronti per l'applicazione della MAS sono alquanto limitati ed è, quindi, necessario un grande sforzo di caratterizzazione fenotipica di accessioni e di mappatura per individuare QTL interessanti e validi ai fini selettivi. Parallelamente è necessario uno sforzo di selezione basata sul fenotipo che richiede l'allestimento di campi sperimentali specifici con sistemi di irrigazione per il

mantenimento delle condizioni ideali allo sviluppo del patogeno ed inoculi artificiali. È, inoltre, necessario disporre di strumenti analitici rapidi e precisi per la determinazione del contenuto in micotossine che permettano di analizzare gli elevati numeri di campioni necessari per la selezione. L'approccio combinato di MAS e selezione sul fenotipo ha comunque consentito l'ottenimento di risultati interessanti (foto 3).

Ridotto assorbimento di cadmio

Fra i metalli pesanti, il cadmio è sicuramente quello che causa maggiori problemi nel frumento, poiché in alcuni areali di coltivazione (es. Nord America) i terreni sono spesso ricchi in questo elemento. Ne consegue un eccessivo accumulo nella granella, fattore

negativo per la salute umana.

Diverse ricerche hanno identificato variabilità genetica nell'assorbimento ed hanno messo in evidenza che il carattere è controllato da un singolo gene dominante.

PSB, DiSTA e Cimmyt hanno individuato marcatori molecolari per questo carattere che si intende applicare nella MAS in una collaborazione con l'Università di Verona con il duplice scopo di mettere a punto un protocollo adatto alla selezione di routine e di validarne l'efficienza.

Possiamo quindi concludere che il miglioramento genetico contribuisce in modo importante al miglioramento della sicurezza alimentare del frumento duro e la genomica sta fornendo ai selezionatori gli strumenti adeguati al raggiungimento di obiettivi sempre più complessi.

