

# **Confronto tra le NBT, le Tecniche Convenzionali di Miglioramento Genetico e le Tecniche di Ingegneria Genetica Classica**

Francesco Loreto e Aldo Ceriotti  
Consiglio Nazionale delle Ricerche

Incontro Tecnico-Scientifico sulle Nuove Tecniche di Miglioramento Genetico in  
Agricoltura  
22 febbraio 2018  
Presidenza del Consiglio dei Ministri  
Roma

# Riassunto

- Elementi comuni a tutte le tecniche di miglioramento genetico
- Classificazione delle tecniche di miglioramento genetico
- Confronto fra le NBT, le Tecniche Convenzionali di Miglioramento Genetico e le Tecniche di Ingegneria Genetica Classica

## Il **miglioramento genetico** di basa sulla

- Scoperta o creazione di **variabilità genetica**
- **Manipolazione** della variabilità genetica per la produzione di piante con nuovi genotipi e fenotipi

**Tutte le tecniche di miglioramento genetico utilizzano la diversità genetica per selezionare o generare piante con le caratteristiche desiderate**

### **Variabilità genetica**

Errori nella replicazione del materiale genetico

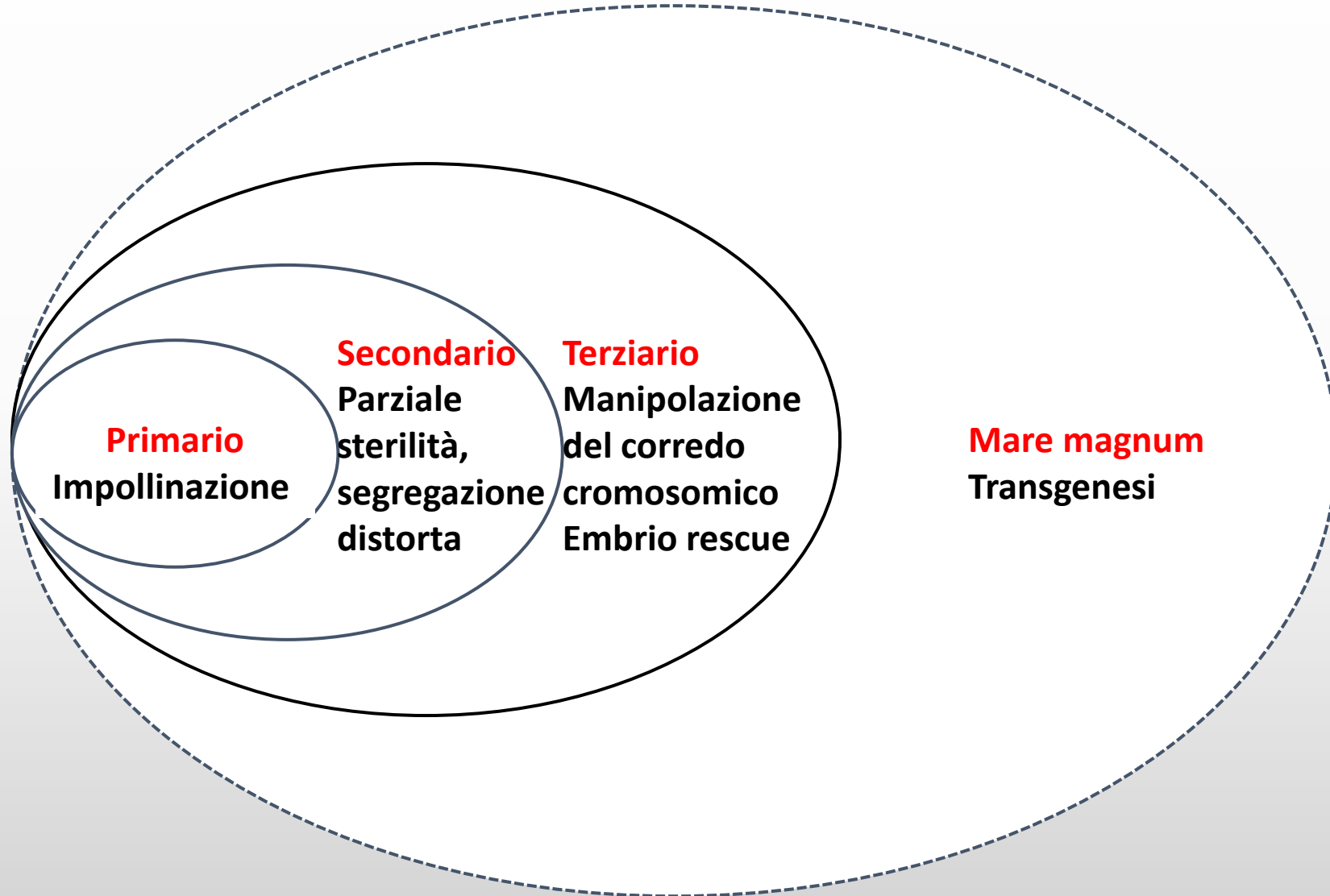
Effetti ambientali (infezioni virali, raggi X, ultravioletti, sostanze chimiche.....)

Mutagenesi (mezzi fisici, chimici, biotecnologici)



**Differenze a livello di fenotipo**

# Variabilità genetica disponibile – gene pools



Le **tecniche di miglioramento genetico** sono state classificate (su base temporale) in:

- Tecniche convenzionali
- Tecniche di ingegneria genetica classica
- Nuove tecniche di miglioramento genetico

**In ogni caso il risultato del miglioramento genetico è la produzione di piante con un patrimonio genetico e un fenotipo modificato rispetto alle piante di partenza**

## **Tecniche convenzionali di miglioramento genetico**

*Tecniche sviluppate precedentemente alle tecniche consolidate di modificazione genetica e che combinano caratteri preesistenti nei parentali*

- Selezione
- Incrocio (genera nuove combinazioni di geni e caratteri) e selezione (anche assistita con marcatori e HT-Phenotyping)
- Embrio rescue
- Ploidie ponte
- Eterosi
- Ibridazione somatica (fusione di protoplasti; ibridi citoplasmatici)
- Mutagenesi (agenti fisici, chimici)
- Induzione di doppi aploidi e poliploidi

## **Tecniche di ingegneria genetica classica (applicate alla trasformazione delle piante)**

*Sviluppate fra la fine degli anni '70 e l'inizio degli anni '80 con la produzione della prima pianta «Transgenica», permettono il trasferimento dell'informazione genetica anche fra specie che sono sessualmente incompatibili*

- Trasformazione mediata da *Agrobacterium tumefaciens*
- Metodo biolistico
- Trasformazione di protoplasti

*In alcuni casi è necessaria una fase di coltura in vitro e la rigenerazione di piante da tessuti somatici (cellule o protoplasti)*



## **Nuove Tecniche di Miglioramento Genetico (NBT)**

*Raggruppa tecnologie anche molto diverse tra loro, sviluppate recentemente e che raffinano ed estendono le tecniche convenzionali e le tecniche consolidate di modificazione genetica*

Genome editing (Mutagenesi con oligonucleotidi; Nucleasi sito-specifiche)

Cisgenesi e intragenesi

Agro-infiltrazione

Modificazioni epigenetiche (Metilazione del DNA RNA-dipendente)

Reverse breeding

## **Nucleasi sito-specifiche**

Causano un taglio su entrambi i filamenti del DNA in una posizione prescelta del genoma

I meccanismi di riparazione (NHEJ e/o HDR) possono portare a

- Mutazioni casuali SDN1
- Mutazioni predefinite SDN2
- Inserimento di grandi frammenti (es un intero gene) SDN3

## Un confronto fra le tecniche di miglioramento genetico: quali parametri?

<b>Identificazione della mutazione</b>	Possibilità/facilità di identificare la presenza di una mutazione e presenza di informazioni sulle sue caratteristiche
<b>Identificazione del processo</b>	Possibilità di identificare gli elementi fondamentali del processo con cui la mutazione è stata generata e introdotta
<b>Effetti non desiderati</b>	Presenza di altre mutazioni; effetti pleiotropici
<b>Presenza di DNA esogeno nel prodotto finale</b>	DNA esogeno: la cui sequenza si è generata al di fuori dell'organismo esaminato
<b>Altre modificazioni del genoma</b>	Presenza di modificazioni in aggiunta a quella desiderata
<b>Efficienza</b>	Laboriosità delle procedure
<b>Rapidità</b>	Tempi necessari per arrivare ad un prodotto commerciabile
<b>Maturità</b>	Numero di cultivar già prodotte; autorizzazioni richieste/concesse; prove di campo

## Sostituzioni, piccole delezioni/inserzioni

	Convenzionali	Ingegneria genetica classica	NBT
	<b>Mutagenesi</b>		<b>SDN1 - SDN2</b>
<b>Identificazione della mutazione</b>	Richiede la caratterizzazione della mutazione (Es. WGS, reference genome)		Facile (in presenza di informazioni)
<b>Identificazione del processo</b>	NO		NO
<b>Effetti non desiderati</b>	SI		Rari (off-target, effetti pleiotropici)
<b>Presenza di DNA esogeno nel prodotto finale</b>	NO		NO (generalmente SI nei prodotti intermedi)
<b>Altre modificazioni del genoma</b>	SI, frequenti		Rare
<b>Efficienza</b>	Alta		Buona (dipende da fase in vitro)
<b>Rapidità</b>	Lenta (richiede numerosi reincroci)		Anche 6-8 anni in meno
<b>Maturità</b>	3200 varietà già ottenute		Richiesta di autorizzazione/Field trials

## Introduzione di un nuovo gene/allele

	Convenzionali	Ingegneria genetica classica	NBT
	<b>Incrocio</b>	<b>Transgenesi</b>	<b>SDN3</b>
<b>Identificazione della mutazione</b>	Facile (se il gene è noto)	Facile (se il gene è noto)	Facile (se il gene è noto)
<b>Identificazione del processo</b>	Generalmente NO	Generalmente SI	Generalmente NO
<b>Effetti non desiderati</b>	SI	Rari (inserzioni multiple - in tandem; effetti pleiotropici)	Rari (off-target; effetti pleiotropici)
<b>Presenza di DNA esogeno nel prodotto finale</b>	NO	SI	Generalmente SI
<b>Altre modificazioni del genoma</b>	SI	Rare	Rare
<b>Efficienza</b>	Alta	Sufficiente	Non nota
<b>Rapidità</b>	Lenta	Veloce	Veloce
<b>Maturità</b>	Usata sistematicamente dal 1900	Numerose varietà commerciali	Fattibilità dimostrata

## Considerazioni sulla sicurezza

La sicurezza di una tecnica non può essere valutata in generale.

I prodotti devono essere valutati caso per caso.

EFSA (2012):

Le «Guidance for risk assessment of food and feed for GM plants» e «Guidance on the environmental risk assessment of GM plants» sono utilizzabili per le piante generate con cisgenesi/intragenesi e Site-Directed Nucleases

«Similar hazards can be associate with cisgenic and conventionally bred plants»

«Novel hazards can be associated with intragenic and transgenic plants»

## Osservazioni finali

Le NBT costituiscono un gruppo eterogeno di tecniche, che devono essere analizzate individualmente

Le NBT non sostituiscono ma complementano le altre tecniche di miglioramento genetico

In diversi casi le NBT permettono di velocizzare il miglioramento genetico rispetto alle tecniche convenzionali

Tutte le tecniche possono produrre «effetti non voluti», non necessariamente dannosi

In generale la frequenza di «effetti non voluti» nel prodotto finale è minore con le NBT rispetto alle tecniche convenzionali

La valutazione della sicurezza può essere effettuata solo caso per caso

Ci si può attendere che piante geneticamente e fenotipicamente simili ma ottenute con tecniche diverse non presentino rischi significativamente differenti

In generale è difficile e spesso è impossibile identificare la tecnica utilizzata per introdurre una modificazione genetica