

**DOMANDE GENETICA**

1. COS'HA FATTO STRAMPELLI?
2. COSA HA FATTO VAVILOV?
3. COSA SONO LINEE, IBRIDI E POPOLAZIONI?
4. COS'E' UN INCROCIO RICOMBINANTE ?
5. COME SI OTTENGONO E SI UTILIZZANO LE LINEE PURE?
6. COS'E' UN INCROCIO CONTROLLATO? *→ selezione negli organismi parentali.*
7. COME SI PRODUCONO GLI OGM? *←*
8. PERCHE' E' IMPORTANTE IL MIGLIORAMENTO GENETICO E IL RINNOVO VARIETALE? *←*
9. COME SI MIGLIORANO LE PIANTE AUTOGAME? *←*
10. COME SI MIGLIORANO LE PIANTE ALLOGAME? *←*
11. COME SI MIGLIORANO LE PIANTE A PROPAGAZIONE VEGETATIVA? *←*
12. COS'E' LA GREEN EVOLUTION?
13. FENOMENO DELL'ETEROSI.
14. COS'E' LA DEPRESSIONE DA INBREEDING? *←*
15. COS'E' LA VARIETA' SINTETICA?
16. COS'E' LA ALLOPOPOLIPLOIDIA? *←*
17. CO'E' LA MUTAGENESI?
18. COS'E' L'EROSIONE GENETICA?
19. QUALI SONO STATE LE PIANTE PIU' MIGLIORATE CON LA MUTAGENESI?
20. QUANDO USO LA MUTAGENESI CHIMICA E QUANDO QUELLA FISICA?
21. QUALI SONO LE COSTITUZIONI VARIETALI?
22. C'E' UNA PIANTAGIONE DI UNA PIANTA A PROP. VEG. TRIPLOIDE, ARRIVA UN PATOGENO, VOI CHE SIETE I RESPONSABILI DELLA PIANTAGIONE COSA FATE?
23. DESCRIVI BREVEMENTE UN PROGRAMMA DI MIGLIORAMENTO GENETICO.

**RISPOSTE GENETICA**

*Cerco di sviluppare grani con rapida maturazione e alto rendimento non obiettivo: evitare la siccità estiva*

- vece di attendere il ciclo vegetativo cerco di sviluppare una rapida maturazione e alto rendimento evitare la siccità estiva*
1. **Precursore della Green Revolution**  
Strampelli è stato un importante genetista italiano e precursore della green revolution. Riuscì a realizzare differenti varietà di frumento, in grado di aumentare le rese di coltivazione. Molte delle sue varietà furono usate fino al XXI secolo. Furono proprio delle varietà di frumento di sua invenzione e successivamente esportate in Messico che diedero il via agli studi sul miglioramento genetico, successivamente chiamato green revolution.  
Selezionò le piante in base alla statura per ridurre il fenomeno dell'altezzamento, in base ad una maturazione precoce per sfuggire alla siccità estiva ed evitare lo stress idrico chiamato "stretta" e in base alla resistenza alla ruggine bruna.
  2. Vavilov era un genetista russo che nel 1916 ha localizzato 8 centri di origine delle piante coltivate girando il mondo, catalogando e studiando le piante che trovava. Durante i suoi studi ha notato che le piante non si sono originate in maniera casuale in tutto il mondo e in ogni località, dove ogni località ha la stessa possibilità di originare nuove piante, ma ci sono dei centri di origine ben definiti. In questi centri di origine c'è la maggior variabilità genetica e biodiversità di quella precisa specie che comprende sia le piante coltivate che gli individui wild, è il posto più antico dove la specie ha avuto il tempo di evolvere e di creare varietà diverse.
  3. **LINEE:** insieme di individui omozigoti a tutti i loci; *Si ottengono lasciando autofecondare le piante*  
**IBRIDO:** frutto dell'incrocio tra due linee pure, può essere a 2, 3, 4 vie.  
**POPOLAZIONE:** insieme di individui che hanno in comune un pool genetico, appartengono alla stessa specie e abitano in un'area definita da caratteristiche ambientali ben definite.

IN GENETICA PER IDENTIFICARE LA PRESENZA DI GENI CONCATENATI, CI SI AVVALLE DI INCROCI TRA INDIVIDUI CHE DIFFERISCONO PER ALMENO DUE CARATTERI GENETICI, ANALIZZANDO LA PROGENIE SI DETERMINA LA FLESS. CON CUI COMPAGNO ALMENO COMBINAZIONI. SI FORMANO CON LA RICOMBINAZIONE GENETICA CHE DICE PROGENIE RICOMBINANTI

4. Un incrocio ricombinante o test cross è un test sperimentale che prevede l'incrocio tra un individuo con fenotipo dominante ma genotipo sconosciuto e un individuo con fenotipo recessivo (che può essere solo omozigote) che ha lo scopo di determinare il genotipo del primo individuo. Se nella prole compare un solo fenotipo significa che il fenotipo dominante di cui non si conosceva il genotipo è omozigote, se invece nella prole compaiono entrambi i caratteri significa che l'individuo è eterozigote.
5. Le linee pure si ottengono in 4 modi diversi: uno usato solo per le piante autogame che è la selezione per linea pura, gli altri possono essere usati sia per le allogame che per le autogame e sono il pedigree o metodo genealogico, la popolazione riunita e la discendenza per singolo seme (SSD).

AUTO

**Selezione per linea pura**: confronto le popolazioni a disposizione per una determinata caratteristica e seleziono la popolazione che più la rispecchia, da quella popolazione seleziono circa 1000 piante tra le migliori. Semino la progenie delle piante selezionate l'anno precedente in fila spiga di 25-30 semi, guardo l'uniformità delle file e tra quelle omogenee vado a selezionare quelle migliori per la caratteristica cercata. Se ripeto questo ciclo per 2-3 anni ho già in mano delle linee pure sulle quali dovrò andare a fare prove di confronto varietale in più anni e in ambienti diversi. Le linee selezionate non sono altro che 1 o 2 due genotipi preesistenti nella popolazione di partenza.

ALLO

**Pedigree o metodo genealogico**: è la procedura più efficace ma anche la più dispendiosa in termini di tempo e soldi. La popolazione oggetto del miglioramento può essere una popolazione preesistente o una popolazione F2 formata da un breve incrocio quando voglio unire le caratteristiche positive di due linee distinte. Utilizzo F2 poiché ho una popolazione segregante per entrambi i parentali.

Metto in campo circa 10000-20000 piante in file alternate a file di piante tester (piante con genotipo diverso ma con caratteristica in esame nota) e raccolgo i semi.

L'anno dopo in F3 semino in fila spiga 25-30 semi di cui selezionerò le migliori piante nelle famiglie migliori.

In F4 semino sempre per fila spiga e selezionerò una singola pianta nelle famiglie migliori e uniformi e 3-5 piante nelle famiglie ancora eterogenee.

In F5 faccio una selezione della progenie ancora per pianta singola per avere una discendenza altamente omozigote.

In F6 raccolgo in massa le progenie che risultano essere le migliori dal confronto con i tester e scarto le linee ancora eterogenee.

Faccio prove di confronto varietale replicate in anni diversi e in posti diversi.

ALLO

**Popolazione riunita o bulk**: è una procedura che viene applicata quando l'ereditabilità del carattere è bassa e quindi si preferisce portare avanti la popolazione in massa senza applicare la selezione fino alla quasi completa omozigosi dei genotipi che la compongono.

In F2 prendo casualmente dei semi e li pianto ripetendo questo procedimento fino a F6, questo procedimento serve per portare all'omozigosi. In F6 inizio a selezionare le spighe e faccio fila spiga dove selezionerò le file migliori, se la varietà della progenie è bassa o nulla si esegue la scelta delle migliori linee, altrimenti si esegue una ulteriore selezione per pianta singola a cui segue l'anno successivo una selezione fra linee.

Faccio prove di confronto varietale replicate in anni diversi e posti diversi.

ALLO

**Discendenza per singolo seme (SSD)**: questa procedura è stata proposta come modifica alla popolazione riunita per ovviare ai problemi causati dalla selezione naturale e all'insufficiente

ca campionamento di genotipi, che sono gli inconvenienti tipici della procedura di miglioramento genetico per popolazione riunita.

Prelevo una seme da ogni pianta della popolazione F2 e ripeto fino a F6 portando avanti ogni genotipo. In F6 faccio selezione per pianta singola e faccio fila spiga selezionando le file migliori. Faccio prove di controllo varietale replicate in anni diversi e in posti diversi.

Le linee pure si utilizzano per produrre ibridi.

6. L'incrocio controllato è un incrocio tra individui, anche di specie diverse, che ha lo scopo di migliorare la specie. Un esempio può essere quando si incappucciano le infiorescenze per non farle contaminare da polline indesiderato. Un altro metodo usato dalle aziende sementiere è quello di usare campi di isolamento per la produzione di ibridi con linee pure femminili demasculate e linee pure maschili, la demasculazione sarebbe la rimozione delle infiorescenze fiorali maschili sulle piante portaseme in modo da eliminare la possibilità di autofecondazione.

7. Gli OGM sono organismi che sono stati modificati geneticamente esclusivamente tramite tecniche di ingegneria genetica ovvero inserendo un gene (sequenza di DNA) all'interno della pianta. Al giorno d'oggi non siamo capaci di modificare un individuo già formato ma sappiamo lavorare sulle cellule, infatti le cellule somatiche delle piante sono totipotenti che significa che possono essere indotte a rigenerare una pianta intera da una sola cellula tramite ormoni che stimolano l'emissione dell'apparato fogliare e radicale.

AUXINE e  
CITOCININE

Una delle tecniche più utilizzate per la produzione di OGM è quella di usare il meccanismo del batterio *Agrobacterium tumefaciens*, il responsabile del tumore detto "galla del colletto", il quale per sopravvivere, tramite trasferimento orizzontale, veicola all'interno delle cellule un gene (T-DNA) che causa la formazione della galla e di sostanze nutritive.

Si disarmo il plasmide del batterio sostituendo al T-DNA il gene di interesse, si infettano i tessuti con i batteri così modificati e il plasmide porterà all'interno della cellula il nostro gene.

A questo punto, siccome non tutte le cellule saranno state infettate, facciamo un piastramento delle cellule su un terreno colturale contenente dei marcatori molecolari (antibiotici o erbicidi) che selezioneranno solo le cellule modificate.

Un'altra tecnica è la tecnica biolistica o shotgun, inizialmente l'inventore di questa tecnica utilizzò un fucile e delle cartucce vere ma modificate contenenti dei micro proiettili di tungsteno o oro rivestiti del DNA da trasferire, le quali venivano sparate sui tessuti da modificare. Sparando sul tessuto, con una certa frequenza i micro proiettili bucano la parete delle cellule trasferendo il DNA. Anche in questa tecnica si procede alla selezione con i marcatori molecolari.

Gli OGM vengono prodotti per diversi scopi, in agricoltura quelli più usati sono la resistenza a erbicidi e agli insetti.

Per quanto riguarda gli erbicidi si è pensato di formare delle piante resistenti al 100% agli erbicidi sistemici come il glifosate, poiché quando si tratta in copertura anche la coltura viene interessata parzialmente dagli effetti dell'erbicida.

- Il glifosate blocca un enzima che produce aminoacidi aromatici e quindi di conseguenza la produzione di proteine. Siccome questo enzima è presente anche nei batteri si sono andate a cercare delle mutazioni che modificano il sito di interazione con l'agrofarmaco. Piastrando i batteri su un terreno contenente glifosate si sono individuate le colonie mutanti e si è trasferito il gene di resistenza alle cellule della pianta ottenendo delle piante resistenti al glifosate.

La resistenza agli insetti si basa sulla tecnologia CRY, che è una proteina tossica per gli insetti prodotta dal batterio *Bacillus thuringiensis* (usato anche nel disciplinare biologico). Questa tossina

4

agisce a livello dell'apparato digerente degli insetti uccidendoli, ma è completamente innocua per l'uomo. Siccome si ha a che fare con un organismo vivente i trattamenti con questo batterio devono essere ripetuti molte volte con evidenti costi allora si è deciso di far produrre la tossina alle piante. Si è preso il gene che codifica per la proteina CRY e lo si è inserito nelle cellule delle piante.

8. Il miglioramento genetico è importante perché ha lo scopo di migliorare il patrimonio genetico delle specie coltivate e allevate dall'uomo al fine di migliorare le loro caratteristiche e permettere ad esempio di fornire una quantità di cibo sufficiente per ridurre i casi di fame nel mondo. Il rinnovo varietale è altresì importante perché ha lo scopo di creare nuove specie resistenti ai patogeni con un migliore adattamento a condizioni ambientali non ottimali (maggiore rusticità), facilmente gestibili dall'agricoltore e con rese di produzione aumentate.

9. Le tecniche per il miglioramento delle piante autogame, oltre all'incrocio, sono: selezione per linea pura, pedigree o metodo genealogico, popolazione riunita o bulk e discendenza per singolo seme. Oltre a queste metodologie con le piante allogame si ricorre frequentemente alla mutagenesi sia fisica che chimica per incrementare la variabilità genetica. FATTO SOPRATTUTTO MUTAGENESI E TRANSGENESI

10. Le tecniche di miglioramento per le piante allogame, oltre all'incrocio, sono: pedigree o metodo genealogico, popolazione riunita o bulk e discendenza per singolo seme. Si può ricorrere anche alla mutagenesi ma è una pratica scomoda poiché, per evidenziare le mutazioni, bisognerebbe fare autofecondazione e quindi insacchettare tutte le infiorescenze.

11. Il miglioramento genetico delle piante a propagazione vegetativa si può fare con diverse metodologie. La prima si usa quando c'è ancora possibilità di avere meiosi ed è l'incrocio, all'interno di questa metodologia possiamo sfruttare il vigore dell'ibrido, la selezione massale ricorrente e il reincrocio. La seconda si usa quando non c'è più possibilità di avere meiosi ed è l'induzione di mutazioni con mutagenesi fisica, chimica e variabilità somaclonale ovvero quando si propaga in vitro si mantiene il callo per un periodo superiore alla normale procedura producendo cellule con mutazioni spontanee. Altre sono la transgenia (trasformazione genetica delle cellule) e l'ibridazione interspecifica ovvero l'incrocio di due specie diverse che da progenie sterile il cui assetto viene raddoppiato per ripristinare la fertilità creando un allopoliploide.

1 → MEIOSI  
↓  
INCROCIO  
vigore dell'ibrido,  
selezione massale e reincrocio  
2 → NO MEIOSI  
↓  
INDUZIONE MUTAZIONI

12. La green revolution, o rivoluzione verde, era una rivoluzione partita negli anni '70, è consistita nell'utilizzo delle moderne pratiche agronomiche quali ad esempio irrigazione, fertilizzazione e meccanizzazione più l'utilizzo di genotipi superiori frutto dell'utilizzo del miglioramento genetico (riso, frumento e mais). Il frutto di tutto questo è stata una grande spinta in avanti delle rese. Uno dei principali esponenti di questa rivoluzione fu Borlaug che mise le basi del miglioramento genetico in Messico. e STRAMPPELLI

13. L'eterosi è l'incrocio tra individui non imparentati, la popolazione prodotta ha un genotipo in cui aumenta la frequenza di eterozigosi, ovvero l'aumento dei loci con alleli differenti per gene per lo stesso carattere. Si associa ad esso il vigore ibrido, ovvero si riscontrano caratteristiche fenotipiche molto vigorose (es. altezza, resistenza alle malattie, fertilità elevata, ecc) che non sono la media delle caratteristiche dei genitori ma molto di più.

14. La depressione da inbreeding è l'effetto contrario del vigore dell'ibrido. Si presenta quando diminuisce la variabilità genetica e quindi quando gli individui che si riproducono hanno genotipi affini. Con la depressione da inbreeding si ha un aumento delle malattie genetiche e dell'omozigosi.

Individui più piccoli

5

15. Una varietà sintetica è una popolazione ottenuta a partire da parentali noti, si usa per quelle colture per le quali la produzione di semente ibrida è troppo costosa come ad esempio le foraggere. Ne esistono di diversi tipi più dalle più semplici alle più complesse, la più semplice da produrre è l'F2: seleziono le linee pure, incrocio e ottengo una popolazione ibrida, la metto in campo e raccolgo F2. Da pochi individui arrivo a raccogliere un'enorme quantità di semente.
16. L'alloploidia è un tipo di poliploidia derivante da un raddoppiamento del corredo cromosomico dopo l'ibridazione fra due specie diverse ma affini. Incrociando due individui di specie diverse si ottiene una F1 sterile e quindi raddoppiando il corredo cromosomico si ripristina la fertilità.
17. La mutagenesi è l'insieme dei processi chimico-fisici che portano a una mutazione. Gli agenti possono essere chimici o fisici (radiazioni). Si parla di mutazioni quando si ha a che fare con una modifica della sequenza nucleotidica, non tutte le mutazioni producono mutanti ovvero individui con fenotipo mutato, ma la maggior parte di esse non portano fenotipi visibili. Una mutazione per essere tale deve presentarsi nella popolazione con una frequenza inferiore all'1%, in caso contrario si parla di polimorfismi. Normalmente dato un assetto base di un individuo, nella maggior parte dei casi, se ci sono cambiamenti questi risultano penalizzanti rispetto alla fitness dell'individuo; non a caso si parla di malattie genetiche "rare" che sono quasi sempre a carico di geni grandi poichè più è grande il gene e più è facile che si rompa.
18. L'erosione genetica è la perdita di variabilità genetica ovvero la progressiva scomparsa di genotipi, il concetto di conservazione della bio e agrodiversità è relativamente nuovo infatti in passato si scartavano tutte le varietà la cui produzione era messa in secondo piano da nuove varietà molto più produttive senza aver cura di conservarle. Infatti in alcuni casi si è perso completamente il germoplasma originale, gli effetti deleteri del restringimento della base genetica stanno diventando sempre più evidenti, specie per le ripercussioni che essi hanno nelle relazioni tra coltura e patogeni. Da circa 20 anni per combattere questo fenomeno sono state istituite le banche di germoplasma o banche del seme dove sono conservate tutte le specie e le varietà di piante: varietà o cultivar attuali; cultivar obsolete; specie selvatiche, spontanee ed erbacee; stock genetici speciali; mutanti.
19. Sono state le piante autogame perché nelle piante allogame, ad esempio il mais, l'autofecondazione, necessaria per far emergere le mutazioni poichè la maggior parte sono recessive, deve essere fatta manualmente insacchettando ogni pianta mentre nelle piante autogame l'autofecondazione è naturale e non c'è bisogno di insacchettare. Oltretutto la variabilità genetica nelle piante autogame è più bassa che nelle allogame e quindi si ricorre alla mutagenesi per cambiare le caratteristiche, nelle allogame si può risolvere tramite incrocio poichè la variabilità nelle loro popolazioni è naturalmente alta.
20. Uso la mutagenesi fisica quando ho a che fare con propaguli grandi come bulbi, tuberi e grandi semi poichè i prodotti chimici, usati in soluzione, penetrerebbero solo per pochi millimetri nel propagulo invece con le onde elettromagnetiche si riesce a penetrare in profondità. La mutagenesi chimica va usata con piccoli propaguli come polline e piccoli semi. Con la mutagenesi fisica vado a rompere i cromosomi mentre con quella chimica si tratta principalmente di mutazioni geniche (ad eccezione per i poliploidi triploidi per i quali si usa la colchicina). Se voglio mutagenizzare un poliploide devo avere alti livelli di energia e quindi utilizzo mutagenesi fisica, per i diploidi uso la mutagenesi chimica.

$$2n + 4m = 3n + 2 = 6n \text{ fertile}$$

MUTAZIONE

Popolaz. &lt; 1%

POLIMORFISMO

Popol. &gt; 1%

Autogame

Allogame



21. Le costituzioni varietali sono: costituzioni omozigoti, costituzioni eterozigoti e piante a propagazione vegetativa. Le costituzioni omozigoti si dividono in:

GENET. UNIFORMI  
GENET. ETEROGENE

- geneticamente uniformi o monolinea che sono quelle costituzioni usate prima della green revolution, i semi erano tutti uguali (omozigoti). Con gli studi effettuati successivamente si è capito che questo tipo di costituzione era molto suscettibile a patogeni, avendo un solo genotipo si rischiava di perdere tutto il campo.
- Geneticamente eterogenee o multilinea sono le costituzioni formate dopo la green revolution. Quando si produce semente è meglio costituirle da un gruppo di linee diverse (anche 10 o 15) che sono simili sia fenotipicamente che come background genetico

Le costituzioni eterozigoti si dividono in:

VARIETA' LIB.  
VARIETA' IBRIDE

- Varietà a libera fecondazione o in equilibrio tra cui troviamo gli ecotipi, che sono quelle popolazioni differenziate da altre della stessa specie come risultato di una risposta adattativa alla selezione naturale esercitata in una determinata situazione ambientale. Sono caratterizzate da frequenze geniche in grado di conferire il massimo adattamento alle condizioni locali. Sono poco utilizzate ma preziose per la biodiversità. Le varietà ottenute per selezione massale e le varietà sintetiche sono altre costituzioni eterozigoti.
- Varietà ibride 2,3,4 vie

22. La pianta coltivata è sterile, non c'è possibilità di meiosi e quindi posso ricorrere solo alla mutagenesi e alla transgenia. Un'alternativa è quella di tornare indietro ai parentali  $2n$  e formare una nuova varietà, tramite incroci, che sia resistente al patogeno da portare in  $3n$  per avere la sterilità ovvero l'assenza di semi come nella piantagione colpita. Propagherò il triploide per propagazione vegetativa.

23. Data una pianta sulla quale voglio fare miglioramento genetico come prima cosa vado ad assicurarmi di avere delle fonti di variabilità genetica (senza variabilità genetica non può esserci miglioramento) che possono essere naturalmente presenti all'interno della popolazione della pianta oppure nelle banche di germoplasma, se non ho variabilità genetica posso usare mutagenesi per crearla. Dopodiché, in base al tipo di pianta e all'eventuale trattamento per avere variabilità genetica, per avere ricombinazione posso ricorrere all'incrocio e all'autofecondazione oppure ad altri metodi biotecnologici. Una volta avvenuta la ricombinazione seleziono solo gli individui migliori in base alla caratteristica per cui sto facendo miglioramento genetico ad esempio attraverso analisi con marcatori molecolari, prove agronomiche o prove di resistenza a malattie.

4 Quando sono sicuro di aver selezionato una varietà migliore di quella iniziale posso iscriverla al registro varietale, inserirla nelle banche di germoplasma come risorsa genetica e iniziare a produrre semente certificata per la commercializzazione. Per l'iscrizione al registro varietale devono essere accertate la stabilità, la differenziabilità e l'uniformità della varietà. Non possono esserci fuori tipo.