

Miglioramento genetico del mais: scopi e metodi



Prerequisiti e obiettivi

Prerequisiti

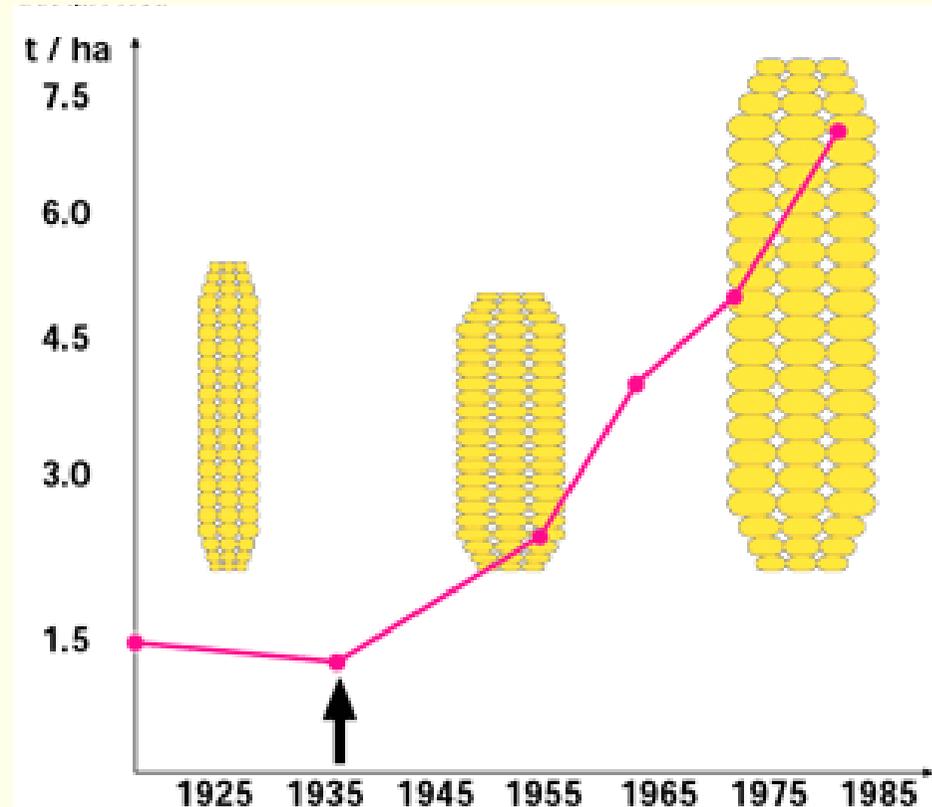
- Conoscenza della biologia fiorale del mais
- Concetto di fenotipo e genotipo
- Genetica mendeliana

Obiettivi

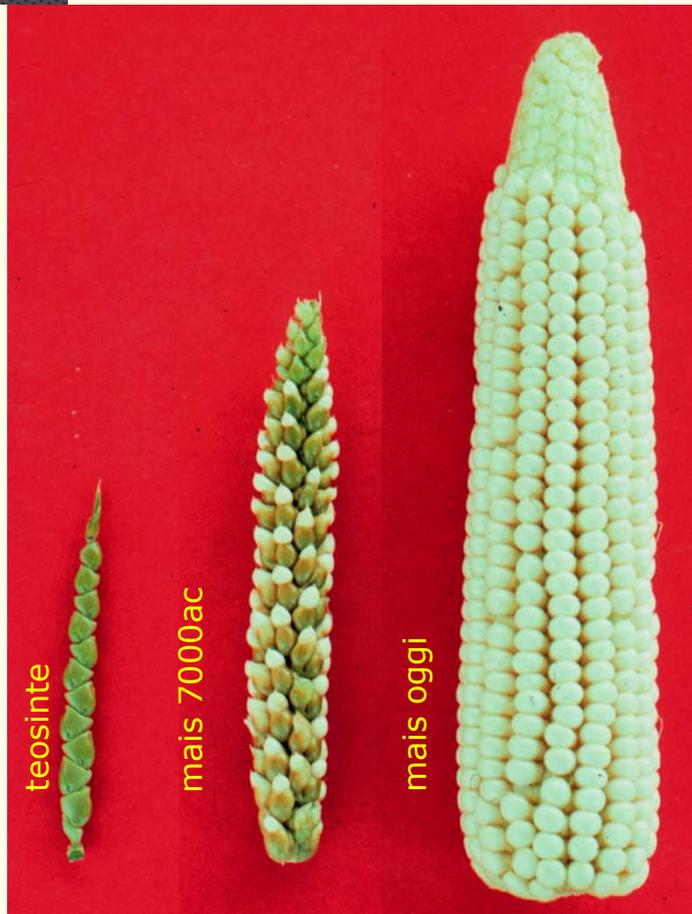
- L'ottenimento delle linee pure
- Il significato degli ibridi F1
- Conoscere i metodi di miglioramento genetico nelle piante allogame

Importanza del miglioramento genetico

- Pianta agraria sulla quale il miglioramento genetico ha trovato la sua più grande affermazione
- Il miglioramento genetico ha determinato incrementi di resa di circa 50 kg/ha/anno con punte di 100 kg/ha/anno



Gli ancestrali di *Zea Mais* L.: il teosinte



(C) 2004 Marco Lambruschi

Il teosinte



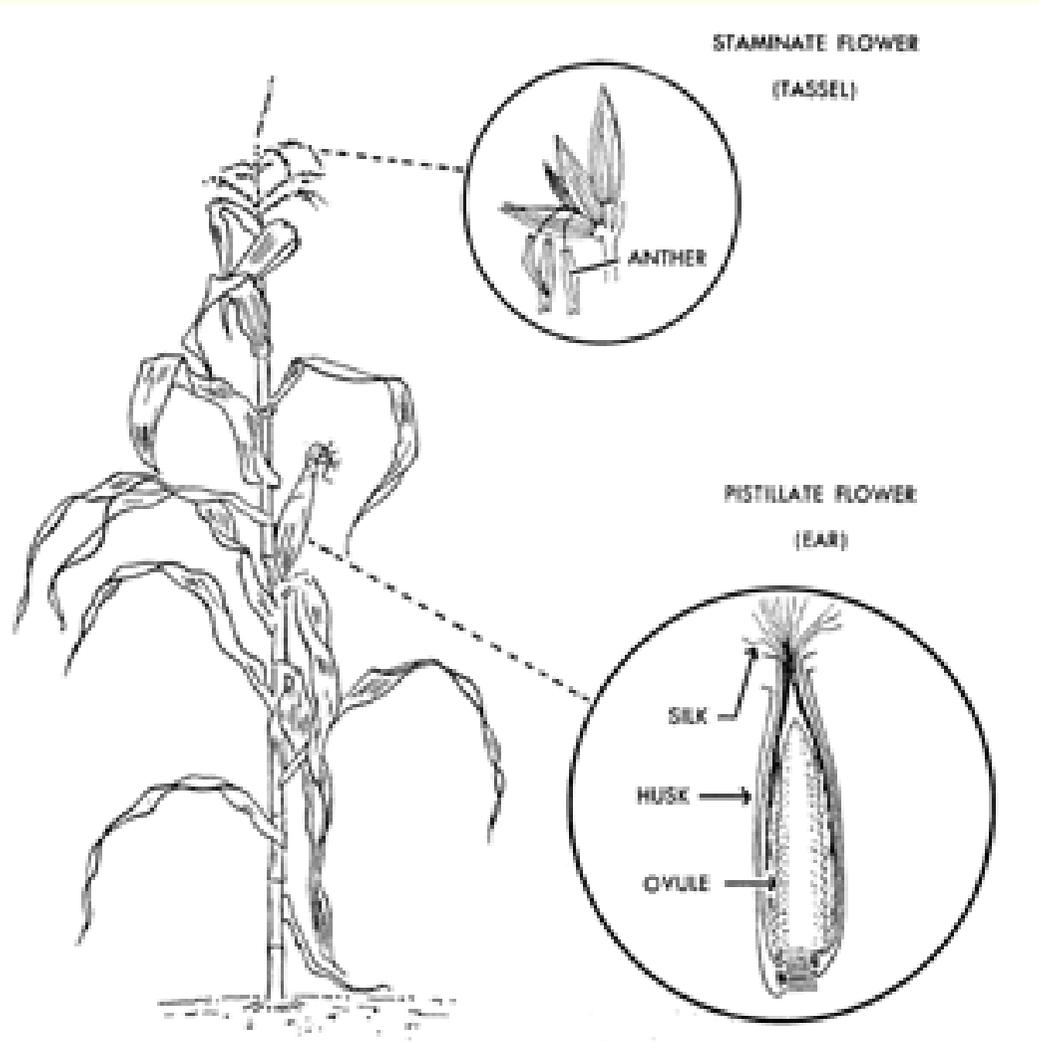
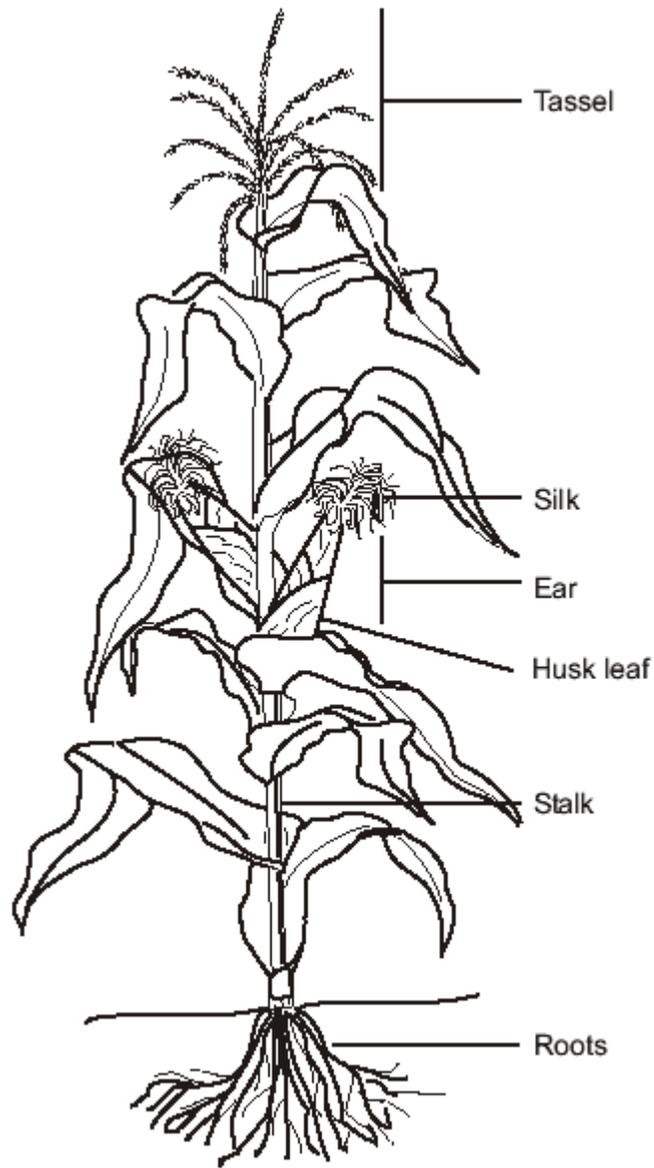
Il teosinte è ancora oggi diffuso allo stato spontaneo nell'America Centrale



Biologia fiorale

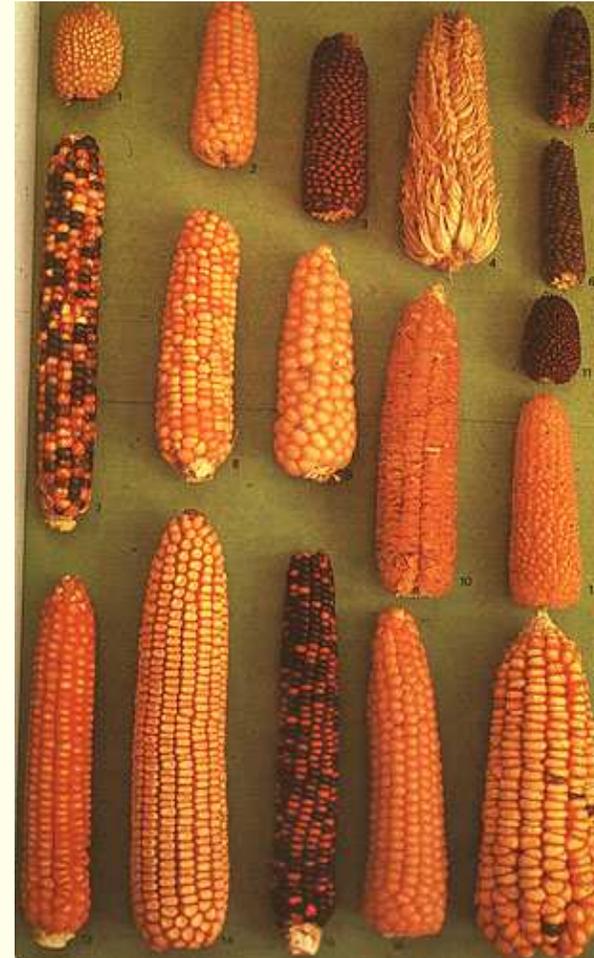
- # Il mais è una pianta [monoica] e proterante
- # La fecondazione è quasi esclusivamente incrociata
- # Le popolazioni naturali di mais hanno una struttura genetica completamente eterozigote
- # All'interno di una popolazione in pool genico rimane costante (legge Hardy-Weinberg)





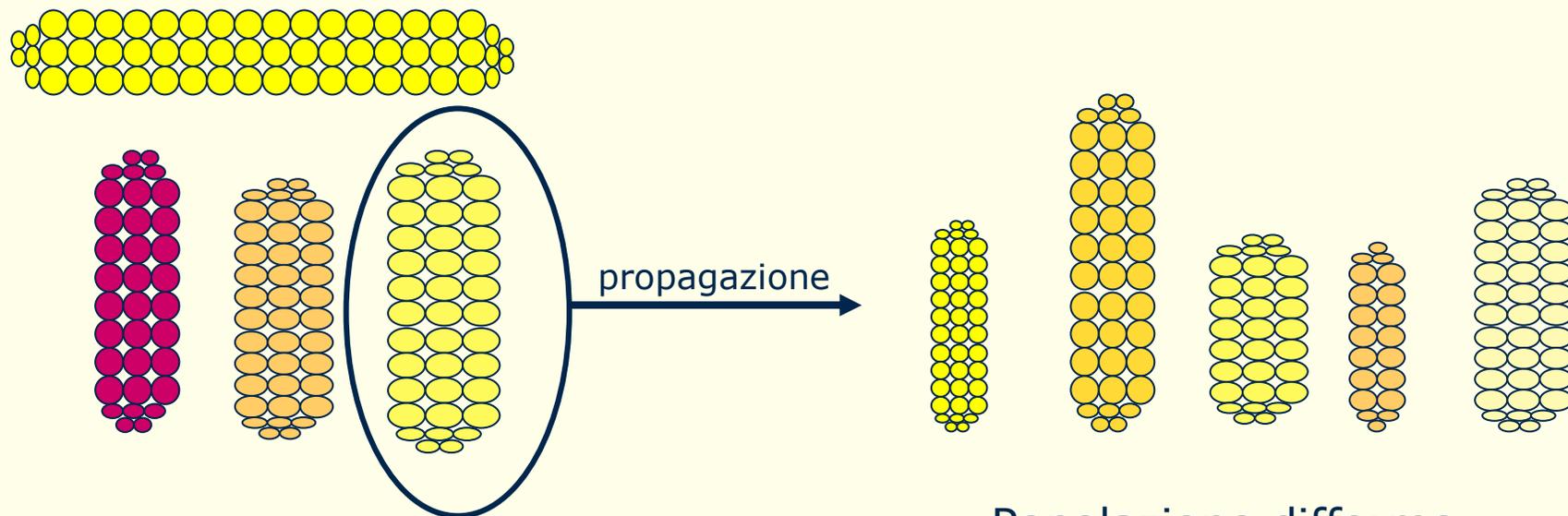
Selezione massale

- # I primi tentativi di selezione (10.000 ac-1910 dc) si sono basati sulla **selezione massale** ovvero **fenotipica**
- # Venivano scelte in base al **fenotipo** le spighe che presentavano certe caratteristiche per poi propagarle



Selezione massale: gli ecotipi

- L'insuccesso della selezione massale è dovuto al fatto che a causa della natura eterozigote del mais la selezione di un fenotipo non è necessariamente identica a quella del genotipo



Selezione
fenotipica

Popolazione difforme

Gli ecotipi

- Con la selezione massale sono stati costituiti gli **ecotipi** ovvero una popolazione eterozigote che presenta un certo numero di caratteri di interesse (principalmente resistenze)



Gli ibridi

- Il concetto di ibrido è stato introdotto indipendentemente dai genetisti americani East e Shull nel 1909



(C) 2004 Marco Lambruschi

Before the field of genetics was invented

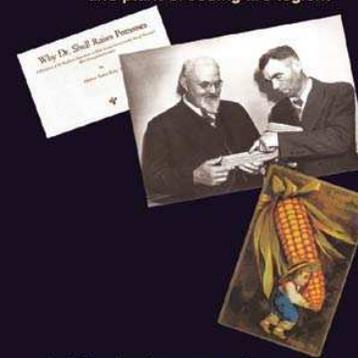


George H. Shull mopped floors at Antioch College to earn his living expenses and his tuition was covered by the Jay Fund. He maintained a 97 percent average throughout his four years on campus while serving as head janitor, engineer and college plumber.

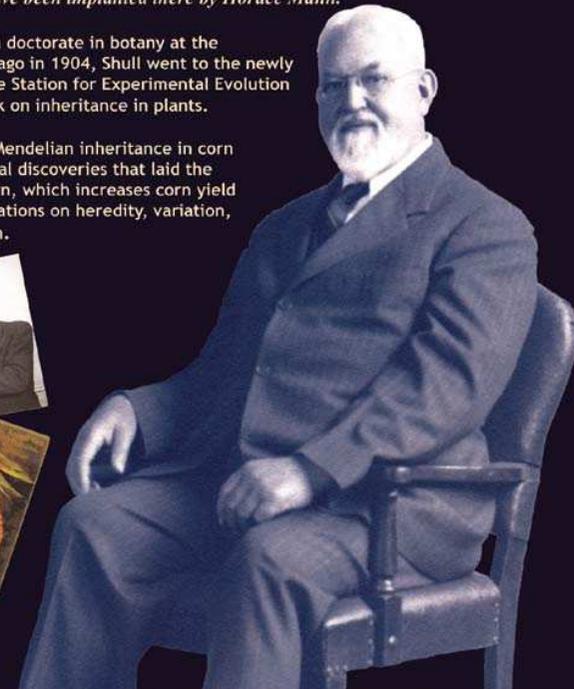
The Antioch spirit was the heart of our life there as undergraduates and we prized it more than anything else our Alma Mater gave us. It must have been implanted there by Horace Mann.

After earning a doctorate in botany at the University of Chicago in 1904, Shull went to the newly established Carnegie Institute Station for Experimental Evolution at Cold Spring Harbor to work on inheritance in plants.

A demonstration project on Mendelian inheritance in corn led Shull to make fundamental discoveries that laid the scientific basis for hybrid corn, which increases corn yield 15 to 20 percent. His publications on heredity, variation, and plant breeding are legion.



An Ohio native who grew up on farms, George Shull and his six siblings all worked their way through college and had successful careers in the arts and sciences.



George H. Shull (1874-1954)

Class of 1901

Definizione di ibrido

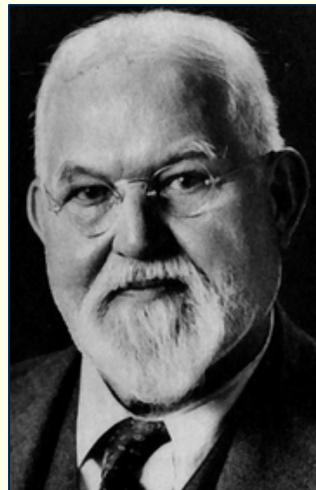
- # In termini **agronomici** un ibrido è un incrocio derivato da due linee pure o da due ibridi
- # In termini **genetici** ibrido di mais è la prima generazione (F_1) di un incrocio di linee pure



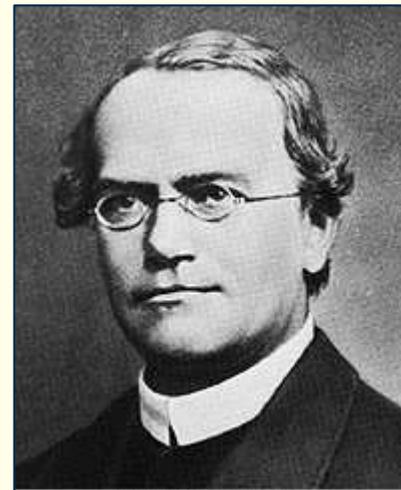
Le osservazioni di East e Shull

1. Le piante di una popolazione naturale di mais sono **eterozigoti** perché frutto di fecondazione incrociata
2. Non è possibile dedurre il genotipo in base al fenotipo (perché eterozigoti)
3. Le piante di mais sottoposte forzatamente ad autofecondazione ("**inbreeding**") tendono allo stato omozigote ovvero a generare **linee pure** o **linee inbreed**
4. Le linee pure omozigote presentano la degenerazione da inbreeding ovvero scarso vigore e produttività
5. L'incrocio di due linee inbreed a buona attitudine combinatoria determina il lussureggiamento degli ibridi o **eterosi**: gli individui di prima generazione (F_1) sono superiori ai genitori per qualsiasi carattere misurabile

- # Tutte le osservazioni di East & Shall possono essere spiegate con le leggi di Mendel...vediamo come



George Harrison Shull



Gregor Mendel

Ottenimento linee pure

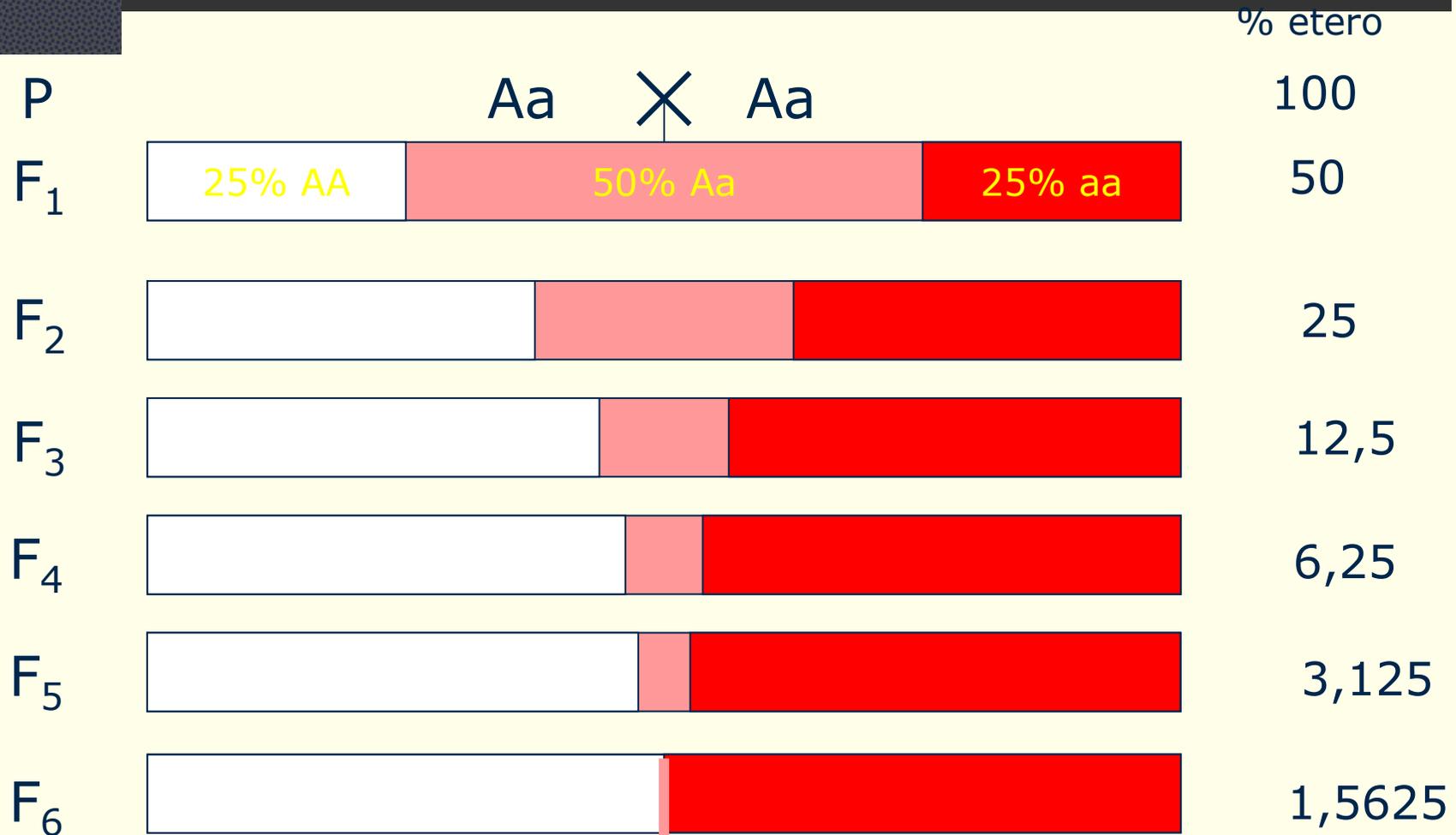


perché facendo autofecondare una pianta eterozigote si ottengono linee pure (linee inbreed)?

...semplice, ad ogni autofecondazione il numero di eterozigoti nella popolazione si dimezza come dice la 2^o legge di Mendel)



Ottenimento linee pure



Degenerazione da inbreeding

...perchè le linee **linee inbreed** presentano scarsa vigoria e produttività rispetto alle linee eterozigoti da cui sono stati ottenuti?

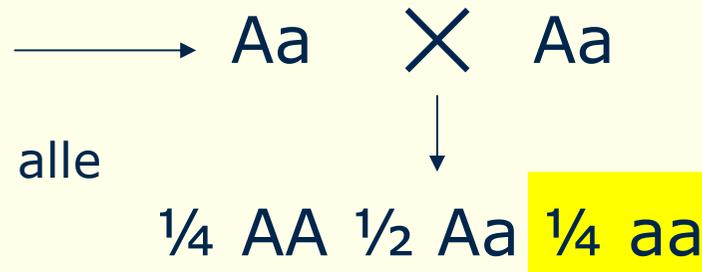


Con il processo di autofecondazione (inbreeding) i caratteri recessivi in omozigosi si esprimono determinando un peggioramento della vigore e della produttività



Ottenimento linee pure

Individui
eterozigoti
resistenti
avversità



A=resistente
a=sensibile

linea pura sensibile alle avversità:
Scarso vigore

Eterosi



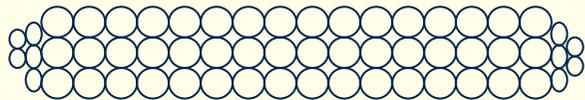
...perchè L'incrocio di due **linee inbreed** a buona attitudine combinatoria determina individui (ibridi) con caratteristiche migliori a quelle dei genitori?



Per il fenomeno noto in genetica con in nome di **eterosi** o **lussureggiamento degli ibridi**

Eterosi

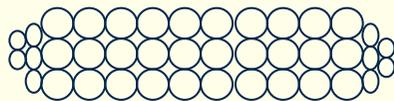
Gene 1: lunghezza della spiga Gene 3: dimensioni delle cariossidi



A



C



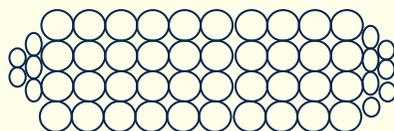
a



c

Gene 2: numero delle file

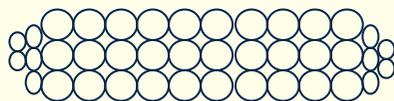
Gene 4: colore delle cariossidi



B



D



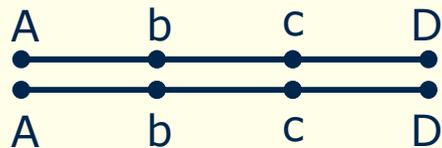
b



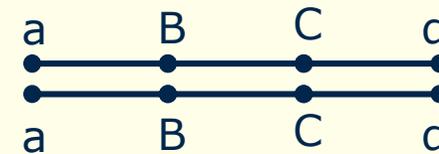
d

Eterosi

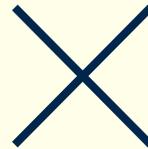
linea pura A



linea pura B



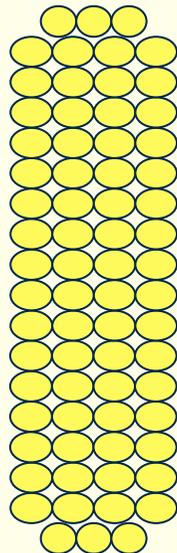
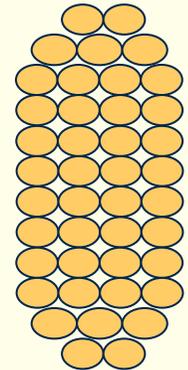
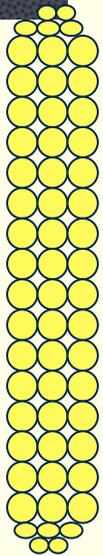
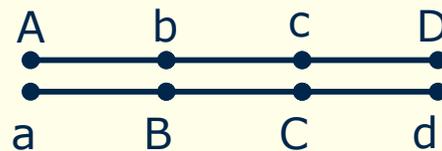
gamete A



gamete B



ibrido AxB



A=spiga lunga
 a=spiga breve
 B=4 file di granelli
 b=3 file di granelli
 C=cariossidi grandi
 c=cariossidi piccole
 D=colore giallo
 d=colore arancio



Linea A

Ibrido AxB

Linea B

(C) 2004 Marco Lambruschi

Tipologie di ibridi

- Dal punto di vista **genetico** gli ibridi di mais vengono classificati in base al numero di linee inbreed utilizzate per la loro costituzione in
 - **Ibridi semplici** o a due vie (da due linee inbreed)
 - **Ibridi a tre vie** (tre linee inbreed)
 - **Ibridi doppi** o a quattro vie (da 4 linee inbreed)



Le fasi costitutive di un ibrido

1. Ottenimento delle linee inbreed (pure)
2. Valutazione dell'attitudine combinatoria
3. Produzione del seme ibrido
 1. Moltiplicazione e conservazione delle linee inbreed
 2. Incrocio delle linee pure
4. Raccolta e lavorazione del seme ibrido



Le fasi costitutive di un ibrido

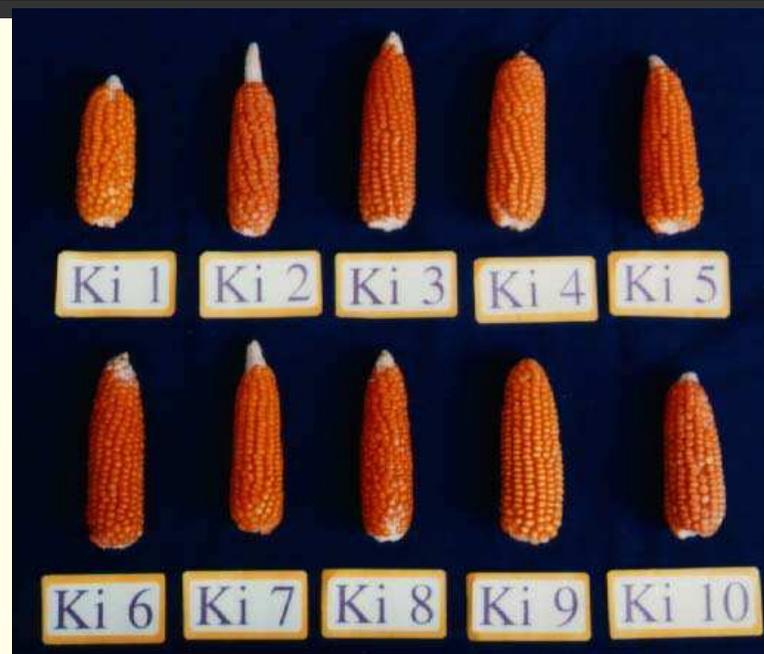
ottenimento e selezione delle linee pure

- # **Autofecondazione** ripetuta (5-7 anni) di popolazioni con caratteri interessanti (resistenza, produttività, adattamenti all'ambiente)
- # L'autofecondazione "manuale":
 - copertura con sacchetto di plastica dell'infiorescenza femminile prima dell'antesi
 - raccolta del polline maschile con sacchetto di plastica
 - trasferimento del polline raccolto sull'infiorescenza femminile
 - protezione dell'infiorescenza femminile con un sacchetto per proteggerla da impollinazioni indesiderate
- # selezione delle linee che presentano caratteri di interesse

Le fasi costitutive di un ibrido

valutazione dell'attitudine combinatoria

- Le linee pure ottenute vengono incrociate secondo diversi "pattern" in modo da verificarne l'attitudine combinatoria
- Con l'incrocio delle linee pure grazie al fenomeno dell'eterosi viene ripristinato il vigore
- Se la combinazione risulta interessante si passa alla produzione del seme ibrido con le linee selezionate



	Ki2	Ki3	Ki4
Ki7	☺	☹	☹
Ki10	☹	☺	☹





Le fasi costitutive di un ibrido

la produzione del seme ibrido

- Moltiplicazione e conservazione delle linee "inbreed" costitutive
 - in campi isolati (almeno 200 metri) per evitare l'inquinamento con polline estraneo
- Produzione dell'ibrido.
 - In un campo isolato per evitare l'inquinamento con polline estraneo
 - semina delle linee parenti a file alternate in rapporto 1:1 (ma a file 2:2/3:3 per ragioni logistiche)
 - la linea più produttiva funge da portaseme ("femmina") viene "demasculata" manualmente prima della deiscenza delle antere
 - possibilità di impiego di linee "maschiosterili" (eredità citoplasmatica)
 - La linea meno produttiva funge da impollinatore ("maschio")

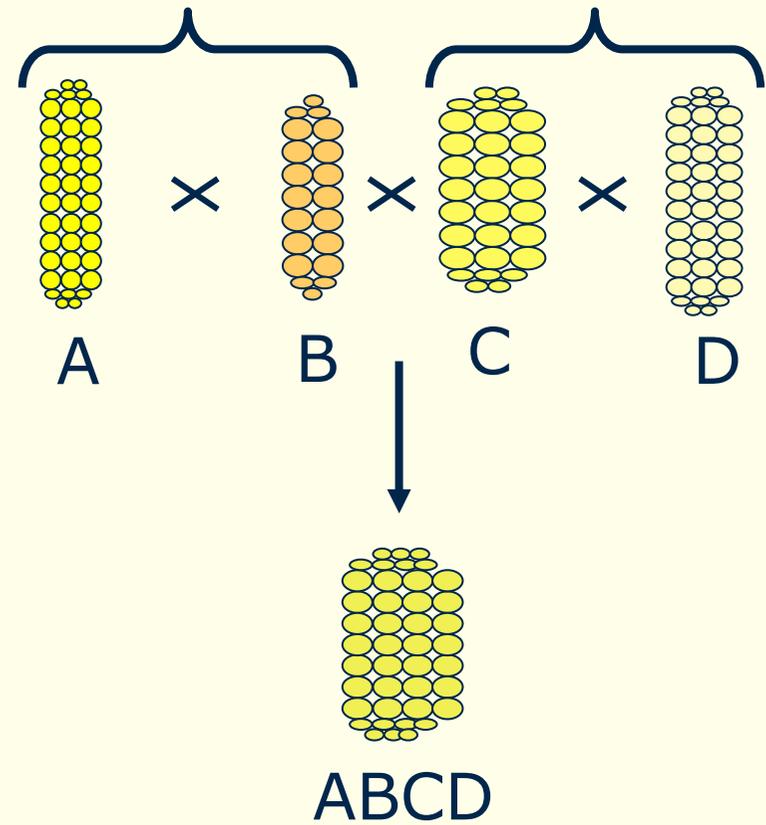
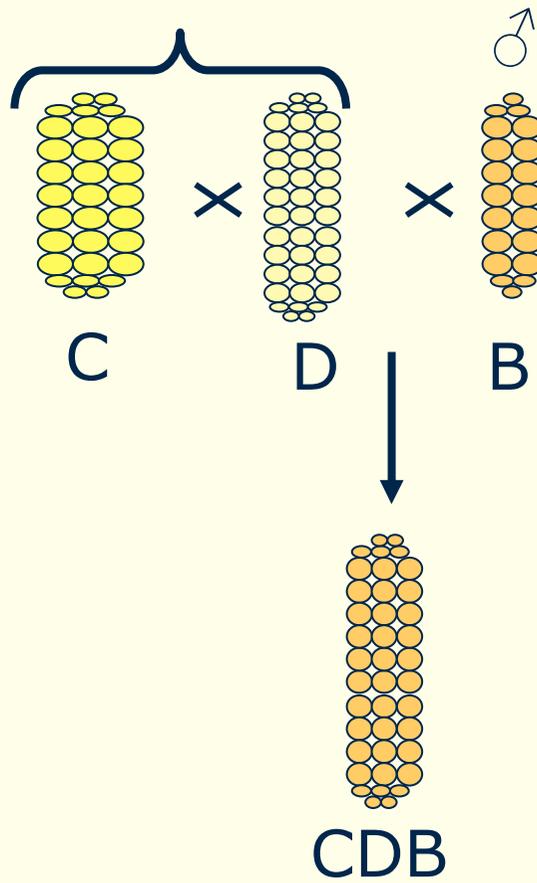
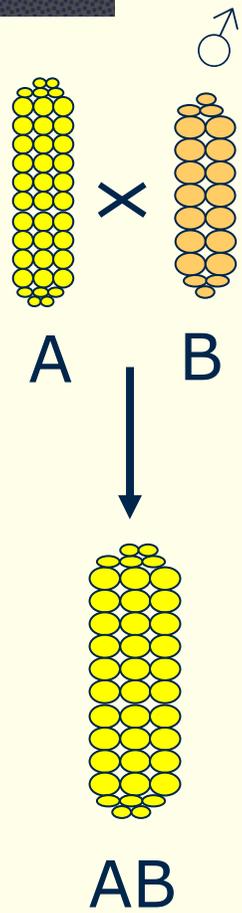
Tipologie di ibridi

ibridi semplici o "a due vie" (single cross)

- # Ottenuti dall'incrocio di due linee pure
- # Sono gli unici veri "ibridi" in senso genetico (sono la F1)

CARATTERISTICHE

- # Max uniformità=individui tutti uguali (I legge di Mendel)
- # popolazioni meno adattabili all'ambiente
- # Sono costosi ma presentano la max eterosi
 - scarsa produttività delle linee inbreed
 - produzione del seme sul 50% delle piante coltivate
- # Necessità di acquistare seme ibrido ogni anno: nella F2 i caratteri segregano (II legge di Mendel)



Tipologie di ibridi

ibridi "a tre vie"

- # coinvolgono 3 linee pure a buona attitudine combinatoria (A,B,C)
- # Ottenuti dall'incrocio di un ibrido (F1) con una linea pura
- # rapporto portaseme: impollinante (1:3)

CARATTERISTICHE

- # Presentano un costo più basso
 - l'ibrido F1 molto produttivo funge da portaseme
- # Presentano una minore eterosi ed una minore uniformità rispetto agli ibridi semplici

Tipologie di ibridi

ibridi doppi o "a quattro vie"

- ▣ coinvolgono 4 linee pure a buona attitudine combinatoria (A,B,C,D)
- ▣ Ottenuti dall'incrocio di due ibridi semplici (F1)
 $[A \times B] \times [C \times D]$
- ▣ rapporto portaseme: impollinante (1:3)
- ▣ Presentano un costo molto basso perché entrambi i genitori sono ibridi produttivi

CARATTERISTICHE

- ▣ Bassi costi di produzione
- ▣ Presentano scarsa eterosi e scarsa uniformità
- ▣ Ampia base genetica, adatti alle realtà più difficili dove minore è l'impiego di mezzi agronomici (fertilizzanti, fitofarmaci)

Tipologie di ibridi

varietà sintetiche o poliibridi

- coinvolgono numerose linee inbreed (8-16) che vengono fatte impollinare liberamente

CARATTERISTICHE

- Bassi costi di produzione
- Presentano scarsa eterosi e scarsa uniformità
- base genetica molto ampia, adatti alle realtà più difficili dove non esiste un'industria sementiera efficiente e/o le condizioni economiche che consentano l'acquisto del seme ogni anno
- possono essere riseminate per un certo numero di anni (8-10) mantenendo le caratteristiche desiderate

Confronto tra le diverse tipologie di ibridi

	Due vie	Tre vie	Quattro vie	Varietà sintetiche	ecotipi
n° linee coinvolte	2	3	4	8-16	?
Eterosi	****	***	**	*	*
Adattabilità	*	*	**	***	****
Costo semente	****	***	**	*	*
Possibilità di risemina	no	no	no	si	si

****=alto ***=medio **=basso *=scarso

Raccolta e lavorazione del seme ibrido

- Raccolta manuale o meccanica con raccogli-sfogliatrici delle singole spighe
- Sfogliatura manuale
- cernita delle spighe
- essiccazione delle spighe (max 40°C per non comprometterne la germinabilità)
- sgranatura e prepulitura
- calibratura in base alla forma (tondo, piatto) e alla dimensione per potere impiegare con efficacia e regolarità la seminatrice di precisione
- concia per proteggere le cariossidi da crittogame e insetti
- confezionamento in sacchi da 25-50-75 "mila dosi"



Obiettivi del miglioramento genetico

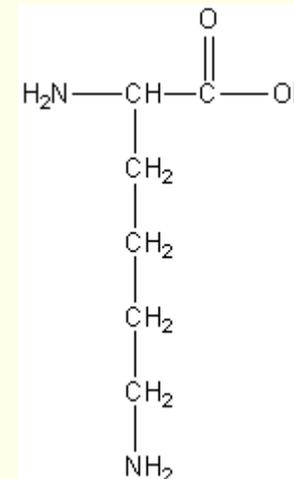
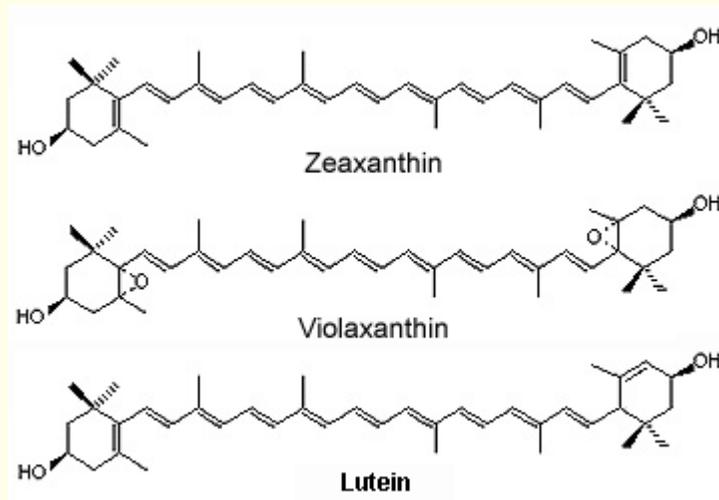
- # Miglioramento caratteri
 - Quantitativi
 - Qualitativi

Miglioramento genetico: caratteri quantitativi

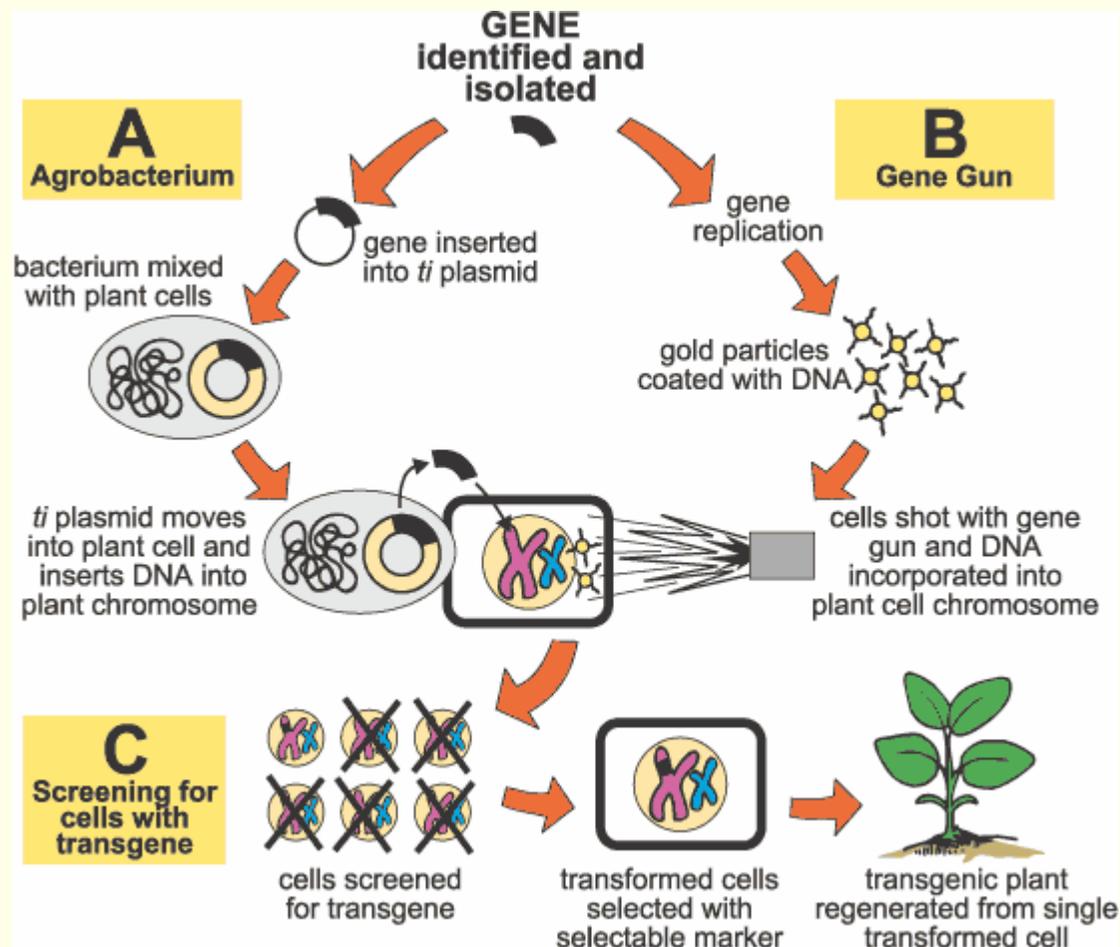
- # Caratteri quantitativi: **produttività** → carattere troppo generale perché risultante di tanti altri caratteri (polifattoriale)
 - **morfologici** (es. lunghezza spiga),
 - **fisiologici** (es. Ef)
 - **adattamento** (es. resistenza ai parassiti)
 - **foglie erette**: maggiore Ef foglie basali
 - **precocità** → fioritura precoce, riempimento della granella "lungo" ("fast dry down")
 - **resistenza freddo** → permette un anticipo della semina
 - **resistenza alle malattie fogliari**
 - **resistenza ai marciumi** → permanenza in campo senza compromettere la qualità del prodotto

Miglioramento genetico: caratteri qualitativi

- Qualità proteine endospermiche (zeina) → >modificazione della composizione AA → valore biologico
- pigmenti granella (xantofille) → alimentazione ovaiole



Ottenimento di piante transgeniche

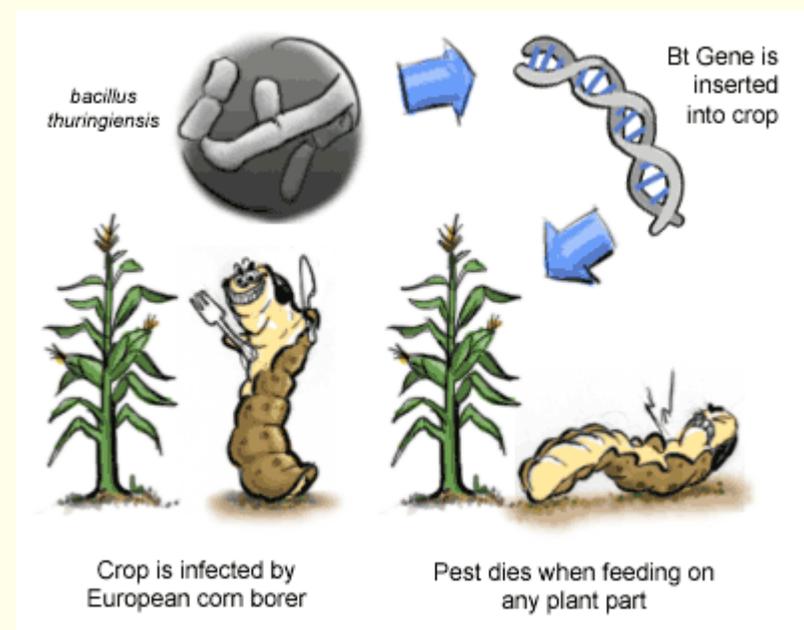
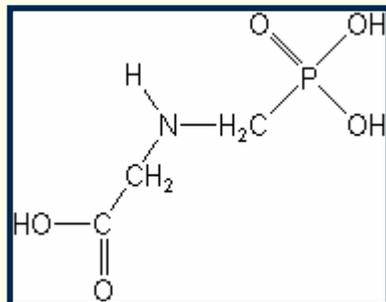


(C) 2004 Marco Lambruschi

Mais transgenici



- Piante **transgeniche**: piante a cui sono stati inseriti nel genoma geni estranei alla specie tramite vettori
- Mais ingegnerizzato
 - resistenza alla piralide (*Ostrinia nubilalis* [Hübner])
 - inserito il gene Bt del *Bacillus thuringiensis*
 - resistenza al glifosate
 - presenza di un enzima che inattiva il principio attivo



Cosa fa paura dei transgenici?

- # ...possibilità di trasferimento delle resistenze a specie infestanti che diventerebbero incontrollabili -non esistono specie interfertili con il mais!
- # Si selezionano specie resistenti (non proprio vero!)
- # ...possibile tossicità per l'uomo
 - mai stata dimostrata (nella letteratura seria e non nei fogli di propaganda!)
 - le allergie alimentari sono sempre esistite!

Paura dei transgenici?

- ‡ Agricoltura "biotecnologica" per definizione → tutto è stato modificato geneticamente (anche quello che sedicenti ecologisti definiscono "naturale")
- ‡ Ecologisti, opinione pubblica, ingenui generici guardano con preoccupazione ai transegenici senza neanche sapere di cosa si tratti

