

ART **01**

Le nuove biotecnologie valorizzano le risorse biologiche

FD FONDAZIONE Diasorin

madforscience.fondazionediasorin.it

MAD
FOR
SCIENCE



Alla fine del 1800, il monaco austriaco Gregor Mendel fece i suoi primi esperimenti sul colore del fiore dei piselli del suo orto dando così avvio ad una vera e propria rivoluzione concettuale e culturale. Dalla scoperta dei geni, del DNA e dei relativi meccanismi di controllo, negli ultimi cinquant'anni si è passati allo studio della biologia molecolare andando così a influenzare settori sempre più ampi della società, con un riflesso importante anche sul mondo produttivo, tanto da definire un nuovo tipo di economia, la **bioeconomia**, che sviluppa **soluzioni sostenibili bio based** e risponde a problematiche relative alla salute, all'ambiente e al territorio.

Dagli anni '70, dopo i primi studi di genetica in campo medico - ricordiamo per esempio quello di A. Cao che ha definito le basi molecolari della talassemia¹ dimostrando che il 95% dei casi in Sardegna presenta la stessa mutazione e permettendo così un'azione importante di diagnosi prenatale -, si è arrivati a descrivere **sistemi molecolari sofisticatissimi, riproducibili solo nei laboratorio che dispongono di elevata tecnologia**, come per esempio gli studi sulle mutazioni di alcuni geni che causano livelli variati di proteine nel sangue portando a patologie anche molto gravi.

Un' importante scoperta (aprile 2024)² che apre nuove prospettive sull'importanza della fissazione dell'azoto negli ecosistemi oceanici e potrebbe avere implicazioni anche per l'agricoltura terrestre è quella che riguarda un nuovo organulo denominato "**nitroplasto**" la cui evoluzione - a differenza dei mitocondri e dei cloroplasti più antichi - è stata datata a circa 100 milioni di anni fa.

Un **batterio marino è stato assorbito da un'alga ospite**, coevolvendo con essa a tal punto da diventare un organulo, parte integrante della macchina cellulare dell'alga stessa. Questo fenomeno rende queste **alghe i primi eucarioti noti** a ospitare un organulo in grado di fissare l'azoto, un processo fondamentale per la vita. Questo sistema rappresenta una nuova prospettiva sulla fissazione dell'azoto e potrebbe offrire indicazioni su come un organulo simile potrebbe essere ingegnerizzato nelle piante coltivate.

Si tratta di esempi che al momento riguardano il mondo della ricerca biomolecolare, ma è proprio grazie a queste sperimentazioni che i risultati delle ricerche in ambito **biotecnologico diventano risposte tangibili a problematiche concrete e sono fruibili da tutti. Per comprendere meccanismi così sofisticati, è necessario effettuare esperimenti più semplici che forniscono** le basi per comprendere i principi fondamentali della biologia molecolare, come l'isolamento e l'analisi del DNA, la PCR, il clonaggio genico, l'elettroforesi e la trasformazione batterica.

È il caso dei marcatori a DNA³, messi a punto dall'Istituto di Bioscienze e Biorisorse (IBBRr) del Consiglio Nazionale delle Ricerche di Perugia, in grado di evidenziare le frodi commerciali relative alla vendita di varietà di olio diverse o adulterate con oli di altre specie, meno pregiate di quelle dichiarate. Questo tipo di analisi è accessibile a chi commercia olio e ne fa richiesta e, anche se non è ancora stata riconosciuta come metodo ufficiale accreditato, i risultati certamente forniscono dati incontrovertibili, per esempio, sulla provenienza degli oli.

Tali determinazioni, infatti, consentono di risalire alla loro composizione varietale, che possiamo rilevare solo attraverso l'analisi del DNA, l'unica molecola che può discriminare ciascuna varietà e che può essere replicata in vitro a partire da piccole tracce che rimangono in sospensione nell'olio in forma di microcelle.



¹ https://www.aobrotzu.it/documenti/9_112_20150923133017.pdf

² <https://www.scienze notizie.it/2024/04/23/la-scoperta-del-nitroplasto-un-nuovo-capitolo-dellevoluzione-cellulare-0084191>

³ <https://almanacco.cnr.it/articolo/11539/extravergine-di-oliva-nuovi-metodi-di-controllo>, fonte Lucia Baldoni, 16 maggio 2024.

Questa tecnica è definita **DNA barcoding** ed è un metodo di identificazione molecolare che prevede l'utilizzo di brevi sequenze di DNA, provenienti da uno o più geni specifici, per identificare in modo univoco una specie. La regione genica utilizzata come standard barcode per i vegetali è costituita da due regioni geniche dei cloroplasti. La procedura di *DNA barcoding* è definita da un protocollo internazionale, rilasciato dal CBOL (*Consortium for the Barcode of Life*), organo nato nel 2004 che gestisce gli studi in questo ambito a livello mondiale. Accedendo ad una banca dati di *barcoding*, o caratterizzando direttamente campioni di foglie dagli oliveti e creando una mappa che memorizza i profili del DNA degli alberi in una sorta di mappatura geo-genetica, è possibile poi confrontare gli stessi geni nell'olio d'oliva prodotto dallo specifico frutteto.

L'applicazione della biologia molecolare **permette inoltre di migliorare le colture**, di creare **biofertilizzanti e biopesticidi** per promuovere la crescita delle piante senza impiego di prodotti chimici, ma utilizzando il materiale genetico di alcuni microrganismi.

Nel campo delle biotecnologie agrarie, esistono nuove soluzioni che operano in assenza di substrato, con radici fluttuanti, fertilizzazione tramite nebulizzazione e veloce entrata in produzione: sono le coltivazioni aeroponiche, tecnologie innovative per la produzione di piante orticole e di piante aromatiche, come ad esempio il basilico (*Ocimum basilicum*)⁴. Sembra fantascienza ma è realtà, sono infatti diversi i progetti aziendali che utilizzano l'impianto aeroponico in alternativa alla classica coltivazione in vaso: in Liguria, per esempio, è stata avviata una produzione di trentacinquemila piantine di basilico prodotte con tale sistema⁵.

Originali e molto interessanti i percorsi di ricerca oggetto di uno studio del Dipartimento di Biochimica degli Alimenti al Politecnico federale di Zurigo⁶, che studiano il profilo biochimico dei lotti di cacao **per individuare il mix di microrganismi** più adatto alla fermentazione dei semi con un

obiettivo ben preciso: **evitare le pericolose muffe e loro derivati**.

Il cioccolato infatti (o burro di cacao) deriva dalla fermentazione dei grandi semi del *Theobroma cacao*, un albero sempreverde originario della foresta amazzonica. La fermentazione spontanea delle fave di cacao è un processo delicato e molto complesso, che sfrutta un microbiota molto variabile, quasi casuale: i microrganismi coinvolti provengono infatti dall'ambiente, dagli attrezzi usati dai coltivatori, dalle loro mani e anche dalle foglie di banana usate per coprire i semi. Un errore durante la fermentazione può compromettere un intero raccolto di fave di cacao: la formazione di muffe all'interno dei semi del *Theobroma cacao* non soltanto altera il sapore di quello che sarà cioccolato, ma costituisce un potenziale pericolo per la salute umana. A volte infatti alcuni interi carichi di cacao giunti via nave devono essere scartati per la presenza di muffe e di micotossine.

Un altro esempio molto attuale e di **rilevanza ambientale** riguarda le api, la produzione di miele e suoi derivati. L'ape europea (*Apis mellifera*) riveste un enorme valore economico in virtù delle attività di impollinazione per le colture agrarie e forestali.

Un acaro, la *Varroa destructor*, un ectoparassita, è in grado di infettare diverse specie di api in ogni fase del loro ciclo vitale: l'*Invasive Species Compendium del CAB*⁷ riporta che l'infezione dell'acaro può portare al collasso della colonia; inoltre, è vettore di alcuni patogeni, tra cui il *deformed wing virus*, un virus a RNA di cui sono state descritte tre principali varianti.

Le autrici e gli autori dello studio, un gruppo di ricercatori e ricercatrici della University of Texas di Austin, hanno lavorato su un ceppo batterico che fa parte del microbioma delle api: con tecniche d'ingegneria genetica, hanno fatto sì che un ceppo potesse attivare una risposta a **RNA interference** contro l'acaro e un altro contro il virus.

⁴ <https://www.agricolturaaeroponica.it/news/coltivazione-del-basilico-aeroponica-idroponica-acquaponica-o-tradizionale-in-terra/>

⁵ <https://www.genovatoday.it/social/basilico-aeroponico>

⁶ <https://innovando.it/impronta-chimica-cacao-grande-scoperta-cioccolato/>

⁷ <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompndium.107784>

Quindi, le ricercatrici e i ricercatori hanno fatto in modo che le api ingerissero i batteri ingegnerizzati, ponendoli in una soluzione di acqua e zucchero. Una volta insediatisi nell'intestino, il nuovo batterio si è dimostrato in grado di agire contro il virus e contro il Varroa. Nel caso di quest'ultimo, in particolare, l'effetto è quello di un'auto-distruzione: l'acaro si nutre infatti dei tessuti dell'ape e ingerisce quindi anche i batteri modificati. Il metodo testato, oltre a essersi dimostrato efficace, avrebbe il vantaggio di poter perdurare nella colonia ed essendo altamente specifico per il microbioma dell'ape non infesterebbe altri insetti (esempio di bio-contenimento).

Ancora più recenti gli studi, sempre sulle api, di alcuni ricercatori e ricercatrici dell'Università di Losanna⁸ che sono riusciti a riprogrammare **geneticamente alcuni batteri** naturalmente presenti nell'intestino di questi insetti per farli agire come biosensori in situ e di produrre in risposta una proteina fluorescente che può essere osservata al microscopio. Lo sviluppo delle ricerche sulla riprogrammazione genetica dei batteri intestinali delle api come strumento diagnostico ha un enorme potenziale: potrebbe essere utilizzato per rilevare altri segnali, come pesticidi, virus e parassiti che minacciano questo simbolo della biodiversità.



Sempre nel campo delle biotecnologie verdi ricordiamo alcuni composti chiamati **biostimolanti**⁹, che possono rendere l'agricoltura più produttiva e resiliente nei confronti per esempio dei cambiamenti climatici nel gestire eccessi di caldo o di freddo, carenza idrica, stress salino o da irraggiamento solare. Possono aiutare la pianta ad assorbire meglio **acqua e nutrienti** dal suolo, pur non contrastando i microrganismi patogeni aiutano la pianta ad avere **produzioni migliori**: aumentano la pezzatura, incrementano il grado *Brix* (un parametro molto importante che oltre a quantificare la concentrazione di zuccheri in una soluzione, ne definisce la qualità e la consistenza), *aiutano* ad alzare la concentrazione di antociani o migliorano la croccantezza di un frutto.

I biostimolanti a base di alghe contengono promotori della crescita delle piante: principi come la betaina e alcuni aminoacidi aiutano le colture a riprendersi, quelli a base di collagene stimolano la produzione di clorofilla, mentre la betaina promuove la crescita delle radici (anche se i meccanismi di funzionamento sono ancora da approfondire). Esistono molti studi interessanti¹⁰, alcuni **facilmente riproducibili**, sulla risposta di alcune varietà orticole mediterranee all'utilizzo di biostimolanti (peperoni e pomodori sottoposti a diversi regimi idrici e la lattuga con diversa salinità dei terreni).

Un altro ambito di applicazione delle biotecnologie nasce dall'interconnessione tra queste e la nutraceutica (termine che deriva da Nutrizione + Farmaceutica) e consente lo sviluppo di nuovi alimenti funzionali che migliorano le funzioni fisiologiche dell'organismo, integratori alimentari e altri prodotti che offrono benefici per la salute.

Fin dagli inizi degli anni 90 il trasferimento di geni nelle cellule vegetali ha aperto la strada allo sfruttamento del potenziale delle piante come biofabbriche per il design di molecole a elevato valore aggiunto.

⁸ https://www.myscience.ch/it/news/2024/batterie_reprogrammee_pour_etudier_le_microbiote_des_abeilles_2024-unil

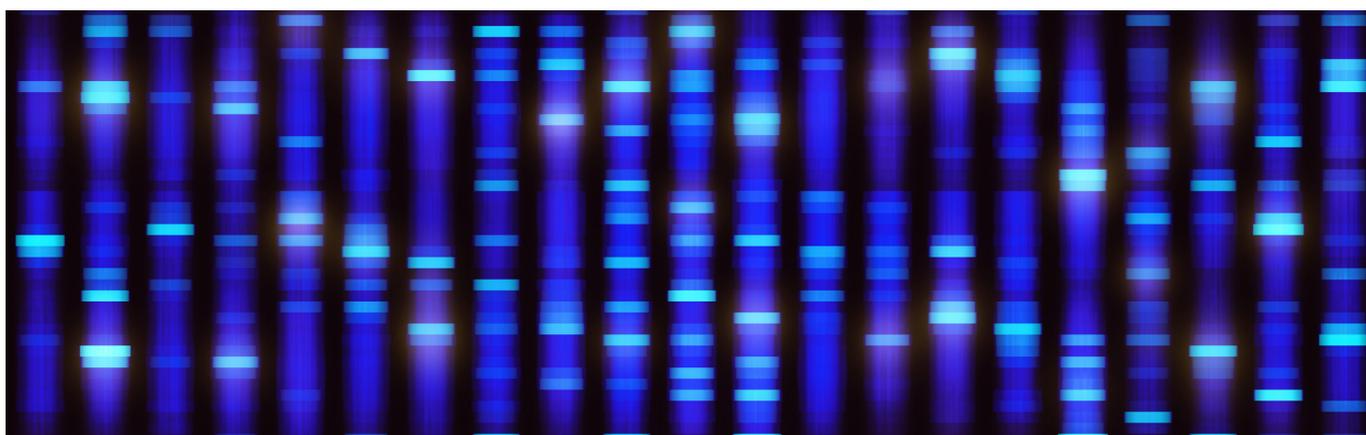
⁹ <https://agronotizie.imagelinenetwork.com/fertilizzazione/2024/05/30/biostimolanti-misurare-gli-effetti-per-valutare-i-prodotti/84006>

¹⁰ <https://biostimola.unimi.it/>

L'ingegnerizzazione della cellula vegetale per la produzione di molecole di interesse farmacologico, siano esse già presenti nella pianta (endogene) oppure di diversa origine (eterologhe o ricombinanti come, ad esempio, anticorpi, proteine terapeutiche, enzimi o antigeni vaccinali) è molto interessante. Sono di notevole rilevanza le vantaggiose caratteristiche di queste **green biofactories** rispetto alle *conventional cell factories*, i fermentatori industriali basati su cellule batteriche, di lievito, di insetto o di mammifero, utilizzati per produrre molti farmaci come l'insulina somministrata ai diabetici. Le piante si dimostrano competitive per costi e qualità del prodotto, impiegando le opportune metodologie: infatti, le cellule vegetali sono in grado di sintetizzare e assemblare molecole proteiche molto complesse caratterizzate da bassi costi e sicurezza intrinseca (assenza di patogeni pericolosi per l'uomo) e che hanno ottenuto, in alcuni casi, l'approvazione all'uso clinico (es. vaccini anti-influenzale), mentre in medicina veterinaria si stanno valutando in via sperimentale alcune metodologie per il potenziamento e la somministrazione di vaccini basati sull'uso di proteine vegetali. Una classe di biomolecole dalle interessanti proprietà antiossidanti è rappresentata dai **carotenoidi e molecole derivate**, denominate apocarotenoidi, pigmenti che variano dal giallo, all'arancio, al rosso e che si trovano in grandi quantità in carote, pomodori, stigmi di zafferano. Alcune di esse sono precursori della vitamina A, essenziale per la vista, e altre hanno funzioni più specifiche che le rendono particolarmente attraenti

per lo sviluppo di nuovi nutraceutici. Ad esempio, le crocine, apocarotenoidi responsabili del colore rosso degli stigmi di zafferano (*Crocus sativus*), svolgono funzioni di protezione contro danni ossidativi alla retina, proteggendola da malattie degenerative invalidanti. Mediante approcci di ingegneria metabolica, sono stati isolati e trasferiti geni di zafferano¹¹, coinvolti nella via biosintetica delle crocine, in organismi "ospite" che contengono i carotenoidi precursori delle crocine, come piante di tabacco (*Nicotiana benthamiana*) e ceppi di lievito (*Saccharomyces cerevisiae*) ingegnerizzati, ottenendo in questo modo la produzione di molecole ad altissimo valore aggiunto, come le crocine, al di fuori delle cellule che compongono i tessuti dello stigma di zafferano.

Ottimi componenti nutraceutici provengono da alghe come la classica Spirulina o come l'Astaxantina; quest'ultima, un carotenoide prodotto da microalghe come l'*Haematococcus pluvialis*, microalga verde d'acqua dolce, è tra gli antiossidanti naturali che presenta la maggiore efficacia funzionale, infatti è utile per la salute degli occhi, della pelle e migliora il sistema immunitario. Anche dai frutti del Baobab (*Adansonia digitata* L.), una pianta tipicamente africana, si ricava una polvere ricca di vitamina C, fibre, calcio e antiossidanti. Studi recenti hanno mostrato come l'ingestione dell'estratto acquoso della polpa di frutta in polvere, ma anche di estratto di foglie di baobab, abbiano fornito risultati promettenti nel controllo dei livelli di glicemia e nell'ambito della gestione della **sindrome metabolica**¹².



¹¹ Produzione di Composti BIOattivi di ZAFFERANO in Lievito - Il progetto PROBIOZAFF

https://cordis.europa.eu/project/rcn/12821_it.html

Produrre zafferano con purezza di grado farmaceutico - Il progetto IDROZAFF

Dalle piante vaccini più efficaci per le malattie virali aviarie - Il progetto AVIAMED - <https://aviamedproject.net/>

¹² <https://www.nutrientesupplementi.it/focus/item/2274-estratti-di-baobab-promessa-nella-gestione-della-sindrome-metabolica>

Le applicazioni sono del tipo **nutraceutico**: bevande senza lattosio alternative a quelle di soia, estratti antiossidanti - polifenoli e carotenoidi - ricavati dalla crusca dei grani, biscotti e gallette senza glutine. Le proteine estratte dalla granella hanno inoltre interessanti potenzialità per l'alimentazione di persone affette da diabete, ipertensione e obesità. Altri prodotti nutraceutici potenzialmente redditizi sono i germogli e le bevande fermentate - tipo kombucha - ottenute da questi, i quali avrebbero proprietà antinvecchiamento. Gli **oli** estratti dalla granella sono fonti di acidi ω -6 e ω -9.

Per ottenere piante più produttive e resistenti a batteri, funghi e anche alla siccità si può applicare un insieme di tecniche moderne di precisione sviluppate per il miglioramento genetico: le TEA. Esse consistono in una modifica del genoma della pianta senza però l'inserimento di DNA estraneo. Si tratta di tecniche sicuramente molto sofisticate e adatte particolarmente a laboratori di biologia molecolari. Le TEA contemplano numerose applicazioni, tra le quali la **cis-genesi**, ovvero il trasferimento di geni tra due specie sessualmente compatibili, e il **genome editing**,

che consente (per esempio tramite l'uso del famoso **Crispr/Cas9**) di indurre mutazioni genetiche in maniera estremamente precisa, per esempio silenziando geni che codificano per caratteri indesiderati nella pianta. Durante il mese di maggio (2024), in Lomellina, si è avviata la produzione della prima **sperimentazione di riso ottenuto con le TEA** per ottenere una varietà più resistente alle malattie. In particolare, la varietà di riso seminata a Mezzana Bigli dovrebbe essere in grado di resistere, senza utilizzo di fungicidi, agli attacchi del fungo *Pyricularia oryzae*, che causa la malattia nota come brusone: una patologia fungina che può portare a perdite produttive anche del 50% e contro cui ci sono pochi farmaci.

In definitiva, le biotecnologie, sfruttando al massimo le risorse biologiche, stanno rivoluzionando molti settori cruciali. Ci aspettiamo che nuove scoperte continuino a offrire soluzioni sostenibili e innovative per affrontare le sfide globali legate alla sicurezza alimentare e alla gestione delle risorse naturali.