

SOCIETÀ NAZIONALE DI SCIENZE, LETTERE E ARTI IN NAPOLI
· MEMORIE DELL'ACCADEMIA
DI SCIENZE FISICHE E MATEMATICHE

**ATTI DEL CONVEGNO PER LA
CELEBRAZIONE DEL CENTENARIO
DELLA RISCOPERTA DELLE LEGGI
DI MENDEL**

LIGUORI EDITORE

Il presente volume è stato realizzato con il contributo della Regione Campania

Tutti i diritti sono riservati. Nessuna parte di questa pubblicazione può essere tradotta, riprodotta, copiata o trasmessa senza l'autorizzazione scritta dell'editore. Fotocopie per uso personale del lettore possono essere effettuate nei limiti del 15% di ciascun volume/fascicolo di periodico dietro pagamento alla SIAE del compenso previsto dall'art. 68, comma 4, della legge 22 aprile 1941 n. 633 ovvero dall'accordo stipulato tra SIAE, AIE, SNS e CNA, CONFARTIGIANATO, CASA, CLAAI, CONFCOMMERCIO, CONFESERCENTI il 18 dicembre 2000. Le riproduzioni ad uso differente da quello personale potranno avvenire, per un numero di pagine non superiori al 15% del presente volume, solo a seguito di specifica autorizzazione rilasciata da AIDRO, via delle Erbe 2, 20121 Milano, telefax 02 809506, e-mail aidro@iol.it.

Prima edizione italiana Dicembre 2002
Liguori Editore, Srl
via Posillipo 394
I 80123 Napoli

<http://www.liguori.it>

Copyright © Accademia delle Scienze Fisiche e Matematiche 2002

Atti del Convegno per la celebrazione del centenario della riscoperta delle leggi di Mendel
Napoli : Liguori, 2002
ISBN 88 - 207 - 3536 - 9

Ristampe:

9 8 7 6 5 4 3 2 1 0 2010 2009 2008 2007 2006 2005 2004 2003 2002

Questo volume è stato stampato in Italia dalle Officine Grafiche Liguori - Napoli su carta inalterabile, priva di acidi, a PH neutro, conforme alle norme Iso 9706 ∞.

In occasione del centenario della riscoperta delle leggi di Mendel, l'Accademia di Scienze Fisiche e Matematiche della Società Nazionale di Scienze, Lettere e Arti in Napoli ha voluto celebrarne l'importante ricorrenza organizzando, nel giugno 2000, un Convegno presso la Stazione Zoologica di Napoli.

Nel 1900, tre insigni botanici: Hugo de Vries (1848-1935) olandese, Karl Correns (1864-1933) tedesco, e Erich Tschermack von Seysenegg (1871-1962) ungherese, a distanza di pochi mesi e indipendentemente l'uno dall'altro, pubblicavano i risultati di esperimenti che li condussero alla scoperta di quei principi della ereditarietà che erano stati formulati già 35 anni prima e con maggiore precisione da Gregorio Mendel (1822-1884).

La riscoperta delle leggi di Mendel apriva una nuova era nella biologia e in particolare nello studio dei fenomeni ereditari che, nel giro di alcuni decenni, ha portato alla decifrazione del codice genetico da cui lo sviluppo della genetica molecolare e dell'ingegneria genetica.

È inoltre particolarmente significativa la coincidenza di tale evento con il completamento del PROGETTO GENOMA UMANO, che appare una svolta epocale per nuovi approcci di studio delle patologie genetiche, tumorali e virali umane e per affrontare i complessi ed elusivi meccanismi della biologia dello sviluppo.

INDICE GENERALE

- 1 Giuseppe Geraci
Geni e complessità
- 7 Giovanni Giudice
Geni e sviluppo embrionale
- 15 Luigi Monti, Silvana Grandillo
Esperimenti sugli ibridi di piante: l'applicazione e lo sviluppo delle ricerche di Mendel in agricoltura
- 27 Sofia Sica
Il mendelismo nell'insegnamento della scuola secondaria
- 33 Giovanni Chieffi
Genetica ed etica

Geni e complessità

Giuseppe Geraci *

A cento anni dalla riscoperta delle leggi di Mendel la biologia ha acquisito la conoscenza a livello molecolare dei geni ed ha chiarito anche molti dei meccanismi che governano la loro espressione. Restano elusive le interazioni tra i vari meccanismi di controllo che portano al differenziamento e alla formazione ordinata e coordinata dei vari organi e apparati. Un contributo di grande rilievo per affrontare questo tipo di problemi è dato dai recenti risultati scaturiti dagli studi della sequenza del DNA dei genomi di vari organismi fra cui quello umano, che proprio in questi giorni si è sostanzialmente concluso. È stata infatti stabilita la sequenza dei circa 3.3 miliardi di coppie di basi che costituiscono il DNA del genoma dell'uomo. Restano da analizzare solo piccole regioni di limitata lunghezza, disperse in alcuni cromosomi, ma è improbabile che la loro definizione possa avere effetti di rilievo sulle indicazioni che già derivano dai dati acquisiti. Sono state completate in questi ultimi mesi anche le sequenze dei genomi di alcune forme di vita più semplici permettendo un primo confronto delle organizzazioni genetiche e della loro composizione tra organismi di complessità strutturale ed evolutiva notevolmente diverse. Che vi fosse una mancanza di correlazione tra quantità di DNA e complessità di un organismo, per gli organismi più evoluti, era un dato già noto da tempo e definito "Paradosso C". I dati più recenti di sequenza hanno mostrato che la complessità strutturale non dipende nemmeno dal numero dei geni. Questo è chiaramente evidente dai dati riportati nella Tabella I dove sono elencati i valori della grandezza del DNA genomico e del numero di geni per alcuni organismi di complessità strutturale molto diversa tra loro. Si vede che un batterio quale *Escherichia coli* ha un genoma di circa 4.7 milioni di coppie di basi contenente circa 4500 geni. Il piccolo verme nematode *Caenorhabditis elegans*, costituito solo da 964 cellule, ha il genoma formato da circa 100 milioni di coppie di basi e circa 18000 geni. L'insetto moscerino

* Dipartimento di Genetica, Biologia Generale e Molecolare, Università di Napoli "Federico II".

della frutta, *Drosophila melanogaster*, molto più complesso strutturalmente del nematode, ha un maggior numero di coppie di basi, 140 milioni ma, sorprendentemente, un inferiore numero di geni: circa 13000! La non correlazione tra complessità strutturale ed evolutiva e quantità di DNA e numero di geni è ancora più forte confrontando i dati della brassicacea, *Arabidopsis thaliana*, poco più di un'erbetta, e dell'uomo. La piantina ha un genoma di 140 milioni di coppie di basi di DNA e circa 25000 geni (quasi il doppio dei geni della *Drosophila*) mentre l'uomo ha un genoma di 3.3 miliardi di coppie di basi ma solo circa 30000 geni. La differenza in numero di geni tra una semplice piantina e l'uomo, al vertice della scala evolutiva, risulta di solo 5000 geni. È chiaro che la complessità di un organismo e il suo livello di evoluzione devono dipendere anche da altri parametri non consistenti in una sequenza di basi del DNA e, quindi, definiti epigenetici.

Meccanismi epigenetici che aumentano la complessità biologica.

La molecola che contiene l'informazione genetica di un organismo è il DNA che porta codificati nella sua sequenza di basi sia i geni sia i dati per il controllo della loro espressione. Vi è però un altro aspetto di cui bisogna tener conto: la struttura in cui il genoma è contenuto nella cellula. Mentre in un batterio il DNA è sostanzialmente libero da interazioni stabili con altre molecole, in un eucariota è, invece, fortemente legato a proteine che lo organizzano formando quelle strutture con aspetto tipico dette cromosomi. A queste strutture fu inizialmente attribuita, circa un secolo fa, la corrispondenza con le entità geni, definite anni prima da Mendel. Questa intuizione pionieristica fu di un giovane ricercatore, Walter Sutton, che eseguì studi sulle cellule di una cavalletta americana (*Schistocerca americana*) proprio agli inizi del '900. Sulla base dei suoi risultati, egli ipotizzò che il fondamento fisico delle leggi di Mendel, e cioè dei geni, potesse trovarsi appunto nei cromosomi delle cellule, anche senza sapere cosa fosse l'entità "gene", quale fosse la composizione dei cromosomi e quale potesse essere

Tabella I - Lunghezza in basi dei DNA genomici e numero stimato di geni in alcuni organismi

ORGANISMO	Genoma (megabasi)	Numero di geni
<i>E. coli</i>	4.7	4300
<i>C. elegans</i>	100	19000
<i>D. melanogaster</i>	140	13600
<i>A. thaliana</i>	140	25000
<i>H. sapiens</i>	3300	30000

un meccanismo di codifica. Mi piace ricordare che Sutton aveva lavorato nel 1902 presso la Stazione Zoologica di Napoli mentre erano presenti anche altri due pionieri della ricerca biologica genetica, Edmund Wilson e Theodor Boveri. E Boveri, proprio lavorando a Napoli presso la Stazione Zoologica, ottenne evidenza lavorando sui ricci di mare che varie parti dei cromosomi erano responsabili delle varie fasi dello sviluppo dell'embrione. La Stazione Zoologica era un paradiso terrestre per i biologi dell'epoca.

Ho menzionato Sutton e Boveri perché i dati analitici oggi disponibili, di cui ho riportato alcuni esempi nella Tabella I, rinnovano il concetto che l'azione dei geni nel produrre un organismo eucariotico è da ricercare anche nelle loro strutture organizzative, nei cromosomi, e non solo nella sequenza del DNA. Infatti in un organismo di semplice struttura, qual è un batterio, la sequenza di basi del DNA rappresenta tutto quel che occorre per assicurare la sua vitalità e riproduzione. Le sequenze codificanti i geni sono esplicite, nel senso che alla sequenza di basi del DNA corrisponde esattamente la sequenza di amminoacidi di una proteina. In un eucariota multicellulare, invece, la sequenza di basi del DNA rappresenta la base fisica della codifica genetica ma il gene, inteso come sequenza di basi che corrisponde alla molecola operativa di una proteina, è quasi sempre elusiva, perché interrotta da sequenze di basi non codificanti. La mancanza di corrispondenza diretta (colinearità) tra sequenza di basi del DNA e sequenza di amminoacidi della proteina, richiede che la sequenza effettivamente corrispondente a quella della proteina si definisca nella cellula eliminando le parti non codificanti dal trascritto della sequenza genetica del DNA. La seconda caratteristica, l'organizzazione in cromosomi, aggiunge un'ulteriore complicazione: vi sono geni che si trovano in zone con diversa strutturazione e, quindi, non disponibili allo stesso modo. Questa differenza operativa del gene, dipendente dalla struttura organizzativa del DNA in cui è codificato, è uno dei meccanismi per generare le differenze morfologiche e funzionali che producono i vari tipi di cellule di un organismo eucariotico. La possibilità di interpretare in forme operative diverse una stessa sequenza genica del DNA, insieme alla diversità di strutturazione di una stessa sequenza genica di uno stesso cromosoma in cellule di diversa funzione, costituiscono il fondamento epigenetico della complessità strutturale e funzionale degli organismi eucariotici.

Un esempio aiuta a mettere a fuoco i concetti su esposti. Se si confrontano le sequenze genomiche di uno scimpanzé e di un uomo, esse risultano uguali al 97%. Molte proteine dei due organismi sono così simili da essere praticamente indistinguibili. Come esempio valga il confronto delle catene beta delle globine dell'emoglobina adulta che sono praticamente identiche nell'uomo e nello scimpanzé. Eppure i due organismi sono notevolmente diversi. E diverse sono le strutture organizzative dei loro DNA genomici come risulta dai rispettivi cariotipi mostrati nella Fig. 1. I cromosomi dell'uomo e dello scimpanzé sono diversi per numero e per forma risultando inconfondibili. Analoghe differenze si osservano confrontando i cariotipi

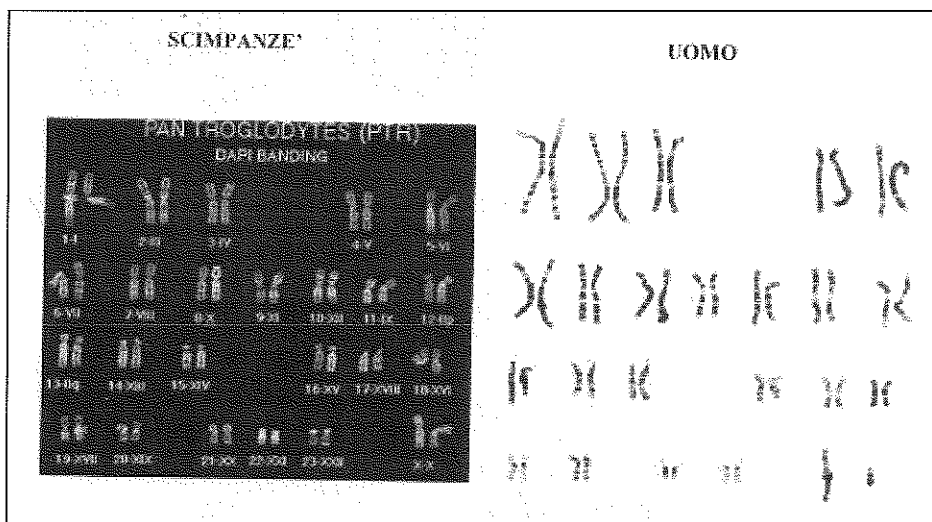


Figura 1

(il numero e forma dei cromosomi) di tutti gli organismi esistenti che sono sempre distintivi tra loro. Le proteine, invece, sono in genere molto simili, fatte le differenze dovute all'adattamento delle varie funzioni ai diversi ambienti (l'emoglobina di un pesce funziona in condizioni diverse da quelle di un mammifero). Si potrebbe, semplificando molto, paragonare la potenzialità dei geni alle funzioni di base di un computer e la formazione di un organismo al programma (software) mediante il quale le potenzialità vengono usate producendo cose diverse tra loro. Un computer può generare un disegno, una musica, un risultato matematico o quant'altro usando, con modalità diverse, sempre le stesse potenzialità. I genomi dei vari organismi contengono, in organizzazioni diverse, geni molto simili tra loro generando organismi di diversa complessità e struttura. Vi è ancora un motivo per cui vi è non corrispondenza tra quantità di DNA, numero di geni codificati e numero di proteine caratteristiche di un organismo eucariotico che trova la sua giustificazione nella non colinearità tra gene e proteina che riguarda la quasi totalità dei geni. Di questi, almeno il 30% è interpretato in più modi producendo, dal trascritto di una stessa sequenza genica di DNA, più proteine. Questo succede eliminando, come non codificanti, diversi assortimenti di segmenti. Un caso estremo di questa potenzialità si osserva in uccelli canterini dove il gene di una proteina che forma il canale per il potassio, si esprime nel loro orecchio producendo ben 576 varianti proteiche conferendo loro la capacità di distinguere un ampio spettro di frequenze acustiche. Risulta chiaro, da questo meccanismo, che il numero di proteine che costituiscono un organismo può essere molto superiore al numero di geni che le codifica, giustificando il paradosso che una piantina e un uomo hanno quasi lo stesso numero di geni.

Lo studio dei meccanismi che portano alle varianti di espressione di un

gene nelle varie linee cellulari di un organismo eucariotico e, principalmente, la definizione dei meccanismi che governano la loro coordinazione in gruppi di espressione, sono linee di ricerca che si prospettano indispensabili per dare una risposta al problema dello sviluppo embrionale e del differenziamento. Inizia così, nel nuovo millennio, la fase di studio della **genomica funzionale** che ha la sua corrispondenza, a livello di proteine, nello studio della **proteomica**, che studia il comportamento collettivo dell'espressione genica analizzando le specie proteiche presenti, e i loro rapporti quantitativi, nelle varie linee cellulari differenziate di uno stesso organismo. Questi approcci hanno oggi il supporto di metodiche analitiche multiple sempre più immediate e innovative. Ciò rende attuabile, a più di un secolo di distanza, quell'approccio olistico utilizzato nello studio della biologia dai ricercatori al tempo di Mendel. Queste nuove linee di ricerca forse potranno portare alla comprensione dei fenomeni del differenziamento e dello sviluppo la cui base è non solo genetica ma anche, e soprattutto, epigenetica, e conseguentemente alla possibilità di controllare i meccanismi tumorali. Il cerchio degli studi si richiude a distanza di un secolo, e dal particolare meccanicistico che è ormai acquisita conoscenza di base, si ritorna con nuove possibilità allo studio del collettivo genico funzionale.

Geni e sviluppo embrionale

Giovanni Giudice *

Si sa oggi che lo sviluppo embrionale può essere ampiamente spiegato con l'attivazione di geni diversi a diversi momenti dello sviluppo stesso. Questa attivazione può essere ottenuta a vari livelli: il più comune è quello della attivazione della trascrizione, cioè della sintesi del messaggero, ma altri livelli di regolazione sono possibili, cioè a livello dello splicing, e della traduzione, con vari meccanismi. Lo scopo di questa mia breve chiacchierata è quello di illustrare alcuni di questi meccanismi di regolazione per mostrare come essi siano conservati nell'evoluzione.

Il primo di questi meccanismi è stato studiato, come spesso è accaduto, nel sistema modello del dittero *Drosophila melanogaster*. Si è qui trovato che nel differenziamento dei fotorecettori della retina, come mostrato nella figura 1A, un segnale parte dalla cellula detta R8 verso la cellula che dovrà differenziarsi in R7. Il segnale è mediato da un ligando costituito da una proteina transmembrana sulla superficie di R8, detta BOSS (dalle iniziali delle parole Bride Of Sevenless, cioè la moglie di sevenless) e trasmesso ad un recettore a tirosina chinasi sito sulla superficie di R7, detto appunto Sevenless (perchè se questo non funziona, la cellula R7 non si forma). Sevenless attivato si autofosforila in alcune sue tirosine e trasmette il segnale ad un'altra proteina detta SOS (dalle iniziali di Son Of Sevenless, cioè figlio di sevenless). Questo segnale tra Sevenless e SOS è mediato da una proteina adattatrice generale detta DRK, scoperta dapprima nei mammiferi, la quale con i suoi domini detti SH2 riconosce e lega da un lato le tirosine fosforilate di Sevenless e dall'altro i domini ricchi in prolina di SOS, trasmettendo il segnale. SOS così attivato va a stimolare una proteina di membrana detta Ras, che lega così il GTP, ed a sua volta stimola un'altra proteina, detta Raf. Questa è una proteina chinasi, che a sua volta stimola una Map chinasi (MAPK) cioè una di quelle proteine chinasi che stimolano la mitosi o la sintesi di un particolare RNA messaggero. Qui essa infatti

* Dipartimento di Biologia Cellulare e dello Sviluppo "Alberto Monroy", Università di Palermo.

attiva il fattore di trascrizione detto SINA (dalle iniziali delle parole Seven in Absentia) che stimola la trascrizione di RNA specifici necessari al differenziamento di R7.

Se ci spostiamo indietro nell'evoluzione troviamo che un meccanismo pressochè identico è usato del nematode *Caenorhabditis elegans* per trasmettere il segnale dell'induzione che porterà al differenziamento della vulva (fig. 1B). In questo verme infatti una cellula, detta "àncora" manda un segnale ad una cellula sottostante, detta P6, che la induce a dividersi e a divenire cellula della parte interna della vulva. Questo segnale, come si vede nella parte destra della figura 1B, è ancora una volta trasmesso da un ligando costituito da una proteina transmembrana della cellula àncora, contenente questa volta dei motivi ripetuti del tipo fattore di crescita epidermico che si chiama lin3. Il segnale è anche qui raccolto da un recettore a tirosina chinasi, che qui si chiama let 23, ma che è simile per sequenza e funzione a Sevenless della retina di *Drosophila*. Anche qui let23 passa il segnale ad una proteina detta let 341 attraverso un adattatore generale con domini SH2 ed SH3 simile per sequenza e funzione a Drk, e detto qui sem5. Let 341 passa il segnale ad una proteina di membrana simile a Ras e qui chiamata let60. Questa anche qui passa il segnale ad una proteina tipo Raf, qui chiamata lin45, che anche qui stimola una MAPchinasi, che infine stimola dei fattori di trascrizione, che qui si chiamano lin1 e lin31, che stimolano la trascrizione di geni necessari al differenziamento della cellula P6 per formare la parte interna della vulva. Due organismi così distanti usano dunque un meccanismo di regolazione dell'espressione genica ai fini del differenziamento embrionale pressochè identico.

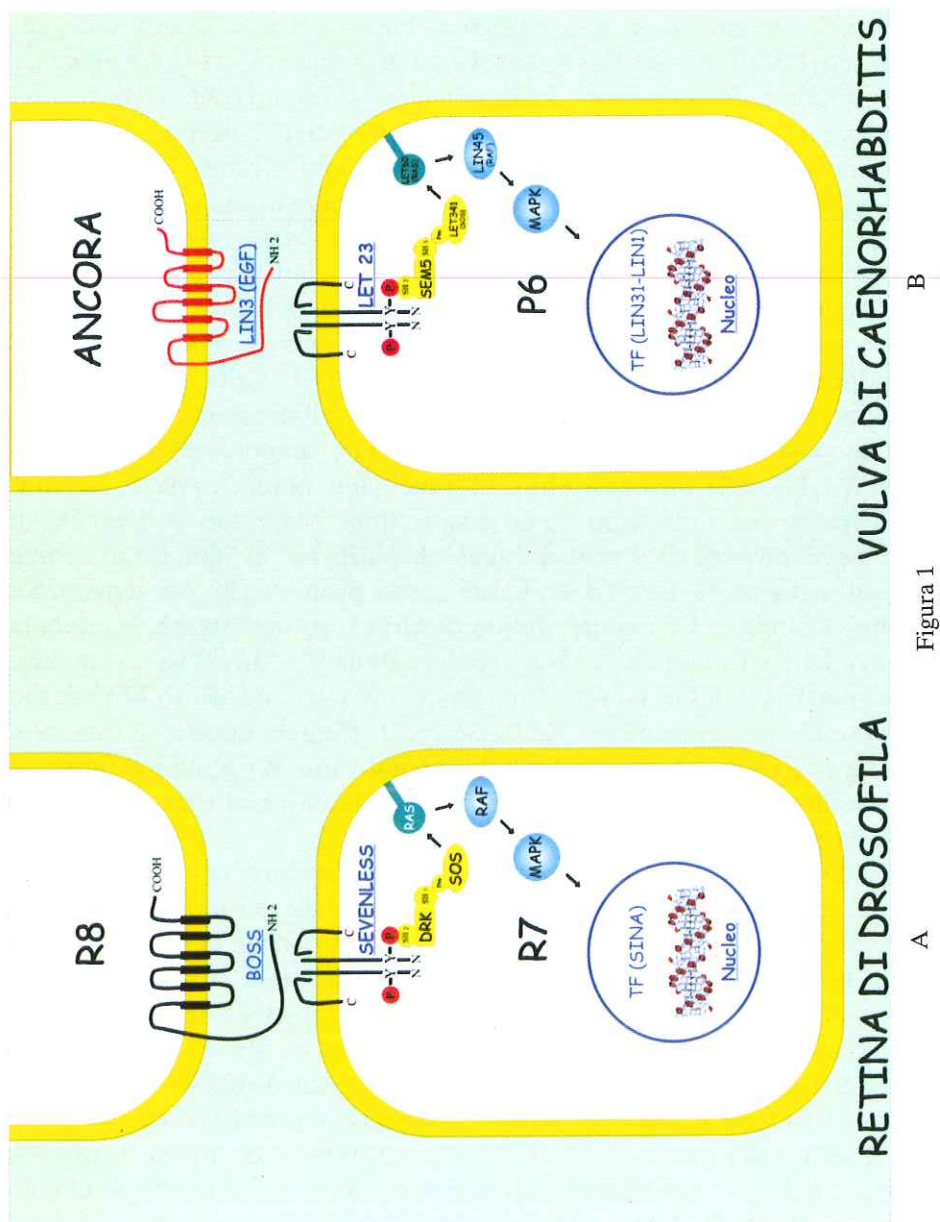
Un altro meccanismo descritto per primo in *Drosophila* e rivelatosi poi assai conservato è quello del cosiddetto pathway di Wnt. Questa parola deriva dalla fusione delle lettere che stanno ad indicare il gene Wingless di *Drosophila* e l'oncogene Int di topo.

Si trovò in *Drosophila* che, allo stadio di divisione della larva in segmenti, le cellule del tratto posteriore sintetizzano la proteina Wingless (Wg), che attraverso lo stimolo di una proteina detta "Porcupine" viene escretata da queste cellule e si porta sulla superficie delle cellule anteriori, come indicato nella figura 2, che riproduce schematicamente una delle cellule anteriori ed una delle posteriori. Wg va a stimolare un recettore sulla superficie della cellula anteriore un recettore transmembrana detto "frizzled"; questo a sua volta stimola una proteina detta "dishevelled" (sinonimo di Apterous, con domini di tipo Lim). Dishevelled stimolata manda un segnale inibitorio ad una proteina chinasi, detta "Zeste White 3" (ZW3) o anche "Shaggy", che è simile per funzione e sequenza a quella che nei vertebrati è stata poi chiamata Glicogeno-sintasi-chinasi 3 (GSK3). Questa chinasi allora non può più fosforilare la proteina detta "Armadiillo" (chiamata Beta-catenina nei vertebrati), che altrimenti verrebbe distrutta, ed invece, se non fosforilata, può recarsi al nucleo. Qui, coadiuvata da due cofattori detti TCF (dalle iniziali di T Cell Factor, detto anche "Pangolino")

e Lef (dalle iniziali di Leucocyte Enhancer Factor), stimola la sintesi di geni specifici; in questo caso di Engrailed (En) e di Hedgehog (Hh). La proteina Hh esce dalla cellula anteriore e va a stimolare sulla superficie della cellula posteriore il recettore transmembrana detto "Patched", facendogli liberare la proteina ad esso associata, detta "Smoothed" (Smo). Questa va a stimolare la proteina prodotta dal gene cubitus interruptus, che così attivata stimola la trascrizione del gene Wg chiudendo il ciclo. Un meccanismo analogo lo ritroviamo ancora una volta andando indietro nell'evoluzione nel nematode *Caenorhabditis elegans*, questa volta per la trasmissione del segnale da una delle prime quattro cellule, la cellula P2 alla cellula EMS, che indurrà quest'ultima a dividersi in una cellula E, dalla quale deriverà l'intestino ed una cellula MS, dalla quale deriverà il mesenchima. I componenti di questa catena di trasmissione del segnale vengono infatti chiamati spesso MOM, dalle iniziali di More Mesenchyme, perché appunto, se mutati, si forma poco intestino e più mesenchima. Malgrado la diversità di nome troviamo però che anche qui si usa il "pathway" di Wnt. Infatti, come mostrato nella parte destra della figura 2, una proteina che per sequenza e funzione è simile a Porcupine, qui detta Mom1, probabilmente stimola la secrezione di Wnt, qui detta Mom2, dalla cellula P2. Mom2 va a stimolare sulla superficie di EMS un recettore simile a frizzled, qui detto Mom5, che inibisce una proteinachinasi detta Shaggy1 (Sgg1); questa, inibita non fosforila più l'equivalente di Armadillo (detto qui Wrm, abbreviativo di Wormadillo, cioè Armadillo del verme) il quale può così recarsi al nucleo e stimolarvi la sintesi di mRNA specifici.

Il pathway di Wnt si ritrova ancora nell'evoluzione, se ci spostiamo ai veterebrati. Qui ad esempio è usato nell'induzione del mesoderma degli anfibî, al fine di distinguere il mesoderma del lato dorsale dell'embrione da quello del lato ventrale. Nelle cellule dorsali infatti una proteina tipo Wnt sintetizzata durante l'ovogenesi, va a stimolare un recettore tipo frizzled, che stimola una proteina tipo dishevelled, che a sua volta inibisce una proteina chinasi detta GSK3 (equivalente a ZW3), che non fosforila più la beta-catenina (equivalente ad Armadillo), che così può recarsi al nucleo insieme ancora una volta ai cofattori TCF/Lef, a stimolare la sintesi di mRNA specifici, in questo caso siamois e goosecoid. Nelle cellule ventrali al contrario il pathway di Wnt è inibito, sia per l'inibizione della proteina Wnt stessa da parte delle proteine beta-Trop e Sizzled, che per l'inibizione del cofattore TCF3 da parte della proteina Groucho, scoperta in *Drosophila*. Ad abundantiam nelle cellule ventrali la chinasi GSK3 è stimolata dalla proteina Axina e pertanto la beta-catenina non può andare al nucleo perché fosforilata e distrutta.

Il pathway di Wnt è anche attivo nel riccio di mare. È infatti noto che i micromeri sono capaci di indurre la formazione dell'intestino, e che questa capacità viene persa se si inibisce il trasporto al nucleo della beta-catenina. È stato anche dimostrato che la inibizione della GSK3 (cosa che favorisce il trasporto al nucleo della beta-catenina) stimola la iperformazione di



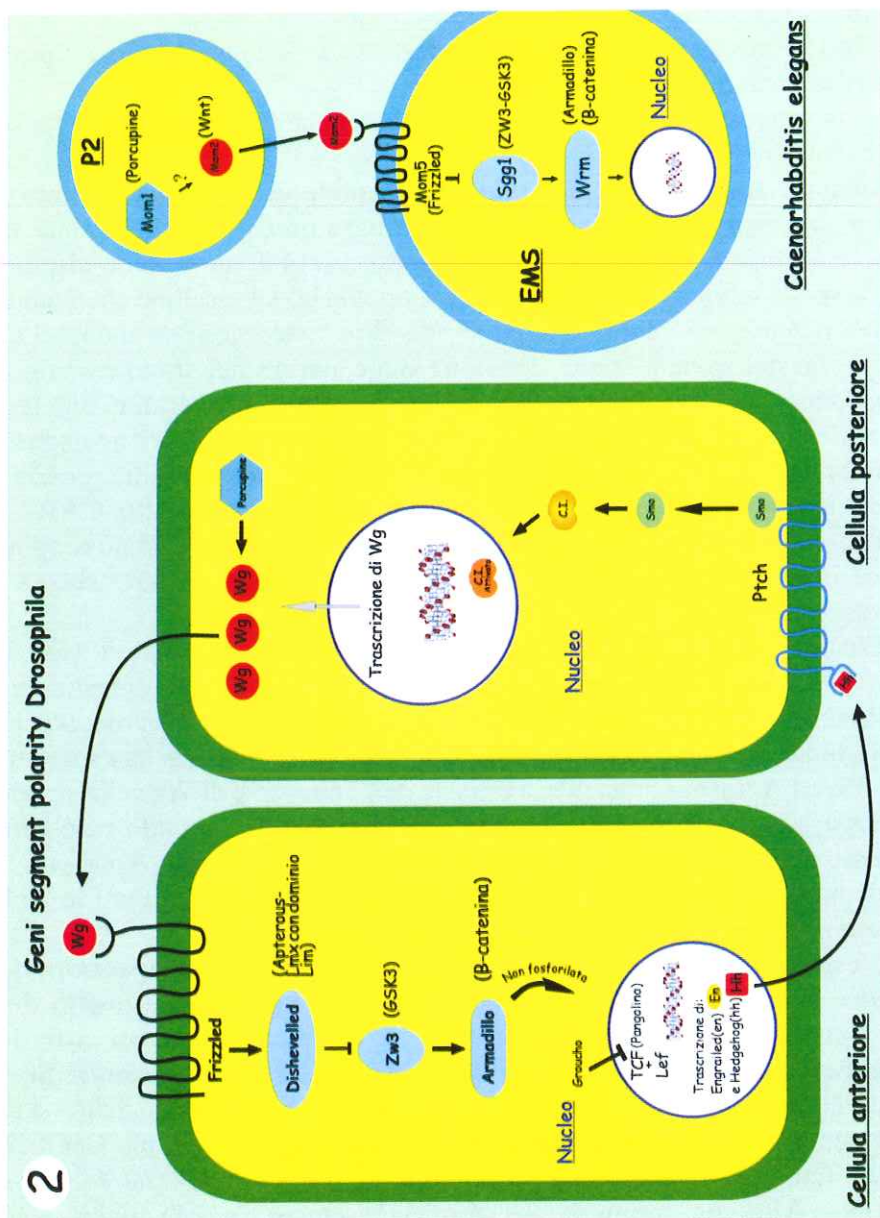


Figura 2

strutture vegetative, con sviluppo di esogastrule, mentre al contrario la sua iperespressione stimola l'ipersviluppo di strutture animali, con formazione di blastule iperciliate.

Se ci spostiamo ancora indietro nell'evoluzione troviamo di nuovo almeno parti del pathway di Wnt. Mi riferisco ad esempio all'organismo unicellulare *Dictyostelium discoideum*; le cellule di questo in assenza di cibo si aggregano e si differenziano a formare uno stelo con in cima un corpo fruttificante ripieno di spore. Quando ci sarà di nuovo cibo disponibile, le spore schiuderanno e ricominceranno il ciclo. Le cellule che cominciano a riaggregarsi debbono dunque prendere la decisione se andare a far parte dello stelo o delle spore; decisione vitale, perché nel primo caso finita la loro funzione moriranno, mentre nel secondo sopravviveranno e perpetueranno la specie. Si è trovato che in questa decisione interviene anche il pathway di Wnt, perché nelle cellule che formeranno lo stelo, una proteina, l'adenilico ciclasi, stimola un recettore transmembrana detto CAR2 o CAR4, che inibisce la chinasi GSK3. Nelle cellule che formeranno le spore invece l'adenilico ciclasi stimola un altro recettore detto CAR3 che va a stimolare la GSK3.

Elementi del pathway di Wnt e l'espressione di geni già visti in *Drosophila*, come ad esempio En, si ritrovano anche nel meccanismo che regola il differenziamento degli assi nell'abbozzo dell'ala di *Drosophila* e nell'abbozzo dell'arto dei vertebrati. Nel primo caso infatti si ha espressione di En ed Apterous nella faccia dorsale dell'abbozzo e di Wg nella striscia che separa la faccia dorsale dalla ventrale; mentre nel secondo caso En è espresso nella faccia ventrale e Wnt7 nella dorsale così come Apterous. Si ritrovano dunque ancora una volta elementi già visti ma espressi in zone diverse nella evoluzione.

L'espressione dei geni con omeobox lungo l'asse anteroposteriore del corpo è anch'essa conservata. Uno degli esempi più noti è quello dell'espressione dei geni hox della serie d negli abbozzi degli arti dei vertebrati: il gene *hoxd 9* è espresso solo nell'arto anteriore, mentre *hoxd 10* e *11* solo nel posteriore. Alcuni geni con omeobox della serie orthodenticle sono espressi sempre nella testa, come ad esempio CnOtx in *Hydra*, DtOtx in *Planaria*, Otx in *Drosophila*, HrOtx in *Ascidia* ed Otx in *Xenopus*. Altri geni con omeobox, come ad esempio caudal vengono sempre espressi nella regione posteriore del corpo come Pal1 in *Caenorhabditis elegans*, Caudal in *Drosophila* ed in *Ascidia* e Cad3 in *Xenopus*.

Un altro meccanismo conservato è stato descritto per la prima volta in *Xenopus* nella induzione del mesoderma per determinare ancora quale sarà il lato dorsale e quale quello ventrale, accanto al già descritto pathway di Wnt. Si tratta della produzione da parte delle cellule ventrali della proteina detta BMP (dalle iniziali delle parole Bone Morphogenetic Protein). Questa viene inattivata da alcune proteine prodotte dalle cellule dorsali, come la cordina, la noggina e la gremlina, che legano BMP e la follistatina che inibisce l'attivazione di BMP. Questo meccanismo si ritrova anche

nello sviluppo del tubo neurale dei vertebrati nella cui parte ventrale viene prodotta la BMP, mentre nella parte dorsale vengono prodotte cordina, noggina, gremlina e follistatina, che la contrastano. Dal tubo neurale partono anche dei segnali verso i somiti, che iniziano con Wnt seguito da Shh e dalla noggina nel lato mediale che contrasta ancora la BMP prodotta nella parte laterale dei somiti.

Ancora il sistema BMP – cordina, gremlina, noggina, follistatina si ritrova nella regolazione dell'apoptosi della membrana interdigitale dell'abbozzo dell'arto dei vertebrati fissipedi: questa è stimolata dalla BMP4 e contrastata dalle altre quattro proteine.

Un altro meccanismo di regolazione dell'espressione genica conservato è quello della inibizione della traduzione di alcuni messaggeri attraverso il legame di proteine inibitrici al 3'UTR di questi RNA. Il caso è stato descritto per la prima volta ancora in *Drosophila*, nello stabilirsi dell'asse antero posteriore della larva: il messaggero del gene *hunchbak* nella parte posteriore dell'embrione viene legato al 3'UTR dalla proteina del gene *nanos*, attraverso la proteina prodotta dal gene *pumilio*, e reso così intraducibile; mentre nella parte anteriore i messaggeri di *nanos* e di *caudal* vengono legati al 3'UTR e resi così intraducibili rispettivamente dalle proteine dei geni *smaug* e *bicoid*. Un analogo meccanismo si ritrova ad esempio in *Caenorhabditis* nel meccanismo attraverso il quale la cellula P2 segnala alla cellula AB posteriore di essere diversa da AB anteriore. Una proteina transmembrana della cellula P2 che fa da ligando di tipo delta, trasmette un segnale ad un recettore transmembrana di tipo Notch della cellula AB, detto GLP1. Questo segnale è unidirezionale dato che la proteina GLP1 non esiste in P2, perché il suo messaggero, pur essendo presente anche in questa, non vi viene tradotto perché legato al suo 3'UTR da una proteina, da alcuni indicata come Sel5.

Un ultimo meccanismo, tra i pochi che qui riportiamo, di regolazione dell'espressione genica conservato è quello del trasferimento al nucleo di proteine che agiscono da fattori di trascrizione, oltre la già descritta beta-catenina. Il primo caso è stato quello descritto in *Drosophila* per la determinazione dell'asse dorso-ventrale. La proteina Dorsal infatti sta ancorata al citoplasma, ma a seguito di una cascata di eventi, viene trasferita ai nuclei del blastoderma sinciziale solamente nel lato ventrale dell'embrione. Infatti il recettore detto Toll, distribuito su tutta la membrana del blastoderma, viene attivato solo nel lato ventrale da una cascata di proteasi culminante con la proteasi Spatzle. Toll attivato va solo ventralmente a simulare la proteina chinasi Tube, che a sua volta stimola la proteina chinasi Pelle, la quale, collaborata dalla proteina Pellino, fosforila la proteina tipo anchirina Cactus, la quale rilascia dal citoplasma la proteina Dorsal che così può recarsi ai nuclei del lato ventrale stimolandovi la trascrizione dei geni *twist* e *snail* ed inibendo quella di *decapentaplegico* e *zerknult*.

Un sistema simile di regolazione per trasferimento di proteine ai nuclei lo troviamo nel *Caenorhabditis*, nel quale alcune proteine, come ad esem-

pio Skn1 e Pop1, pur presenti sia nella cellule della linea AB e discendenti che nelle cellule della linea P e discendenti, si recano al nucleo solo in queste ultime.

A conclusione, questo affresco vuole rendere l'impressione di come la natura giochi nello sviluppo con un numero limitato di pezzi per realizzare le composizioni più variabili che sia dato immaginare, come un caleidoscopio, che con pochi tipi di vetrini colorati, ad ogni scuotimento fornisce un nuovo irripetibile esempio della infinita varietà delle forme.

**“Esperimenti sugli ibridi di piante”:
L'applicazione e lo sviluppo delle ricerche di Mendel
in agricoltura***

Luigi Monti¹ e Silvana Grandillo²

I principi scoperti da Mendel hanno trovato una immediata applicazione nel mondo vegetale, ove hanno subito determinato un notevole impatto sulla produzione alimentare mondiale. L'incredibile effetto in agricoltura della riscoperta delle leggi di Mendel e delle ricerche che immediatamente ne seguirono, con incroci ragionati ed una selezione scientificamente corretta, trova riscontro, a mio parere, dall'impennata delle rese per ettaro che nelle piante autogame è stata ottenuta proprio negli anni immediatamente successivi al 1900. Che buona parte di questo incremento nelle rese sia da attribuire alla messa in coltura di varietà più produttive, oltre che certamente all'uso di più adeguate tecniche colturali, è corroborato anche dall'impennata di produttività del mais nel 1935, quando i primi ibridi di questa specie allogama entrarono in coltivazione.

La comprensione della base genetica dell'eterosi, dei caratteri quantitativi, dell'eredità materna, della mutagenesi sperimentale, della poliploidia, con i contributi di altre scienze di base come la fisiologia, la patologia, l'entomologia, la biochimica e l'ingegneria agraria, ha determinato un miglioramento genetico delle piante sempre più efficiente ed efficace. Più recentemente, l'ulteriore progredire delle conoscenze di base soprattutto nei settori delle colture *in vitro* e della biologia molecolare ha reso possibile il raggiungimento di obiettivi precedentemente preclusi ed ha trasformato il miglioramento genetico in una tecnologia capace di pilotare l'evoluzione dell'agricoltura.

* Contributo n. 217 del CNR-IMOF Istituto per il Miglioramento Genetico delle Pianta da Orto e da Fiore - Portici (NA).

¹ Dipartimento di Scienze Agronomiche e Genetica Vegetale, Università di Napoli “Federico II”.

² CNR-IMOF Istituto per il Miglioramento Genetico delle Pianta da Orto e da Fiore, Portici (NA).

Nel 1984 abbiamo partecipato ad un Convegno in commemorazione del primo centenario della morte di G. Mendel che si è tenuto all'Università della Tuscia in Viterbo e siamo lieti di illustrare oggi in questo convegno come stanno cambiando gli obiettivi della ricerca genetica in conseguenza del progredire delle conoscenze di base.

1. Interazione geni-ambiente

L'importanza delle leggi di Mendel era risultata ancora più evidente, quando si era potuto accertare con studi successivi che essi regolavano non solo geni per caratteri tutto o niente, ma anche quelli per caratteri di importanza agronomica di tipo quantitativo, determinati cioè da una pluralità di geni e sui quali un ruolo importante viene giocato dall'ambiente.

Il problema dell'influenza dell'ambiente sull'espressione di alcuni caratteri era ben presente a Mendel che nella sua memoria "Esperimenti sugli ibridi di piante" presentata alla Società dei Naturalisti di Brno in Moravia nel 1865, cita gli esperimenti sulla durata della fioritura delle piante (un carattere di tipo quantitativo), esperimenti che "devono affrontare varie difficoltà e richiedono grande attenzione per le sensibili oscillazioni della temperatura durante tutta la durata della fioritura". D'altra parte, che il ruolo dell'ambiente sull'agricoltura sia enorme risulta anche dal fatto che il maggior impegno degli addetti all'agricoltura è sempre stato sostanzialmente quello di limitare le conseguenze della variabilità del clima durante la coltivazione. La maggior parte delle pratiche agricole messe in atto ha avuto lo scopo di prevenire l'azione limitante dell'ambiente: l'irrigazione, i trattamenti pesticidi, le lavorazioni del terreno, i trattamenti fertilizzanti ed infine la creazione di strutture più o meno fisse per tentare di isolare le colture dell'ambiente stesso, come le serre. Con la selezione sempre più cosciente e mirata di tipi prima e genotipi poi, la genetica ha cercato di capovolgere questa impostazione, cercando di adattare i genotipi all'ambiente, con la ricerca di tipi più adatti geneticamente a sopportare le variazioni eco-climatiche e più capaci a resistere agli stress biotici ed abiotici.

Con la genetica si cerca oggi di ridurre sempre di più l'input di sostanze chimiche nell'ambiente agricolo costituendo varietà resistenti ad insetti e malattie tolleranti la siccità e gli altri stress abiotici, che abbisognano di minori fertilizzanti, in modo da ridurre i pesticidi, limitare il consumo di acqua per l'irrigazione e ridurre i fertilizzanti; questa tendenza rientra nel concetto di agricoltura sostenibile, cioè di un'agricoltura capace di produrre evitando il depauperamento delle risorse naturali (risorse genetiche, acqua, suolo etc.). Oggi la genetica vegetale punta pur sempre all'incremento delle rese per ettaro, una necessità questa determinata dagli enormi problemi della fame e della malnutrizione nei Paesi in via di sviluppo, ma che, in particolare, nei Paesi sviluppati, deve conciliarsi con altre esigenze derivate soprattutto dalla richiesta dei consumatori.

2. Risorse genetiche vegetali

Con il progredire della ricerca genetica, i campi degli agricoltori hanno visto varietà sempre più produttive, ma contemporaneamente un incredibile restringimento della variabilità genetica sia tra le specie sia a livello di singole specie. L'agricoltura si è man mano concentrata infatti su poche specie e nell'ambito di ciascuna di queste poche specie su poche varietà, cioè sulle varietà più produttive.

I dati sul numero delle specie e delle varietà utilizzate oggi in agricoltura sono eloquenti: da circa 270.000 specie vegetali che rappresentano la flora del pianeta, solo circa 300 specie sono utilizzate in agricoltura; di queste specie, non più di 30 sono quelle veramente importanti per l'alimentazione e che sono principalmente presenti sui mercati. Se poi si prendono in esame i dati quantitativi, si vede che oltre il 60% dell'apporto di proteine e di calorie nell'alimentazione umana deriva solamente da frumento, riso e mais. Ovviamente su queste tre specie si è concentrata maggiormente l'attenzione della ricerca genetica, con progressi di rese per ettaro in continuo aumento (tab.1). Non solo quindi l'alimentazione umana si basa su un numero molto ridotto di specie, ma, nell'ambito anche di queste circa 300 specie, il numero di varietà utilizzate sta diminuendo sempre di più a causa dell'erosione genetica; questo fenomeno trae origine da cause diverse, la principale delle quali deriva proprio dall'immissione sul mercato di nuove varietà più produttive che sostituiscono quelle preesistenti.

Uno degli scopi della genetica vegetale oggi è di aumentare il numero delle specie a disposizione degli agricoltori, valorizzando specie vegetali in disuso (come il farro) o neglette (come la rucola) o utili per scopi nuovi e diversi dall'alimentare (piante per la produzione di biomassa, piante medicinali, piante utili a monitorare e ripulire l'ambiente etc.) (tab. 2). La genetica vegetale cerca inoltre di conservare i vecchi genotipi e le vecchie varietà per valorizzarli come tali per un'agricoltura di élite, adoperando anche tecniche di biologia molecolare per un loro fingerprinting. Sono oggi numerosi gli ecotipi che possono essere riconosciuti a livello di plantula con tecniche molecolari sia in piante erbacee (per esempio il pomodoro San Marzano), che in piante arboree (per esempio la mela Annurca) (Rao *et al.*, in stampa; Zhu *et al.*, 1997).

Tab. 1 - Superficie coltivata e media delle rese a livello mondiale dei principali cereali (dati F.A.O.)

Specie	Superficie (ha x 10 ⁶)			Rese (t/ha)		
	1971	1991	1999	1971	1991	1999
Frumento	225	232	215	1,6	2,5	2,7
Riso	133	146	155	2,4	3,5	3,8
Mais	130	140	139	2,2	3,8	4,3

Tab. 2 - Esempi di specie recuperate o valorizzate con intervento genetico

SPECIE	INTERVENTO GENETICO
<i>Triticum monococcum</i> e <i>T. dicoccum</i> (Farro)	Ottenimento di varietà commerciali
<i>Diplotaxis tenuifolia/muralis</i> (Rucola e Rughetta)	Ottenimento di varietà commerciali
<i>Lathyrus</i> (Cicerchia)	Selezione di varietà con basso contenuto del fattore che causa il latirismo
<i>Gentiana lutea</i> (Genziana)	Selezione di varietà a sviluppo rapido e buona produzione di massa radicale
<i>Coridothymus capitatus</i> (Timo)	Varietà con alto contenuto in olii essenziali
<i>Canavalia ensiformis</i> (Jackbean)	Identificazione di prodotto anticancerogeno (trigonelline)
<i>Cichorium spp.</i> (Cicoria selvatica)	Ottenimento di varietà con alto contenuto in inulina, usata per la preparazione di sciroppo di fruttosio
<i>Lablab purpureus</i> (Lablab Bean)	Identificazione di prodotto anti-ipertensivo
<i>Indigofera arrecta</i> (Common Indigo)	Identificazione di prodotto anti-leucemico (indirubin)

Il miglioramento genetico delle piante si basa infatti sull'aumento più o meno pilotato della variabilità genetica, sull'identificazione di ricombinanti potenzialmente utili e sulla loro validazione agronomica mediante test comparativi. È dalla riscoperta delle leggi di Mendel in poi che le piante vengono modificate in modo mirato e responsabile, introducendo in esse tutta una serie di caratteristiche utili adoperando le tecniche messe a disposizione dal progredire delle conoscenze genetiche per aumentare sempre di più la variabilità genetica entro cui selezionare i genotipi utili.

Una volta utilizzata la variabilità genetica più facilmente disponibile all'interno delle specie da migliorare con incroci intraspecifici, o con mutagenesi sperimentale, si è fatto e si fa ricorso alle specie più o meno imparentate attraverso incroci interspecifici. Molti sono i geni ed i caratteri che sono stati trasferiti dalle specie selvatiche nelle specie coltivate, utilizzando tecniche varie per superare le barriere all'incrocio inter-specifico ed in particolare la coltura *in vitro* degli embrioni ottenuti dopo incrocio, l'uso

Tab. 3 - Esempi di incroci interspecifici ed intergenerici ottenuti tramite coltura in vitro di embrioni e mutanti meiotici (gameti 2n e mutanti ph) per il trasferimento di caratteri utili da una specie selvatica a quella coltivata

INCROCIO	FINALITÀ	REFERENZA
Coltura in vitro di embrioni		
<i>Triticum durum</i> x <i>Secale cereale</i>	Nuovo genere, il <i>Triticale</i> spp.	Muntzinga, 1936
<i>Lycopersicon esculentum</i> x <i>L. peruvianum</i>	Resistenza a virus	Smith, 1944
<i>Malus communis</i> x <i>Malus</i> spp.	Resistenza a patogeni	Lu e Wu, 1986
<i>Solanum acaule</i> x <i>S. tuberosum</i>	Resistenza a virus	Iwanaga et al., 1991
<i>Allium chinense</i> x <i>A. cepa</i>	Resistenza a <i>Botrytis</i> spp	Nomura e Makara, 1993
<i>Brassica oleracea</i> x <i>B. campestris</i>	Resistenza a <i>Plasmiodiophora brassicae</i>	Bradshaw et al., 1997
<i>Sinapsis alba</i> x <i>Brassica napus</i>	Resistenza ad insetti, siccità, alte temperature	Brown et al., 1997
<i>Oryza sativa</i> x <i>O. latifolia</i>	Resistenza a <i>Xantomonas oryzae</i> pv. <i>oryza</i>	Kaushal e Ravi, 1998
<i>Raphanus sativus</i> x <i>Brassica napus</i>	Resistenza a nematodi	Pan e Friedt, 1999
<i>Eruca sativa</i> x <i>Brassica rapa</i>	Maschiossterilità citoplasmatica	Matsuzawa et al., 1999
Gameti 2n		
<i>Trifolium ambiguum</i> x <i>T. repens</i>	Resistenza a virus	Anderson et al., 1991
<i>Arachis hypogaea</i> x <i>A. stenosperma</i>	Resistenza a <i>Meloidogyne arenaria</i>	Singist et al., 1995
<i>Solanum commersonii</i> x <i>S. tuberosum</i>	Resistenza al freddo, acclimatamento	Carputo et al., 1997
<i>Solanum sparsipilum</i> x <i>S. tuberosum</i>	Resistenza a <i>Globodera pallida</i>	Ortiz e Iwanaga, 1997
Mutanti Ph		
<i>Triticum aestivum</i> x <i>T. timopheevii</i>	Resistenza a <i>Tilletia indica</i>	Shnaider et al. 1988
<i>Triticum aestivum</i> x <i>Agropyron fragile</i>	Resistenza luteovirus BYDV	Ahmad e Comeau, 1991
<i>Triticum aestivum</i> x <i>Aegilops variabilis</i>	Resistenza a <i>Tilletia indica</i>	Mujeeb, 1992
<i>Triticum aestivum</i> x <i>Thynopirum intermedium</i>	Resistenza luteovirus BYDV	Banks et al. 1995

di geni Ph che inducano l'appaiamento di cromosomi omologhi afferenti quindi a specie diverse, oppure l'uso di mutazioni meiotiche che determinano la formazione di gameti $2n$ permettendo l'incrocio tra specie con diversi livelli di ploidia (tab. 3). Una maggiore precisione nel modificare le piante viene oggi dall'uso della tecnica del DNA ricombinante, di cui al paragrafo successivo.

3. Piante transgeniche

Da più di 20 anni è possibile trasformare vegetali ed oggi quasi tutte le più importanti specie vegetali di importanza agronomica possono essere trasformate, il che significa che è possibile trasferire geni da una specie ad un'altra senza alcuna limitazione (tab. 4) (Monti *et al.*, 1998).

Tab. 4 - Esempi di caratteristiche modificate da geni inseriti in piante transgeniche già in commercio od in sperimentazione

CARATTERE	GENE UTILIZZATO	EFFETTO GENE INSERITO
Resistenza ad insetti	δ -endotossina del <i>Bacillus thuringiensis</i>	La tossina è tossica per gli insetti
Resistenza a virus	• Proteina del capsido virale • RNA antisenso • RNA satellite	Interferenza con replicazione e diffusione del virus
Tolleranza a erbicidi	Analogo EPSP sintasi	Insensibilità al glifosato
Resistenza a funghi	Proteine inattivanti i ribosomi (RIP)	Inibizione sintesi proteica dei funghi
Resistenza a carenza idrica	Mannitolo 1P-deidrogenasi	Accumulo mannitolo
Maschiosterilità	Ribonucleasi e inibitore della Ribonulasi (Barbase/barstar)	Distruzione cellule del tappeto dell'antera/ ripristino maschiosterilità
Maturazione e conservazione dei frutti	Poligalatturonasi	In antisenso blocco degradazione della pectina
Colore del fiore	ACC sintasi diidroflavonol-4 reduttasi	In antisenso blocco sintesi etilene, sintesi di antociani
Composizione degli olii	$\delta 9$ -stearoil-desaturasi	In antisensi accumulo acidi grassi saturi
Qualità nutrizionali	Pathway della biodiversità del β -carotene (Phytoene sintasi e desaturasi, lycopene β -cyclasi)	Produzione di provitamina A nell'endosperma di riso
Produzione plastica biodegradabile	Poliidrossibutirrato di <i>Alcaligenes eutrophus</i>	Diversificazione del metabolismo dei carboidrati
Produzione vaccini	Geni per tossine microbiche e virali	Sintesi costitutiva di antigeni virali in prodotti vegetali commestibili

Sono state ottenute piante transgeniche resistenti ad insetti, a virus, a funghi, a bassa temperatura ed alta temperatura, a carenze idriche e ad eccessi di sale nel terreno; sono state ottenute piante resistenti ad erbicidi, piante maschio-sterili utilizzabili per la produzione di seme ibrido, piante con maturazione differita dei frutti, o con fiori modificati nella morfologia e nel colore. Sono state realizzate piante che producono oli più adatti a particolari usi industriali ed ancora piante che producono plastica biodegradabile. Di recente sono state ottenute piante transgeniche che producono vitamina A in maggior quantità ed addirittura piante che producono vaccini (Monti *et al.*, 2000).

La tecnica del DNA ricombinante ha potenzialità enormi, che non può essere scalfita dalle critiche addossate alle prime varietà in commercio ottenute con i primi geni disponibili, varietà che possono essere considerate quasi dei prototipi, tant'è che oggi già si parla di OGM di seconda generazione realizzati con tecniche più sicure, con geni provenienti principalmente dal mondo vegetale e con obiettivi di maggiore interesse per i consumatori.

Certamente gli OGM possono dare un contributo sostanziale per combattere la fame e la malnutrizione dei PVS, come dimostrato per esempio da una linea di riso ricca in vitamina A, che potrà salvare dalla cecità milioni di bambini che vivono nell'Africa tropicale e che soffrono per questa deficienza (Ye *et al.*, 2000).

È chiaro che le esigenze dei consumatori europei e dei Paesi industrializzati sono ben diverse e richiedono dagli OGM benefici diversi e rivolti soprattutto al miglioramento della qualità della vita.

C'è da chiedersi cosa penserebbe l'Abate Mendel delle polemiche oggi in corso sugli OGM: probabilmente si rammaricherebbe che dopo i 35 anni già perduti per riscoprire le sue leggi, si debba perdere altro tempo oggi per sfruttarne al massimo le potenzialità!

4. La selezione assistita da marcatori molecolari

Le tecniche convenzionali di miglioramento genetico prevedono l'incrocio tra due genotipi e l'ottenimento di popolazioni con un'ampia variabilità genetica su cui procedere con la selezione. Con le applicazioni della biologia molecolare, la selezione da fenotipica sta diventando sempre più genotipica e quindi mirata: attraverso l'uso di marcatori molecolari associati ai geni responsabili del carattere, è possibile oggi rendere molto più efficiente la selezione. L'uso dei marcatori molecolari ha reso poi finalmente efficiente anche la selezione per caratteri quantitativi (QTL) ed ha aumentato l'importanza degli incroci interspecifici con specie selvatiche, ove infatti con queste tecniche sono stati identificati e mappati QTL utili e positivi per il miglioramento genetico; è importante sottolineare che questi geni erano nascosti nei genotipi selvatici e solo l'analisi molecolare ha reso

possibile individuarli ed utilizzarli. Con queste tecniche è stato possibile ottenere, per esempio, linee di pomodoro migliorate per caratteri relativi alla qualità del frutto, dopo incrocio tra pomodoro e diverse specie selvatiche (Grandillo *et al.*, 1999). In questo modo è possibile recuperare numerosi alleli presenti nel germoplasma delle specie selvatiche e che sono andati perduti durante la domesticazione.

Diversi metodi molecolari sono stati sviluppati in questi ultimi anni per identificare tipi diversi di sonde utili per evidenziare il polimorfismo nel DNA genomico. Per le principali specie vegetali sono state costruite mappe di associazioni molto dense nelle quali sono presenti sia geni che codificano per caratteri agronomicamente importanti sia marcatori molecolari.

Lo studio dei genomi, noto anche come Genomica, che si è particolarmente sviluppato negli ultimi cinque anni, consiste nel mappare, sequenziare ed analizzare genomi al fine di determinare la funzione dei geni. L'informazione e la conoscenza ottenuta dall'applicazione della genomica potrà essere utilizzata per migliorare i caratteri utili delle piante attraverso l'ingegneria genetica e nuove strategie di miglioramento genetico.

La genomica comparativa utilizza poi l'informazione genetica ricavata da una specie per aiutare a decifrare quella di un'altra. È possibile in questo modo determinare il contenuto e l'ordine genico, i modelli dell'espressione genica durante lo sviluppo, e come un particolare gene si sia conservato attraverso l'evoluzione da organismi più semplici a quelli più complessi.

Nelle piante, il sequenziamento del genoma di *Arabidopsis* sta per essere completato e quello del riso dovrebbe seguire immediatamente, ed a causa della sintenia del genoma del riso con quelli degli altri cereali, anche i genomi di grano e di mais potranno essere più facilmente decifrati. L'uso della mappatura comparata ha infatti rivelato un inatteso livello di conservazione del contenuto ed ordine genico nell'ambito delle graminacee, crucifere, leguminose e solanacee (Gale e Devos, 1998). La colinearità delle mappe, nell'ambito di una stessa famiglia, appare essere sufficientemente buona per poter riuscire ad isolare geni da una specie vegetale sulla base delle conoscenze ricavate da un'altra specie vegetale, come indicato dalla completa colinearità attraverso 3 geni in una regione di 20 kb di riso e sorgo (Chen *et al.*, 1997). La successiva domanda chiave alla quale si sta cercando di dare una risposta riguarda la possibile conservazione dell'ordine dei geni tra specie filogeneticamente più distanti ed in modo particolare tra monocotiledoni e dicotiledoni, la cui divergenza evolutiva risale a 240 milioni di anni fa. I risultati ottenuti sino ad ora sono tuttavia contraddittori, ed alcuni studi indicano solo una limitata colinearità tra specie monocotiledoni e dicotiledoni (DeVos *et al.*, 1999; van Dodeweerd *et al.*, 1999).

Sebbene sequenziare il DNA genomico sia la sola via sicura per accedere a tutti i geni di un organismo, tuttavia, il processo è costoso e lento per cui nel breve periodo il completo sequenziamento degli eucarioti superiori

sarà disponibile solo per un numero limitato di specie. Un metodo più rapido per ottenere informazioni sulle sequenze codificanti, che è stato utilizzato per più di una decina di anni come metodo per l'individuazione di geni, è dato dal sequenziamento casuale di cloni di cDNA (EST) (Costanzo *et al.*, 1983; Putney *et al.*, 1983).

Grazie al costo relativamente basso, le sequenze EST sono state ampiamente accettate come la via più efficiente per individuare un gran numero di geni di un organismo (Medzhitov *et al.*, 1997; Nakamura *et al.*, 1997). Le banche dati di EST si sono inoltre dimostrate una straordinaria risorsa per effettuare la comparazione di sequenze interspecifiche, nonché hanno fornito marcatori per la costruzione di mappe genetiche e fisiche e cloni per l'analisi di espressione.

La genomica, dalle sue finalità iniziali (Genomica strutturale), sta ora spostando la sua enfasi sulla determinazione della funzione genica (Genomica funzionale) mediante l'analisi simultanea dell'espressione genica estesa ad interi genomi (Bouchez e Höfte, 1998). I vari progetti EST stanno producendo tecniche sempre più sofisticate e sensibili che impiegano "microarray" di DNA stampato ad alta densità su supporto di vetro che possono permettere di individuare mRNA poco abbondanti (fino a 1:100.000 della popolazione totale di mRNA) (Schena *et al.*, 1995, DeRisi *et al.* 1997). Si prevede che, nel breve periodo, i "microarray" di EST contribuiranno a risolvere importanti quesiti di biologia vegetale, ma che successivamente verranno sostituiti da una nuova generazione di "chips" di espressione basati su tecnologie alternative e su sequenze genomiche complete.

Un limite dell'approccio cDNA è dato dal fatto che può essere quasi impossibile ottenere un cDNA rappresentante ciascun gene. Pertanto, la mutagenesi casuale automaticamente offre un approccio "normalizzato" per l'individuazione dei geni e rappresenta quindi una seconda strada per la genomica funzionale. Per ottenere mutanti dei geni identificati in programmi di sequenziamento si possono utilizzare metodologie di inattivazione genica avvalendosi di elementi di inserzione (T-DNA o transposoni) (Bouchez e Höfte, 1998). Tali elementi per effetto delle inserzioni inattivano i geni e permettono di clonare gli stessi impiegando specifiche sonde in prossimità dell'elemento stesso.

In generale, tuttavia, le informazioni sui profili di espressione del mRNA non sono sufficienti a descrivere le modalità con cui l'espressione genica è regolata all'interno di una cellula. I dati di espressione proteica sono più informativi rispetto ai dati di espressione di mRNA anche se sono molto più difficili da ottenere in modo parallelo. Il termine Proteomica è stato coniato per riferirsi allo studio del complemento proteico totale espresso da un genoma ed anche in questo settore si stanno sviluppando metodi sempre più sensibili (Bouchez e Höfte, 1998).

5. Conclusioni

La genomica, la proteomica e la bio-informatica stanno per accelerare in maniera incredibile le conoscenze sulla biologia vegetale, con ricadute applicative anche abbastanza immediate.

Certamente lo sviluppo molecolare dei principi genetici scoperti da Mendel rappresenta oggi il settore trainante del progresso in agricoltura e di ciò Mendel, figlio di contadini, sarebbe stato particolarmente orgoglioso.

6. Bibliografia

- Ahmad F., Comeau A., 1991. A new intergeneric hybrid between *Triticum aestivum* L. and *Agropyron fragile* (Roth) Candargy: variation in *A. fragile* for suppression of the wheat Ph-locus activity. *Plant Breeding*, 106: 275-283.
- Anderson J.A., Taylor N.L., Williams E.G., 1991. Cytology and fertility of the interspecific hybrid *Trifolium ambiguum* x *T. repens* and backcross populations. *Crop Science*, 31: 683-687.
- Banks P.M., Larkin P.J., Bariana H.S., Lagudah E.S., Appels R., Waterhuose P.M., Brettell R.I.S., Chen X., Xu H.J., Xin Z.Y., Qian Y.T., Zhou X.M., Cheng Z.M., Zhou G.H., 1995. The use of cell culture for subchromosomal introgression of barley yellow dwarf virus resistance from *Thinopyrum intermedium* to wheat. *Genome*, 38: 395-405.
- Bouchez D., Hofte H., 1998. Functional genomics in plants. *Plant Physiol.*, 118: 725-732.
- Bradshaw J.E., Gemmell D.J., Wilson R.N., 1997. Transfer of resistance to clubroot (*Plasmodiophora*) to swedes (*Brassica napus* L. var. napobrassica Peterm) from *B. rapa*. *Annals of Applied Biology*, 130: 337-348.
- Brown J., Brown A.P., Davis J.B., Erickson D., 1997. Intergeneric hybridization between *Sinapsis alba* and *Brassica napus*. *Euphytica*, 93: 163-168.
- Carputo D., Barone A., Cardi T., Sebastiano A., Frusciante L., Peloquin S.J., 1997. Endosperm Balance Number manipulation for direct *in vivo* germplasm introgression to potato from a sexually isolated relative (*Solanum commersonii* Dun.). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94: 12013-12017.
- Chen M.S., Sanmiguel P., De Oliveira A.C., Woo S.S., Zhang H., Wing R.A., Bennetzen J.L., 1997. Microcolinearity in sh2-homologous regions of the maize, rice, and sorghum genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94: 3431-3435.
- Costanzo F., Castagnoli L., Dente L., Arcari P., Smith M., Costanzo P.,

- Raugel G., Izzo P., Pietranaolo T.C., Bougueleret L., Cimino F., Salvatore F., Cortese R., 1983. Cloning of several cDNA segments for human liver proteins. *EMBO J.*, 2: 57-61.
- DeRisi J.L., Iyer V.R., Brown P.O., 1997. Exploring the metabolic and genetic control of gene expression on a genomic scale. *Science*, 278: 680-686.
- DeVos K.M., Beales J., Nagamura Y., Sasaki T., 1999. Arabidopsis-rice: will colinearity allow gene prediction across the eudicot-monocot divide? *Genome Res.*, 9: 825-829.
- Gale M.D., Devos K.M., 1998. Comparative genetics in the grasses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95 (5): 1971-1974.
- Grandillo S., Bernacchi D., Fulton T.M., Zamir D., and Tanksley S.D., 1998. "Advanced backcross QTL analysis: a method for the systematic use of exotic germplasm in the improvement of crop quality". XV Congresso EUCARPIA, Viterbo, Italy. September 20-25, 1998.
- Iwanaga M., Freyre R., Watanabe K., 1991. Breaking the crossability barriers between disomic tetraploid *Solanum acaule* and tetrasomic tetraploid *S. tuberosum*. *Euphytica*, 52: 183-191.
- Ye X., Al-Babili S., Kloti A., Zhang J., Lucca P., Beyer P., Potrykus I., 2000. Engineering the provitamin A (b-carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid free) rice endosperm. *Science*, 287: 303-305.
- Kaushal P., Ravi S., 1998. Crossability of wild species of *Oryza* with *O. sativa* cvs PR 106 and Pusa Basmati 1 for transfer of bacterial leaf blight resistance through interspecific hybridization. *Journal of Agricultural Science*, 130: 423-430.
- Lu W.Z., Wu G.N., 1986. Current development of biotechnology and its application to plant breeding in China. *Journal of Agricultural Sciences China*, 2: 1-9.
- Matsuzawa Y., MekiyAnon S., Kaneko Y., Bang S.W., Wakui K., Takahata Y., 1999. Male sterility in alloplasmic *Brassica rapa* L. carrying *Eruca sativa* cytoplasm. *Plant Breeding*, 118: 82-84.
- Medzhitov R., Preston-Hurlburt P., Janeway C.A.-Jr., 1997. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature*, 388 (6640): 394-397.
- Monti L., Grillo S., 2000. Contributions of molecular biology to the knowledge and utilization of biodiversity. *Atti del convegno Agriculture, Biotechnology and Chemistry, Accademia Nazionale dei Lincei Roma 30 settembre - 1° ottobre, 1999.*
- Monti L., Grillo S., 1998. Lo stato della ricerca e dell'utilizzazione delle varietà transgeniche. *Sementi Elette*, 3-4: 33-38.
- Mujeeb Kazi A., 1992. Genetic manipulation in wheat (*Triticum aestivum* L.) mediated by the chromosome 5B Ph locus and its significance for the transfer of alien genes. *Annals of Biology ludkiana*, 8: 178-187.

- Nakamura T.M., Morin G.B., Chapman K.B., Weinrich S.L., Andrews W.H., Lingner J., Harley C.B., Cech T.R., 1997. Telomerase catalytic subunit homologs from fission yeast and human. *Science*, 277 (5328): 955-959.
- Nomura Y., Makara K., 1993. Production of interspecific hybrids between rakkyo (*Allium chinense*) and some other *Allium* species by embryo rescue. *Japanese Journal of Breeding*, 43: 13-21.
- Ortiz R., Franco J., Iwanaga M., 1997. Transfer of resistance to potato cyst nematode (*Globodera pallida*) into cultivated potato *Solanum tuberosum* through first division restitution 2n pollen. *Euphytica*, 96: 339-344.
- Pan D.R., Friedt W., 1999. An investigation of transfer of nematode resistance gene from *Raphanus sativus* L. into *Brassica napus* L. *Chinese Journal of Oil Crop Science*, 21: 3, 6-9.
- Putney S.D., Herlihy W.C., Schimmel P., 1983. A new troponin T and cDNA clones for 13 different muscle proteins, found by shotgun sequencing. *Nature*, 302: 718-721.
- Rao R., Manfredi P., Avitabile A., Adinolfi A., Bianchi M., Di Mauro A., Spigno P., Monti L.M., 2000. Molecular Breeding, in corso di stampa.
- Rimpau W., 1891. Krenzungsprodukte landwirtschaftlicher kulturpflanzen. *Landwirtschaftl. Jahrb.*, 20: 335-371.
- Schena M., Shalon D., Davis R.W., Brown P.O., 1995. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science*, 270: 467-470.
- Shnaider T., Peusha Kh., Priilinn O., 1988. An analysis of induced homoeologous pairing in hybrids between *ph* mutant of *Triticum aestivum* and tetraploid wheat species *T. timopheevii* and *T. militinae*. *Wheat Information Service Japan*, 67: 1-3.
- Singsit C., Holbrook C.C., Culbreath A.K., Ozias Akins P., 1995. Progenies of an interspecific hybrid between *Arachis hypogaea* and *A. stenosperma* – pest resistance and molecular homogeneity. *Euphytica*, 83: 9-14.
- Van Dodeweerd A.M., Hall C.R., Bent E.G., Johnson S.J., Bevan M.W., Bancroft I., 1999. Identification and analysis of homoeologous segments of the genomes of rice and *Arabidopsis thaliana*. *Genome*, 42: 887-892.
- Zhu S., Manfredi P., Monti L.M., Rao R., 1997. RAPD Markers useful for the identification of the “Annurca” apple variety and its sport “Rossa del Sud”. *Advances in Horticulture Science*, 11: 120-122.

Il mendelismo nell'insegnamento della scuola secondaria

Sofia Sica*

1. Io devo ringraziare l'Accademia e, in particolare, il Comitato organizzatore per avermi invitata. Confesso il mio disagio nel trovarmi insieme a tanti maestri di Scienza, disagio che ho subito manifestato al prof. Chieffi, quando mi ha invitata per questo consesso, poiché io, come insegnante non posso che esprimere delle idee molto semplici e certamente lontane da quelle dei relatori presenti.

Sono però contenta di poter dire qualcosa che riguardi la Scuola, nella quale gli insegnanti di Scienze sono da sempre impegnati in una lotta impari per un insegnamento adeguato alla valenza delle discipline naturalistiche, valenza spesso disconosciuta e comunque mai abbastanza emergente dall'insegnamento stesso.

Dalla vicenda di Mendel prendo spunto per mettere in evidenza "il fare Scienza", l'importanza della parte sperimentale e dei riferimenti storici; mi sembrano questi gli elementi che posso rilevare e che maggiormente interessano l'insegnamento nella Scuola.

2. Noi oggi ci troviamo di fronte i problemi del degrado ambientale, della salvaguardia della salute pubblica, della sicurezza alimentare e della povertà nel mondo che devono essere affrontati con urgenza. I giovani, le Università, i Media, gli organismi internazionali e tutti i componenti della società civile fanno riferimento alla Scienza ed al consenso che dovrebbe derivare da una corretta cultura scientifica. Una migliore conoscenza dei problemi a livello di massa non può che derivare da una più appropriata educazione scientifica e ciò implica obbligatoriamente un maggiore impegno per l'insegnamento di base senza il quale nessun paese può acquisire capacità di scelte consapevoli; capacità che aumenta nella misura in cui riusciamo ad impadronirci di contenuti scientifici, cioè di strumenti intellettuali capaci di farci entrare nel merito della complessità della Natura e della società umana.

* Liceo Sociopsicopedagogico "Tommaso Capanella", Napoli.

3. Io, quindi, faccio appello agli Scienziati presenti, affinché diano il loro contributo al potenziamento dell'insegnamento scientifico naturalistico nella Scuola italiana, di cui c'è assolutamente bisogno. Oggi, ancora più di ieri, affinché con l'autonomia scolastica, i docenti di Scienze Naturali, sempre in minoranza nei vari Istituti, non vengano ancora di più sacrificati dalla riduzione delle ore di insegnamento e surclassati dall'informatica imperante.

Il sostegno dell'Università, nella Scuola dell'autonomia, non solo è possibile, ma è richiesto e potrebbe dare slancio e vigore al lavoro degli insegnanti, che per troppo tempo sono stati quasi sempre nell'isolamento e nell'impossibilità di modificare in qualche modo l'andamento scolastico istituzionale.

L'insegnamento delle discipline naturalistiche, sempre poco considerato nella Scuola italiana, è stato ulteriormente ridotto nei vari progetti sperimentali presenti in tutti gli Istituti e specialmente nei tecnici, dove è stato adottato il progetto IGEA.

I numerosi cambiamenti della Scuola di oggi ed il moltiplicarsi delle conoscenze biologiche hanno costretto gli insegnanti a ridurre tanti argomenti tradizionalmente affrontati nell'insegnamento/apprendimento delle Scienze Naturali; anche i libri di testo hanno dovuto tagliare o ridurre le tematiche tradizionali a favore delle più nuove acquisizioni scientifiche, ma l'introduzione alla Genetica con l'esperienza di Mendel non solo viene riportata in tutti i testi di Biologia, ma non viene neanche trascurata dagli insegnanti. Ci si chiede come mai tanto successo per degli esperimenti che potrebbero essere trattati anche più sinteticamente facendo solo qualche cenno all'abate Mendel? La risposta, secondo me, sta nel fatto che l'esperienza di Mendel, oltre all'importanza derivante dalla straordinaria scoperta, **è un bell'esempio del fare Scienza.**

4. Prima di tutto gli esperimenti effettuati hanno il pregio di introdurre in maniera molto semplice una nuova branca della Biologia assunta addirittura a nuova disciplina: la Genetica, niente affatto semplice e per la quale non è stato ancora trovato un modo migliore ovvero altri fondamentali concetti che possano in maniera adeguata sostituirsi ad essi.

In secondo luogo l'euristica scientifica è condotta in modo esemplare e dà, quindi, un'idea del procedere quasi parallelo tra ipotesi formulate dallo Sperimentatore e risultati ottenuti e fa toccare con mano l'idea popperiana dello Scienziato che interroga la Natura, sperimentando teorie già in qualche modo presenti nella sua mente, che, pertanto, non è più "*tabula rasa*". Secondo Popper, appunto, l'ipotesi non è del tutto separata dall'esperienza. La rivoluzione epistemologica del filosofo viennese, che rifiuta l'induzione e introduce il concetto di falsificazione, come metodologia comune a tutte le Scienze, ci sembra emergere chiara negli esperimenti di Mendel, nel momento in cui, provando sui suoi piselli, separa, seleziona, conta, prova e riprova secondo un disegno logico ben preciso ed esemplare.

Di questo procedimento non si può fare a meno nella descrizione delle leggi di Mendel e noi insegnanti di Scienze Naturali siamo convinti che la parte sperimentale, che quasi sempre manca nell'insegnamento scientifico, sia indispensabile come supporto a molte asserzioni teoriche, che risultano troppo astratte e spesso incomprensibili per gli studenti.

5. La richiesta di laboratori sia da parte di molti insegnanti sia da parte degli alunni è rimasta fino ad oggi disattesa per vari motivi, certamente non per motivi economici. Dopo tanti anni di esperienza nella Scuola, individuo come fattore principale che ha condizionato la carenza di strutture scientifiche in tutto il nostro Paese, al nord, come al sud, ad eccezione di casi particolari che pure ci sono, la mancanza di una volontà politica condizionata non poco da tante incertezze. Spesso alcuni Docenti universitari si sono espressi contro l'efficacia di un laboratorio scientifico nella Scuola, che tra l'altro, non fa neanche comodo ad alcuni insegnanti e presidi, che non vogliono assumersi la responsabilità che esso comporta, l'impegno ed anche la fatica che ne consegue. Altro elemento a sfavore è determinato dalla perenne mancanza di aule, per cui i laboratori, anche dove sono stati impiantati, grazie alla tenacia di alcuni colleghi, sono stati poi smantellati per dare posto ad aule non attrezzate.

Al di là di questi impedimenti, che sono stati, secondo me, i più gravi, occorre aggiungere poi una certa confusione che si fa tra il laboratorio didattico e quello che dovrebbe servire per l'addestramento professionale. Nei progetti ministeriali compare più o meno velatamente una interpretazione che non ci convince del tutto. Noi insegnanti di Scienze Naturali pensiamo che il laboratorio non sia il luogo dove vengono ripetuti gli esperimenti per fare acquisire pratica e/o per far ripetere quei procedimenti che hanno portato alle conquiste scientifiche, come spesso si sente dire; mai un insegnante di scienze ha pensato una cosa simile. Gli esperimenti nella Scuola devono servire per dare un supporto all'acquisizione teorica, che risulta talvolta di difficile comprensione. Essi sono la specificità disciplinare delle scienze cosiddette "sperimentali" e devono essere possibili per tutti, anche se con modalità diverse, dai bambini, agli adolescenti, agli universitari che si preparano per la funzione docente nella Scuola.

A tal proposito voglio proporre un brano di Giuseppe Lombardo Radice (1879 - 1938), tratto da *Athena fanciulla: scienza e poesia nella scuola serena*. Bemporad, Firenze, 1925 e presentato per una discussione alla prova di pedagogia negli attuali esami di Stato.

Il pedagogista catanese così si esprime: "Il bambino è scienziato, quando è poeta. È poeta; vive tutto nelle cose che ama e amorosamente ritrae con quella veridicità e vivezza che viene dall'ingenuità e dal sentimento. In ciò stesso è scienziato, come scopritore del mondo in cui vive anche quando non studia scienza. Dategli il mezzo di far prova di sé, dategli centri di interesse, aiutatelo a svolgersi come buoni giardinieri aiutano le piante dei loro fiori, ed abbiate la santa, veramente santa pazienza di aspettare che il suo spirito

vada maturando. Se gli togliete il lavoro, sostituendo il vostro al suo, voi non siete maestri; se lo imbottite con stoppa di parole, voi lo riducete a fantoccio. Se non offrite al suo spirito un campo d'azione per l'autoeducazione, voi lo vedrete sempre prigioniero e mal rassegnato a quella che sente oscuramente essere una tirannide sotto il nome di scuola....”

Lombardo Radice, non parla di uno scienziato edulcorato in formato pediatrico, ma di ciò che si svilupperà nell'adulto, che è già presente nel bambino, così come qualcosa del bambino è presente in ogni adulto. Vorrei anche sottolineare, per mettere ancora di più in evidenza quanto sia importante fare esperienze dirette, che Mendel era un bambino contadino, figlio di un contadino e per esperienza conosceva certamente molte cose sulla vita della piante, così come il lagonegrese Giuseppe De Lorenzo (1871 - 1956), che da bambino scorrazzava sui monti del Serino e dintorni, geologo illustre scoprì vaste aree di terreni triassici in Lucania e la presenza insospettata di circhi glaciali sulla conca del lago Laudemio, sui monti dell'Imperatrice e del Serino, ecc.

6. Nei contenuti essenziali del M.P.I., previsti per il progetto di riforma della Scuola, si parla del: **“momento applicativo e di indagine e di quello cognitivo/intellettuale**. Il primo viene veicolato attraverso la pratica di laboratorio (reale e virtuale), intesa in una duplice accezione: come spazio finalizzato all'esecuzione di compiti prefissati e all'acquisizione di specifiche abilità sperimentali e come orizzonte culturale nel quale gli studenti possano gradualmente appropriarsi di modi di guardare, descrivere e interpretare i fenomeni naturali che si avvicinano progressivamente a quelli scientificamente accreditati. **Il momento cognitivo** dovrà assumere come obiettivo prioritario quello di restituire in tutta la loro articolazione e complessità i processi cognitivi e intellettuali non riducibili a procedure codificate, le attività di modellizzazione, schematizzazione e formalizzazione, mediante le quali i fenomeni vengono descritti e interpretati.”

Noi diciamo invece che il momento **sperimentale e di indagine e quello cognitivo - intellettuale sono parte integrante l'uno dell'altro**.

Il primo potrà essere veicolato attraverso una pratica di laboratorio intesa come orizzonte culturale nel quale gli studenti possano gradualmente appropriarsi di modi di guardare, descrivere e interpretare i fenomeni naturali e ciò rappresenta lo specifico disciplinare, il supporto necessario alla comprensione dei contenuti teoretici. Inoltre, in alcuni indirizzi di tipo tecnico e professionale, ci sarà anche il momento applicativo, finalizzato all'esecuzione di compiti prefissati e all'acquisizione di specifiche abilità e competenze previste dagli obiettivi operativi.

È evidente la discordanza che si accentua ancora di più rispetto al passato dal momento che si parla di laboratorio reale e virtuale ed abbiamo il sospetto che diventi solo virtuale. Le nostre osservazioni, ieri come oggi, non vengono recepite, perché siamo soggetti deboli; la storia di Mendel si ripete anche se i fatti non sono assolutamente paragonabili.

7. Recentemente il M.P.I. ha mostrato una certa volontà di voler intervenire, diffondendo un progetto per valorizzare la cultura scientifica e tecnologica. Questa decisione del Ministro Berlinguer, scaturita dalla considerazione che la cultura scientifica dei nostri ragazzi è carente rispetto ai livelli europei - e direi che ciò è dovuto proprio alla mancanza di strutture - non sappiamo se potrà realizzarsi davvero e su vasta scala, ma anche in questo caso pensiamo che le discipline naturalistiche possano rimanere emarginate rispetto alla matematica e all'informatica.

8. Nei testi scolastici l'enunciazione delle leggi di Mendel, inoltre, compare intrisa anche di accenni storici. È uno dei pochi argomenti che viene presentato in maniera descrittiva riportando non solo il nome dello Scienziato, come spesso avviene, ma anche qualche riferimento alla sua vicenda umana.

La Scienza viene presentata nei testi scolastici e, più in generale, in ogni caso, come un susseguirsi di argomentazioni senza alcun legame con i fatti storici. Ogni nuova conquista porta automaticamente alla cancellazione delle asserzioni precedenti superate, cioè alla distruzione della memoria. L'assunto scientifico viene predisposto asetticamente al suo posto giusto nel manuale come in un ambiente chiuso e assolutamente distaccato dalla società, liberato da tutto quello che può ricordare l'intreccio con la realtà dei fatti realmente accaduti. In questo modo la Scienza appare lontana dal cittadino comune, che vede in essa talvolta una benefattrice dell'umanità, tal altra un qualcosa che fa paura per i risvolti negativi che può produrre. Non sono sostenitrice di un cambiamento che possa sostituire all'impianto attuale della Scienza un percorso storico *tout court*, ma mi piacerebbe vedere nella Scuola l'utilizzo di più manuali di cui alcuni a sfondo storico, altri di struttura antologica.

Quando, ad esempio, è stato proposto dal Ministro Berlinguer lo studio della storia del '900 nell'ultimo anno della Scuola secondaria superiore, mi sarebbe piaciuto che fosse stato fatto un accenno per inserire nel contesto storico più discipline e certamente le naturalistiche ed in particolare le biologiche, sarebbero state quelle che, essendosi sviluppate enormemente, hanno avuto una maggiore incidenza sulla nostra vita.

La storia del '900 è intrisa di storia della Scienza, nella quale i conflitti, le procedure, le tendenze, le mode, i personaggi sono strettamente legati con la società, la politica, l'economia e quant'altro ci appartiene. Con un approccio storico si potrebbe contribuire a rendere più vivo e avvincente il discorso scientifico e si vedrebbe la Scienza non più ingessata nel suo isolamento, ma intrisa e condizionata, com'è, di fatti umani attinenti a difficoltà, successi ed insuccessi, privilegi, rettitudine, onestà intellettuale, imbrogli, ingiustizie e a tutto quello di cui l'uomo è capace. Potrebbe emergere come, in un determinato momento storico, la tendenza ad accentuare un carattere, ad esempio, l'interpretazione eccessivamente meccanicistica di alcuni fenomeni, potrebbe essere dovuta ad un interesse ad intervenire

sulla natura, sugli esseri viventi, sull'uomo per esclusivo scopo di speculazione economica o socio-politica. In tal modo si potrebbe forse instaurare anche un certo deterrente capace di influire, almeno in parte, positivamente sulle scelte e procedure attuali per alcune carriere universitarie, per l'attribuzione di finanziamenti, per l'asservimento della Scienza a committenze politiche o economiche di vario tipo reali o possibili, ecc., su tutto ciò di cui, a mio parere, la bioetica si dovrebbe forse interessare.

Probabilmente Mendel fu vittima di alcune di queste cose, ma forse, ancora di più, fu penalizzato dall'incomprensione del suo nuovo e rivoluzionario paradigma, che, come tutte le cose nuove, risultò di difficile acquisizione per la mente umana.

Con i suoi esperimenti, incredibilmente geniali nella loro semplicità, Mendel ha legato in maniera indissolubile il suo nome alla Genetica, perché essi non solo costituiscono una iniziale matrice teorica strutturata della disciplina, ma ne definiscono anche gli aspetti tecnici ed epistemici e i risvolti sociali: questa è l'immagine dell'esperienza di Mendel, che la tradizione ci trasmette e che in maniera più o meno chiara appare nell'insegnamento/apprendimento della Scuola secondaria superiore.

Genetica ed etica

Giovanni Chieffi*

Lo sviluppo della ricerca genetica dalla riscoperta delle leggi di Mendel in poi, in particolare quello dell'ultimo cinquantennio, ha suscitato grande entusiasmo non solo nella comunità scientifica, ma anche nell'opinione pubblica. Di questo ultimo cinquantennio sono stato fortunato testimone avendo iniziato gli studi universitari nel lontano 1944, l'anno in cui Avery, McLeod e McCarthy rivelarono che l'informazione del *principio trasformatore* del pneumococco è contenuta nel DNA. Tale scoperta, insieme alla decifrazione della struttura tridimensionale del DNA, avvenuta 10 anni più tardi per opera di Watson e Crick, rappresenta la pietra miliare sulla quale è fondato l'intero edificio della biologia contemporanea.

L'entusiasmo per tali scoperte e per i conseguenti sviluppi delle conoscenze venne frenato agli inizi degli anni Settanta, all'indomani dell'annuncio della possibilità di modificare il patrimonio genetico di un batterio, l'*Escherichia coli*. A tale annuncio seguirono una serie di iniziative per cautelare l'uomo e l'ambiente da eventuali usi distorti di tale scoperta. Furono istituite Commissioni di inchiesta, si ebbe la moratoria di tutte le ricerche di ingegneria genetica per un anno, nel 1975 fu organizzato ad Asilomar in California un Convegno internazionale per discutere i rischi e predisporre le cautele. Da quel momento si è sviluppato un dibattito che coinvolge non solo biologi e medici, ma anche filosofi, teologi, giuristi con lo scopo di consentire lo sviluppo delle prevedibili applicazioni di tali scoperte, cioè quelle che utilizzano le tecniche basate sul DNA ricombinante, nel massimo rispetto dell'ambiente e della salute pubblica. Fare il punto di tale discussione richiederebbe molto tempo. Invece io mi sono riservato solo 15 minuti, certo troppo pochi, ma comunque utili per una riflessione etica, ormai divenuta rituale, ma non retorica, nei convegni dedicati, come questo, ai progressi della genetica.

Ma quali sono stati i motivi che hanno provocato una reazione etica nei

* Dipartimento di Medicina Sperimentale, Seconda Università di Napoli.

riguardi delle biotecnologie? Mi soffermerò su alcune argomentazioni, quelle che considero eticamente tra le più rilevanti.

La genetica molecolare ha permesso lo sviluppo dei test genetici per la identificazione di geni responsabili di malattie o predisponenti ad esse. Tali test, molto semplici da richiedere (sono infatti disponibili anche nell'immenso mercato di internet) rappresentano una conquista importante. Ma quali sono i pericoli di una loro diffusione? Chi può valutarne l'effettiva necessità e il significato dei risultati? In che modo si può garantirne la riservatezza? Di tali test si lamenta un impiego indiscriminato in particolare per le diagnosi prenatali, che sono solo in parte giustificate dall'età sempre più avanzata alla quale le donne decidono di avere il primo figlio. Inoltre l'analisi molecolare permette attualmente di diagnosticare meno di un decimo delle oltre 6000 malattie genetiche note. La diagnosi genetica preimpianto, che consiste nella fecondazione in vitro per poi selezionare, mediante biopsia blastomerica, solo gli embrioni che risultano sani, è da alcuni ritenuta potenzialmente pericolosa per l'eventuale *deriva eugenetica* in quanto offre teoricamente la possibilità di selezionare embrioni sulla base di caratteristiche che nulla hanno a che fare con la loro salute (vedi ad es. la preselezione del sesso). Inoltre la biopsia blastomerica viene effettuata in uno stadio in cui le cellule sono ancora totipotenti per cui essa corrisponderebbe di fatto ad una clonazione e quindi al sacrificio di una cellula in grado di dare origine ad un organismo completo. Anche su questo punto si sono accese discussioni etiche che si rifanno alla *vexata quaestio* di quando inizia la vita individuale.

A parte alcune malattie genetiche che possono manifestarsi anche in tarda età, esistono altre patologie, dette multifattoriali, la cui manifestazione dipende da un insieme di fattori genetici e ambientali, che nessun test potrà mai valutare. Di conseguenza i test genetici hanno in questi casi un valore relativo. Pertanto molto frequentemente le persone, anche se a rischio di patologie familiari, rinunciano ad effettuare un test predittivo per una scelta ponderata fra rischi e benefici clinici e psicologici non solo, ma anche per la paura che la stessa informazione possa arrivare a conoscenza del loro datore di lavoro o delle compagnie di assicurazione, interessati a selezionare tra dipendenti e clienti sulla base della qualità del loro patrimonio genetico. Di qui la necessità di valutare caso per caso l'utilizzazione dei test genetici da parte di genetisti esperti, in particolare per evitare diagnosi prenatali ingiustificate, che invece di servire a rassicurare i genitori, rischiano di creare inutili ansie alla coppia. Infatti non tutte le anomalie che si riscontrano in una diagnosi genetica sono necessariamente indice di patologie gravi. Oltre a ciò bisogna tener conto anche del rischio di abortire un feto sano per errore, come avviene in circa 1 caso su 200 amniocentesi.

Dalla diagnosi genetica ai problemi etici posti dalla terapia genica: la terapia genica somatica, cioè quella che interessa le cellule somatiche dell'organismo, viene generalmente considerata, in assenza di terapie alternative, sullo stesso piano di un trapianto di organo o di tessuto. Dopo un'at-

tenta analisi del rapporto rischio-beneficio, su cui non mi soffermo per ragioni di tempo, e un'adeguata informazione del paziente o del suo rappresentante sulla natura dell'intervento, la terapia genica somatica non pone problemi etici. Invece la terapia genica delle cellule germinali, ovviamente della cellula uovo fecondata, presenta al momento rischi elevati dovuti a possibili danni di tipo fisiologico e di tipo genetico. Infatti è unanime il consenso sulla attuale improponibilità di una correzione genetica per trasferimento di geni esogeni in quanto non esiste a tutt'oggi la possibilità di inserire nel genoma di un organismo il gene giusto nel posto giusto. L'inserimento corretto di un gene esogeno è stato ottenuto solo in popolazioni cellulari coltivate in vitro sfruttando il meccanismo della ricombinazione omologa. Pertanto l'applicazione clinica di questi modelli potrebbe al momento causare danni genetici strutturali come mutazioni in altri geni che portano ad una modificazione della struttura propria del genoma del soggetto con conseguenze imprevedibili nello sviluppo dello stesso individuo e della sua discendenza. Il problema non tocca quindi la singola persona, come nel caso della terapia genica somatica, ma si estenderebbe alla sua progenie e alla collettività, in quanto un intervento sistematico sul genoma di singoli individui può avere riflessi sulla struttura genetica della popolazione. Comunque la terapia genica intesa ad eliminare difetti genetici nelle cellule germinali al momento avrebbe conseguenze imprevedibili e pertanto, ripeto, unanime è il consenso sulla sua inaccettabilità.

Inoltre vi sono alcuni che considerano la terapia genica un ostacolo al processo evolutivo. Infatti i geni difettivi, anche allo stato recessivo, potrebbero avere un significato preadattativo. Alcuni di questi hanno avuto un ruolo importante nell'assicurare la sopravvivenza di gruppi razziali (etnicamente differenti): classico esempio il gene dell'anemia falciforme, il quale allo stato eterozigote protegge dalla malaria. A queste considerazioni, che mettono in guardia contro un intervento comunque modificatore del corredo genetico delle cellule germinali, si aggiungono altre importanti riflessioni etiche. Il rispetto della intangibilità del patrimonio ereditario trova riscontro nel principio della conservazione della identità genetica. Ammesso che sia possibile e auspicabile un intervento mirato della terapia genica, ogni altro intervento sulle cellule germinali che si proponga di selezionare determinati caratteri o di indurre nuovi caratteri porterebbe a quella *deriva eugenetica* cui ho fatto cenno parlando dei test genetici, per due motivi: anzitutto non esistono criteri validi per stabilire quali caratteri debbano essere migliorati a beneficio dell'individuo (e quale tra gli individui?) e della società e poi si correrebbe il rischio di ledere l'identità e la libertà individuali.

Altri interrogativi etici vengono posti dagli interventi terapeutici che si servono degli xenotrapianti che utilizzano organi di animali nel cui genoma vengono inseriti geni umani. Gli xenotrapianti, una volta superati i problemi di compatibilità e di rigetto, consentirebbero di sopperire alla penuria di organi disponibili, superando tutti i problemi concernenti i tra-

pianti tra umani come l'accertamento della morte del donatore, il consenso informato al trapianto, oltre al gravissimo problema del commercio clandestino di organi. Nonostante la forza di questi argomenti, gli xenotrapianti, secondo alcuni, urtano contro qualsiasi principio di giustizia interspecifica e di riconoscimento agli animali di diritti soggettivi, riproponendo il tradizionale pregiudizio antropocentrico dell'uomo *dominus*.

Forse più noti al pubblico sono i problemi etici sollevati dalle biotecnologie agroalimentari, anche per la campagna svolta attraverso i media dagli ambientalisti contro ogni modificazione genetica degli organismi sia per il rispetto dell'ambiente, in particolare della biodiversità, sia per salvaguardare la nostra salute dalla eventuale nocività delle piante transgeniche come fonte di alimenti. Il rischio c'è ed è inutile nasconderselo, anche se innumeri sono in prospettiva i vantaggi derivanti dalle biotecnologie in vista dell'incremento della popolazione mondiale che avrà fra 25 anni circa 2 miliardi di persone in più, di cui il 95% nei Paesi in via di sviluppo.

Infine vorrei dedicare il poco tempo che mi resta ai problemi etici sollevati dalla brevettabilità delle invenzioni biotecnologiche. È giusto che il nostro codice genetico diventi patrimonio di un'azienda farmaceutica? Chi sarà il proprietario dei brevetti? Quale uso farà delle sue ricerche? È possibile che alcuni Paesi divengano tributari di grandi aziende? La brevettabilità delle biotecnologie ha sollecitato una serie di direttive da parte della Comunità europea e del Consiglio d'Europa. Tali direttive sono connesse con lo sfruttamento delle invenzioni biotecnologiche dalle industrie agro-alimentari e farmaceutiche e se da un lato trovano giustificazione in quanto le biotecnologie producono ricchezza e incremento occupazionale, dall'altro suscitano perplessità per le conseguenze pregiudizievoli nei riguardi dei diritti umani e dell'ecosistema. Così come la mappatura del genoma umano conferirebbe al detentore del brevetto il controllo di una serie di conoscenze che potrebbero essere utilizzate per migliorare la qualità della vita. D'altra parte la concessione di diritti di privativa per "un elemento isolato del corpo umano, o diversamente prodotto, mediante procedimento tecnico, ivi compresa la sequenza o la sequenza parziale di un gene" rischia, infatti, se non adeguatamente regolamentata e delimitata, di provocare una pericolosa oggettivazione e mercificazione dell'individuo e del suo organismo con grave pregiudizio per la sua dignità. Infatti la possibilità offerta agli operatori sanitari di brevettare un elemento del corpo umano o una sequenza o una sequenza parziale di un gene, potrebbe facilitare quegli episodi di biopirateria di cui spesso hanno parlato le cronache. Negli Stati Uniti ha destato particolare impressione il caso di concessione di un brevetto per le cellule del pancreas di un individuo che possedeva una inconsueta capacità di produrre insulina. Analogamente è stato brevettato, sempre negli Stati Uniti, un gene appartenente a un individuo che lo rendeva, insieme ai suoi consanguinei, immune da malattie cardio-vascolari nonostante un tasso elevato di colesterolo nel sangue. In entrambi i casi la richiesta e la concessione del brevetto avvenne all'insa-

puta dei soggetti cui apparteneva il materiale organico prelevato e utilizzato furtivamente!

Ma solo per questo è criticabile la brevettabilità delle invenzioni biotecnologiche? Quali conseguenze potrà avere nei Paesi in via di sviluppo la brevettabilità di biotecnologie derivanti dalle loro risorse biogenetiche sfruttate dalle industrie multinazionali? Questi interrogativi vogliono essere lo stimolo a riflettere sul potere enorme di cui disponiamo, cioè quello di modificare e utilizzare il patrimonio genetico degli organismi. E ciò richiede da parte della società grande saggezza nel gestire tale potere, perchè non sempre quello che è tecnicamente possibile, può essere moralmente ammissibile!

