

Genetica del mais:  
nuove tecnologie  
per una  
missione immutata

# Miglioramento Genetico

## MISSIONE 1 :

assicurare l'

## EVOLUZIONE DELLA SPECIE

PROCESSO EVOLUTIVO come **NECESSITA' BIOLOGICA** del VIVENTE

**MIGLIORAMENTO GENETICO = PROCESSO EVOLUTIVO** delle PIANTE COLTIVATE

**RESA** (prod/ha) come **MISURA** del procedere dell'**EVOLUZIONE del mais**

+ efficienza **fotosintetica**

+ tolleranza **stress**

- Risorse naturali (**terra**)

- **costi unitari** di produzione



**RESA**



# Le stagioni del miglioramento del mais

## 1. Domesticazione dei cereali

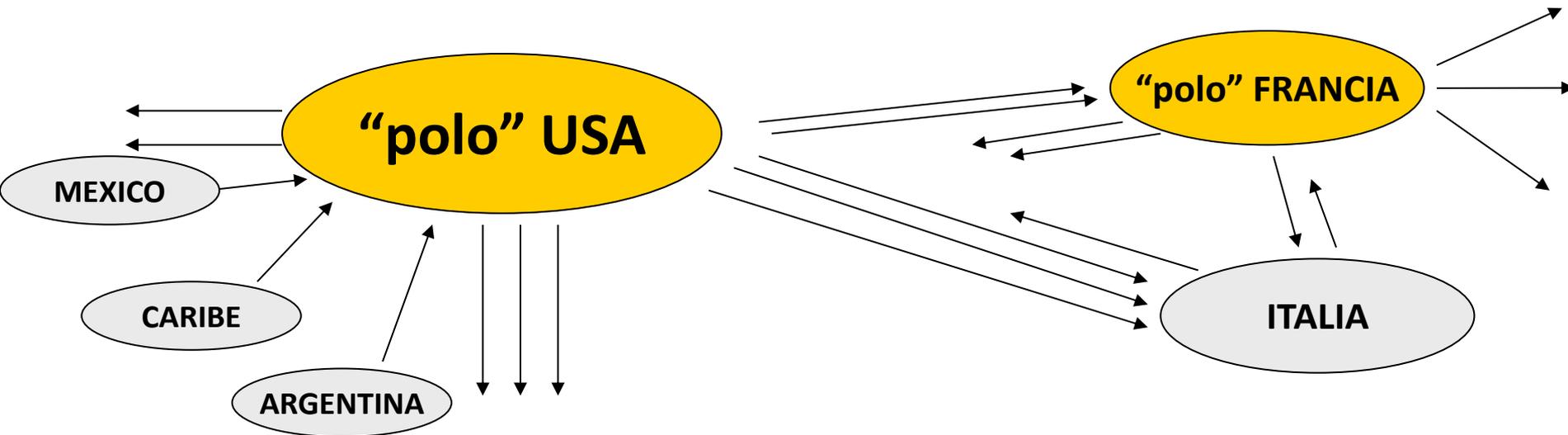
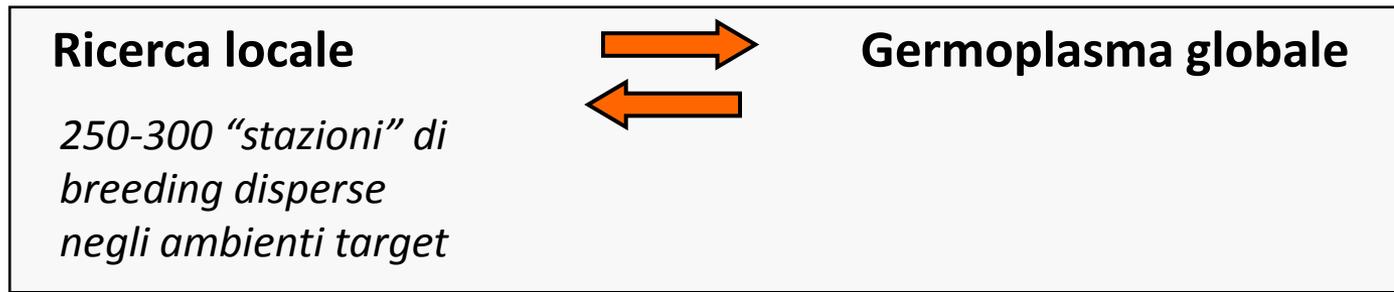
- Mutazioni catastrofiche
- Cambiamenti morfologici favorevoli alla coltura pura

## 2. Pre-rivoluzione verde: *plant breeding* “Local”

- Attività diffusa e non professionale
- Migliaia di varietà O.P., Ecotipi e Landraces come variabilità genetica “tutta nell’ambiente”
- Selezione massale, ibridazione-ricombinazione casuale, nuove “accessioni” per scambi commerciali e scoperte
- Rapidi guadagni genetici nella colonizzazione di nuove aree seguiti da stagnazione

### 3. Rivoluzione verde: *plant breeding* “Glocal”

- **Mendel e basi genetiche** dell’ereditarietà dei caratteri
- Eterosi **e semente ibrida**
- **Attività professionale**, attività sementiera separata dalla coltivazione



“pochi” ibridi H.Y. Sostituiscono migliaia di varietà OP

# PLANT BREEDING VS SOSTENIBILITA' GENETICA

- Rischi di **vulnerabilità genetica** aggirati immettendo nel sistema evolutionario nuove forme di variabilità genetica:
  - *Diversity on time* (N.W. Simmonds): continuo ed efficiente “replacement” delle varietà in coltivazione

# PLANT BREEDING VS SOSTENIBILITA' GENETICA

- ***Diversity on reserve*** (D. Duvick): per 10 varietà in “prima linea” 30-40 varietà in iscrizione, 2-300 varietà in testing avanzato, 2-3000 topcrosses preliminari, centinaia di popolazioni ricombinanti il migliore germoplasma mondiale.  
La variabilità genetica “risiede” nelle nurseries
- ***Diversity in advance*** (D. Duvick): resistenze genetiche per patogeni e stress individuate nelle aree di “endemismo” e trasferite nel germoplasma globale, “anticipano” i patogeni e prevengono pandemie e gravi instabilità di resa
- ***Augmented diversity***: nei relativamente pochi materiali elite viene creata una concentrazione di alleli favorevoli proveniente dall'intera vicenda evolutiva della specie, superiore ad intere collezioni “regionali” di germoplasma

# Alcuni “fondamentali”

- Gigantesco processo “a più mani” di SELEZIONE RICORRENTE RECIPROCA nel quale i parentali degli ibridi migliori (ciclo n) vengono ricombinati per dare origine alla generazione successiva (ciclo n + 1) di materiali in coltivazione

Selezione ricorrente  
vs  
Selezione pedigree

!?!

# Alcuni “fondamentali”:

## approccio empirico “G X E” , breeding “fenotipico”

- Crea nuova variabilità mediante la ricombinazione
- **Sottoponila all’ambiente** (fisico-climatico; agronomico; farmer; end-user)
- **Interpreta la risposta**

### MOLTO PROGRESSO DA:

- Meccanizzazione
- Informatizzazione
- Facilitazione degli scambi
- Data management
- Miglioramento testing
- Winter nursery

### POCO CAMBIAMENTO DA:

- Mutagenesi
- Genetica di popolazione e quantitativa
- Fisiologia dei “bottle-neck”

**50 % ARTE**

**50 % SCIENZA**

- Mendelismo, base genetica dei caratteri, genetica formale
- Crop physiology
- Biometria e statistica
- Patologia
- Agronomia

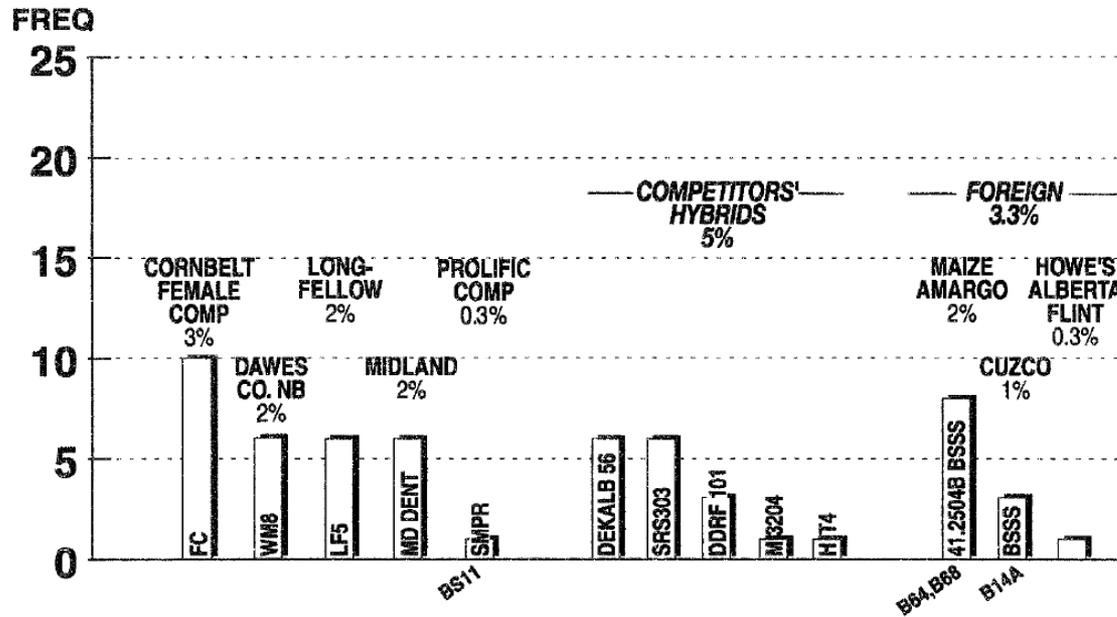
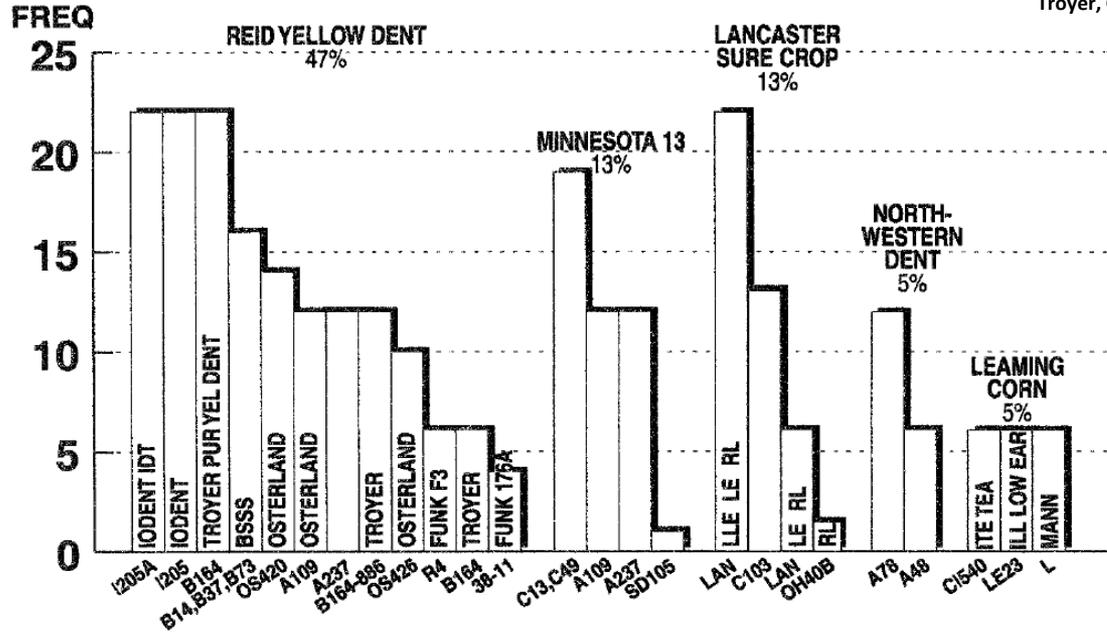
## Alcuni “fondamentali”:

### Organizzazione del germoplasma in breeding “groups”

Il raggruppamento di genotipi con **ATTITUDINE COMBINATORIA** o **RISPOSTA ETEROTICA** prevedibile quando incrociati con genotipi di altro *breeding group* e la predisposizione di “*formulas*” o “*Heterotic pattern*” tra i vari *breeding group* facilita enormemente l’indirizzamento dei programmi di miglioramento e la previsione della quantità di eterosi ottenibile

# Breeding "groups"

Troyer, Crop Sci. 2004 44: 370-380



# MISSIONE 2 : aumento delle rese e disp. cibo

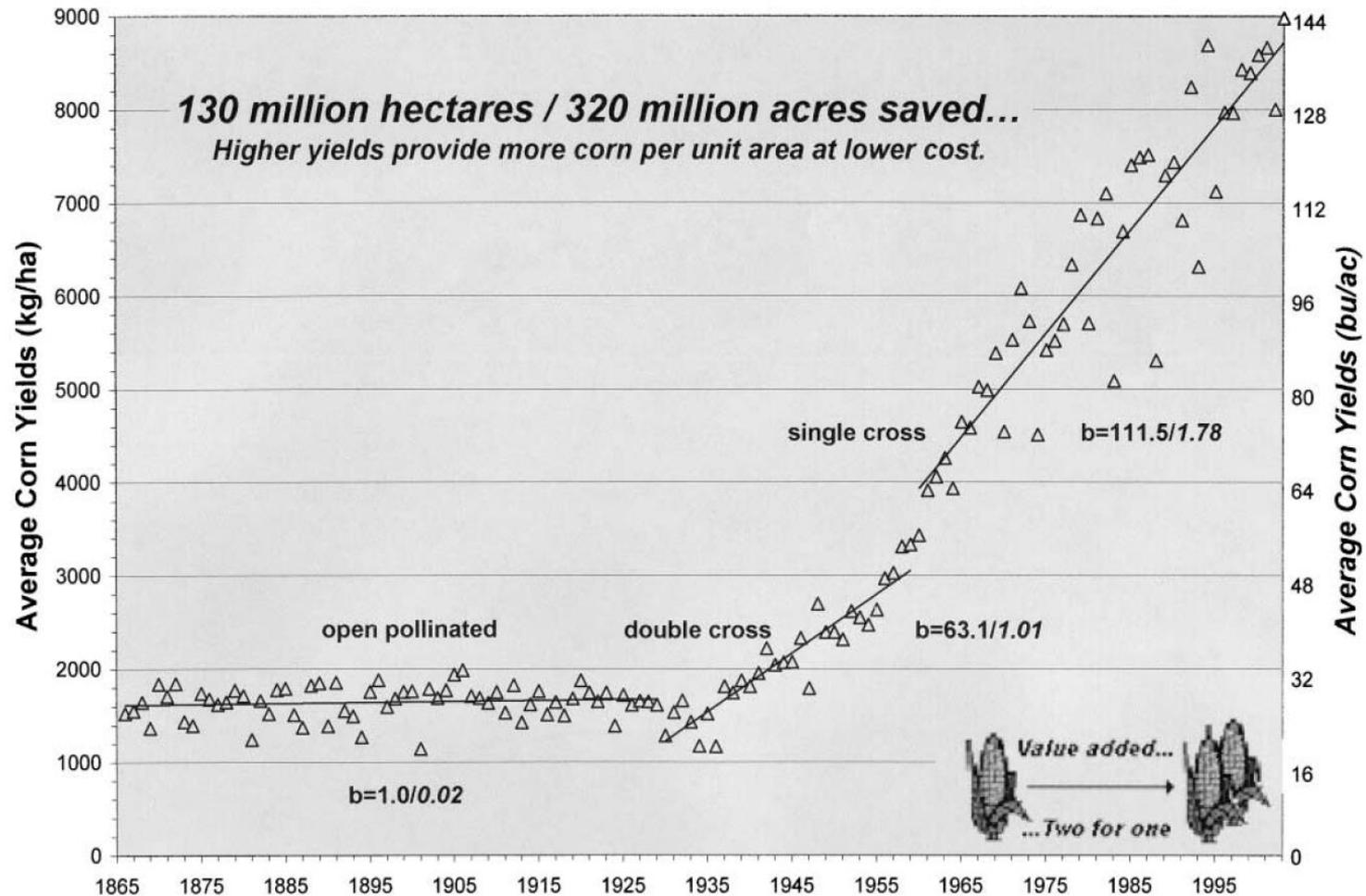
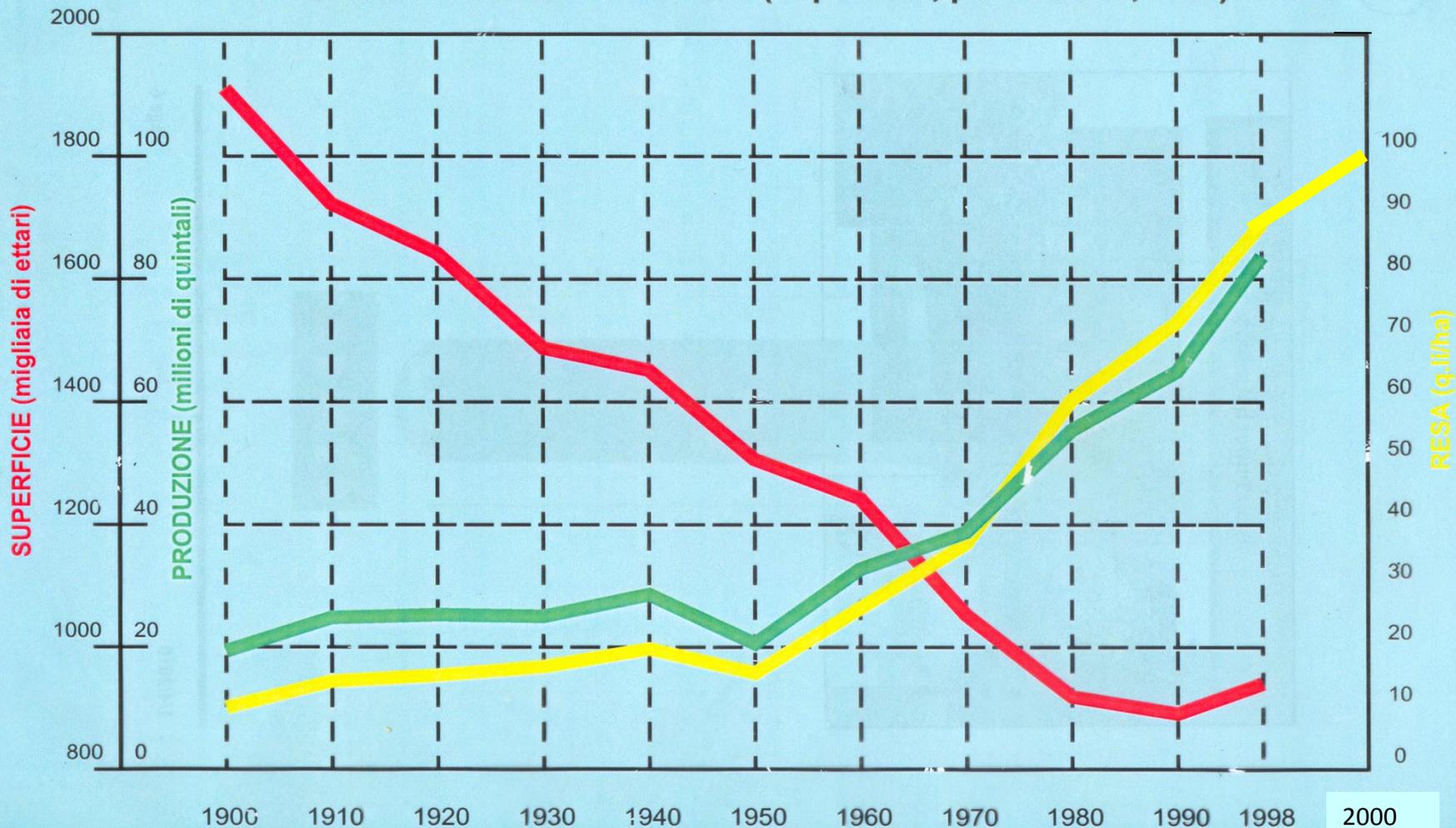


Fig. 2. Average U.S. corn yields and kinds of corn, Civil War to 2003. The b values (regressions) indicate production gain per unit area per year; 2003 production with prehybrid yields requires an additional 130 million ha (320 million acres). Value doubles in 26 yr because higher yields allow low (0.5%) annual price increase. Data compiled by the USDA.

# LA VICENDA DELLA MAISCOLTURA ITALIANA

## ANDAMENTI MAIS 1900 – 1998 (superficie, produzione, resa)



Periodo 1975 - 1996

$b = 2.1 \text{ q/ha/anno}$

- Continuo aumento delle rese e delle produzioni con

Produzione totale da 50 a 100 milioni di quintali fino a copertura della domanda interna

- 1975-1980 : B73, B14, Oh43, WF9
- 1981-1985 : B73, LH132, Mo17, LH51
- 1986-1990 : B73, Oh-Midland
- 1991-1996 : B73-Amargo, Midland, Iodent

Contributi al processo (stima) : 80% miglioramento genetico

20% adeguamento agrotecnica

- Sostenibilità del processo : economica

↓ Input / unità prodotto

agronomica

↑ = S.O. terreno

↑ = evoluzione fertilità

ambientale

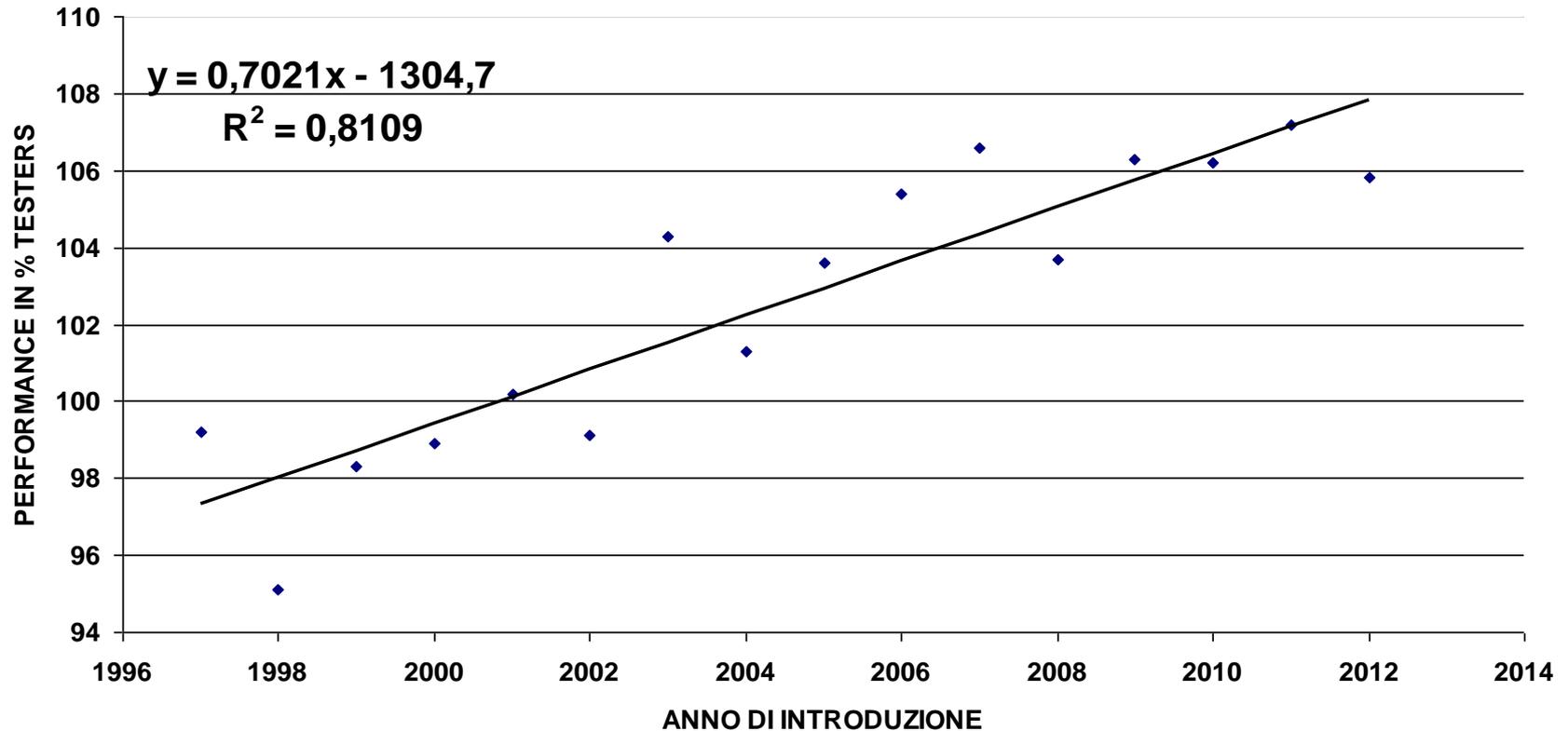
↓ terra/unità di prodotto

↓ azoto/unità di prodotto

↓ acqua/unità di prodotto

## Stima dei guadagni genetici periodo 1997-2012

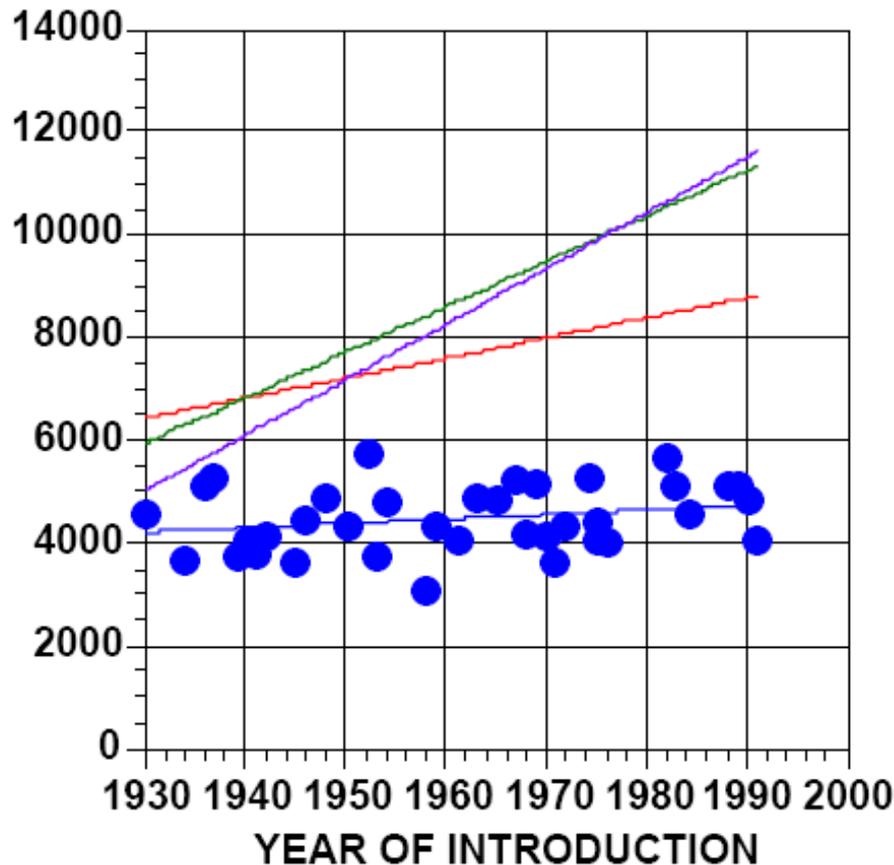
$$b = 0.70 \text{ q/ha/anno}$$



- *impianto sperimentale* : rete sperimentazioni "ON FARM"  
1 punto = 360 osservazioni elementari in 40 ambienti
- *metodo* : confronto performance nuovi ibridi vs 2 tester costanti nel periodo
- *azzeramento degli effetti stagionali ed agronomici*

# I guadagni genetici

## 4. Grain Yield at 4 Densities 1994 Season



- 79K  $b=110 \text{ kg/ha/yr}$
- 54K  $b=88 \text{ kg/ha/yr}$
- 30K  $b=39 \text{ kg/ha/yr}$
  
- 10K/ha  $b=9 \text{ kg/ha/yr}$
- *So: no yield gain in absence of stress?*

# CAMBIAMENTI NELLA PIANTA

## Caratteri morfologici

**Portamento delle foglie** ↑

Dimensione del pennacchio ↓

**Spighe/100 piante** ↑ ↑

**Tenuta radici** ↑

Tenuta stocco ↑

Stay green ↑

Numero polloni ↓

Lunghezza del ciclo =

Data di fioritura =

**Proterandria** ↑

Periodo di accumulo ↑

Dry down ↑

## Caratteri fisiologici

Cold and wet tol. ↑

Hot and dry ↑

N+ ; N- ↑

Drought stress ↑

ECB2 ↑

Altri patogeni /

**MULTISTRESS** ↑ ↑

**H. DENSITY STRESS** ↑ ↑ ↑

# Leaf Angle

1930s Hybrid



1990s Hybrid



# 1930s Hybrid at 79K

## 100% Anthesis



# 1990s Hybrid at 79K

## 100% Anthesis



# CAMBIAMENTI NELLA PIANTA

## Caratteri fisiologici

Cold and wet tol.



Hot and dry



N+ ; N-



Drought stress



ECB2



Altri patogeni



**MULTISTRESS**



**H. DENSITY STRESS**



## Fisiologia della produzione Dinamica sink-source

H.I. (SINK) pianta singola =

SOURCE pianta singola ↓

**LAI popolazione =**

**SINK popolazione ↑ ↑**

## Eterosi

ETEROSI = or ↗

ETEROSI relativa ↓

# PLANT BREEDING VS SOSTENIBILITA' AMBIENTALE

## Preoccupazione diffusa:

il miglioramento genetico ha prodotto ibridi **adattati** a crescere solo in **ambienti profondamente alterati dall'impiego di mezzi tecnici** e pratiche agronomiche invasive degli **equilibri naturali**, e **non più a lungo sostenibili** In termini di efficienza energetica, salvaguardia della fertilità dei suoli, uso delle risorse naturali, sanità dei cibi, biodiversità .....

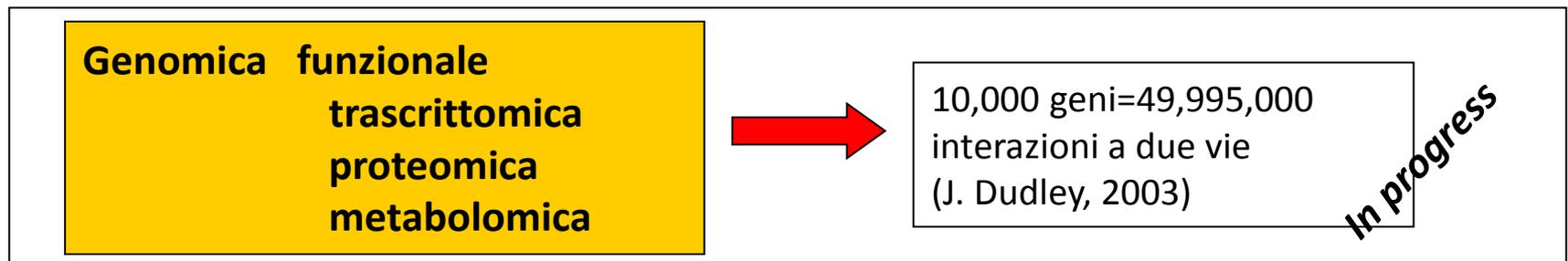
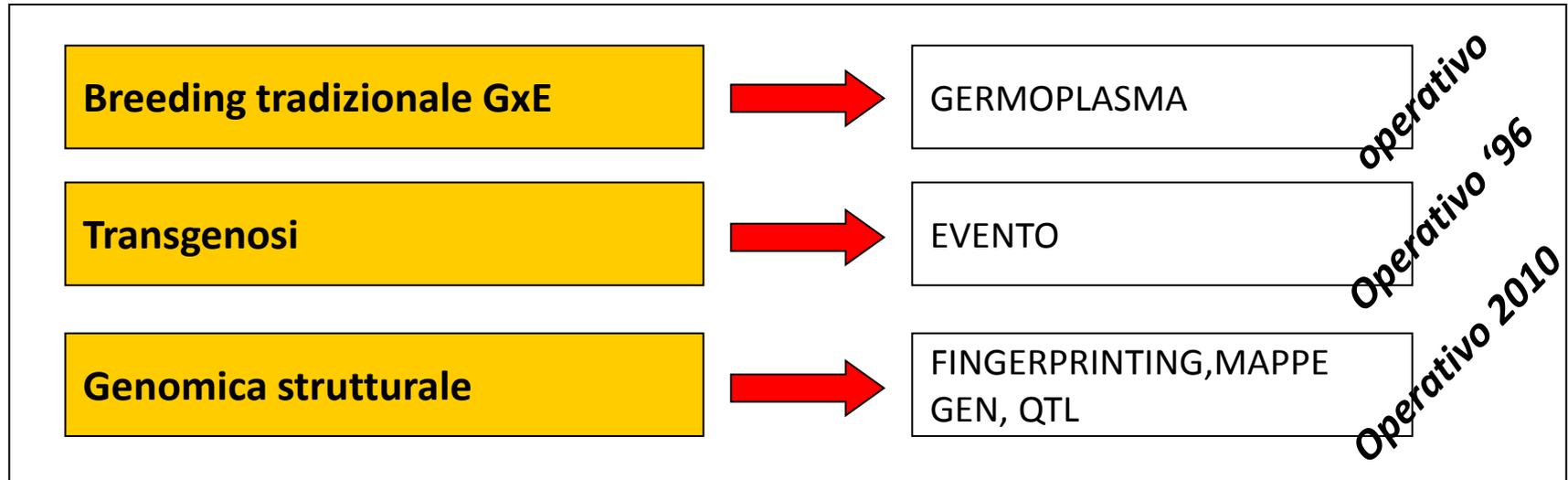
## Evidenze scientifiche

Guadagni genetici essenzialmente ascrivibili ad una aumentata **“resistenza” delle nuove piante al multistress** di natura ambientale (Cold, hot, drought, N+/N-,.....) e biotica (borers, leaf disease, virus, funghi...)

## 4. post rivoluzione verde:

# BREEDING fortemente integrato dalle tecnologie della GENETICA MOLECOLARE

## L'epoca dei "TRAITS"



# BIOTECH/GM TRAITS



**INPUT TRAITS**

**Insect resistance**

Herbicide tolerant and insect resistance

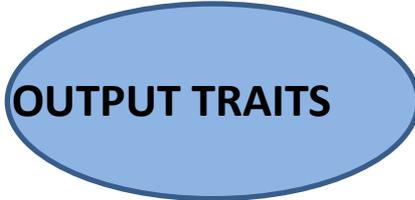
**Herbicide tolerant**

Stacked insect tolerant traits

Stacked herbicide tolerant traits

Male sterility

Drought tolerant



**OUTPUT TRAITS**

Enhanced lysine content

Modified amylase

Glufosinate ammonium



Glyphosate



INPUT TRAITS



[DLL25 \(B16\)](#)

( DKB-8979Ø-5 )

Glufosinate-tolerant

Maize



[GA21](#)

( Mon 00021-9 )

Roundup Ready®



[NK603 x T 25](#)

( MON 00603-6 x

ACS-ZM003-2 )

**HERBICIDE TOLERANT**



[NK603](#)

( MON-ØØ6Ø3-

6 )



[T25](#)

( ACS-ZMØØ3-2 )

Liberty Link™ Maize



[T14](#)

( ACS-ZMØØ2-1 )

Liberty Link™ Maize



[MON832](#)

**European corn borer (ECB),** *ostrinia nubilalis*



**Corn root worms** (western corn rootworm: *Diabrotica vigifera vigifera*, northern corn rootworm: *D. berberi*, and Mexican corn rootworm: *D. vigifera zea*)



**Lepidopteran pests** (armyworm (*Spodoptera* sp.), black cutworm (*Agrotis ipsilon*), european corn borer (*Ostrinia nubilalis*) and the corn earworm (*Helicoverpa zea*))



 **MIR 604**

( SYN-IR6Ø4-5 )

Agrisure RW Rootworm-Protected Corn

 **BT 176**

( SYN-EV176-9, 176 )

NaturGard KnockOut™ Maize

 **MIR162**

( SYN-IR162-4 )

Viptera 3

 **MON89034**

( MON-89Ø34-3 )

 **MON810**

( MON-ØØ81Ø-6 )

Yieldgard®

 **MON80100**

**INSECT TOLERANT**

 **MON863**

( MON-ØØ863-5 )

YieldGard™ Rootworm™ Maize

  **MON863 x MON810**

( MON-ØØ863-5 x MON-ØØ81Ø-6 )

YieldGard™ Rootworm™ Maize

**ACS-ZMØØ3-2 (T25) x MON-ØØ81Ø-6**

( T25 x MON810 )

**BT11 x MIR 162 x GA21**

Agrisure Viptera 3111

**BT11 x GA21**

( SYN-BTØ11-1, MON-ØØØ21-9 )

YieldGard™ Roundup Ready® Maize

**59122**

( DAS-59122-7 )

Herculex® RW Rootworm Protection Maize

**BT 11 (X4334CBR, X4734CBR)**

( SYN-BTØ11-1, BT11 )

YieldGard™ Maize

**HERBICIDE TOLERANT AND INSECT RESISTENCE**

**DAS-59122-7 x NK603**

( DAS-59122-7 x MON-ØØ6Ø3-6 )

Herculex® RW Rootworm Protection with Roundup Read

**BT11 x MIR604**

( SYN-BTØ11-1, SYN-IR6Ø4-5 )

**DAS 59122 x TC1507 x NK603**

( DAS-Ø15Ø7-1 x DAS-59122-7 x MON-ØØ6Ø3-6 )

Herculex XTRA™ x NK603

**GA21 x MON810**

( MON-ØØØ21-9 x MON-ØØ81Ø-6 )

Roundup Ready™ YieldGard™ Maize

**DBT418**

( DKB-89614-9 )

Bt Xtra™ Insect-resistant Maize

**MALE STERIL**

[DP32138-1/2](#)

**STACKED HERBICIDE TOLERANT TRAITS**

[Event 98140](#)

( DP-Ø9814Ø-6 )

Optimum™ GAT™

**DROUGHT TOLERANT**

[MON 87460](#)

[Optimum® AQUAmax™](#)

## ENHANCED LYSINE CONTENT

LY038

( REN-ØØØ38-3 )

Mavera™ High Value Corn with Lysine

## MODIFIED AMYLASE

Event 3272

( SYN-E3272-5 )

- **La rivoluzione biotecnologica porta profondi cambiamenti nel settore delle sementi, dei mezzi tecnici per l'agricoltura e in generale nelle filiere della produzione primaria**
  - **INTEGRAZIONE ORIZZONTALE**
    - **Complementarietà** di prodotti-competenze necessari per il nuovo prodotto biotecnologico
    - **Valore di sostituzione** dei nuovi prodotti Bt vs provider di insetticidi, IR, LL; RR vs provider di diserbanti
  - **INTEGRAZIONE VERTICALE**
    - I **potenziali OUTPUT TRAITS** influenzano profondamente il “core business” delle società di trasformazione ed aprono prospettive verso l'incremento di materie prime da fonti rinnovabili

## Integrazione orizzontale

# Genes & Seeds

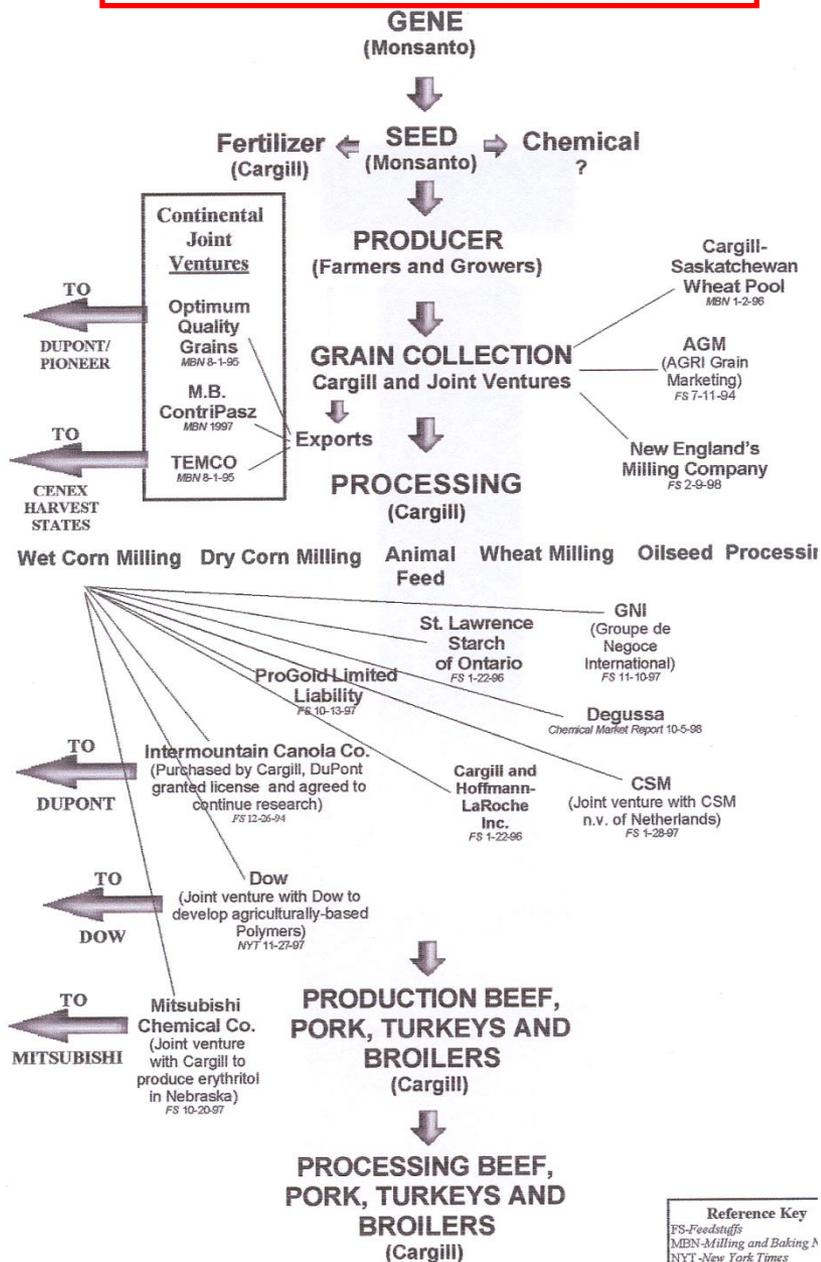
### Major Seed Companies in World

- Bayer (Aventis)
- Monsanto
- DuPont
- Dow
- Syngenta (Novartis & AstraZeneca)

(B. Heffernan, ASTA 2003)

# Cargill/Monsanto Joint Ventures and Strategic Alliances

Integrazione  
verticale



**Reference Key**  
 FS - Feedstuffs  
 MEN - Milling and Baking  
 NYT - New York Times

- Riconsiderazione del biotech e rivalutazione del *plant breeding*  
**GxE** nella gerarchia dei “tools” efficaci per lo sviluppo di prodotti competitivi

ck To Joint Corn, Sorghum & Soybean Topics    Next    Previous    Aud

## Current Status Genes—On Farm

- Soybeans
  - Roundup Ready (RR®)
- Corn
  - Bt—corn borer resistance
  - RR®
  - Bt—corn root worm resistance

ck To Joint Corn, Sorghum & Soybean Topics    Next    Previous    Audio    Exit

## Myths or realities? (From 2002 ASTA meetings)

- 200 bushel NATIONAL AVERAGE YIELD by 2020
- Value added crops next biotech break through
- Drought tolerance will follow

**J. Dudley, ASTA 2003**

- Riconsiderazione del biothec e rivalutazione del *plant breeding GxE* nella gerarchia dei “tools” efficaci per lo sviluppo di prodotti competitivi

### Example

- ... heterotic groups formed using yield-based combining ability were different from the groups established on the basis of molecular markers.
- **Therefore**
- ... the marker-based grouping may serve as the basis ... to establish clearly defined heterotic groups with a greater genetic similarity within groups.

ASTA 12/9/2004

W.F. Tracy UW-Madison

6

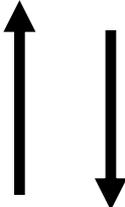
We used a new tool  
(*DNA markers*)  
to study an old problem  
(*genetic basis of heterosis*),  
and found that a  
previously-debunked hypothesis  
(*overdominance hypothesis*)  
**might** have some merit

W. Tracy, ASTA 2004

Rex Bernardo, ASTA 2002

- **Marker assisted selection (MAS)**

**molecular markers** (+ PCR) : RFLP,AFLP(amplified fragment length polymorphism), RAPD (amplification of polymorphic DNA). SSR, SNP (single nucleotide polymorphism, SFP; RAD



**Candidates genes** resistenza alle malattie

**Quantitative trait loci (QTL)** drought tolerance N efficiency



**Phenotypic breeding**

**Multilocation yield traits**

# NUOVE TECNOLOGIE

- **DH technology** per la produzione di doppi aploidi (linee pure)

- **inducer** : ceppo genetico RWS o UH400 il cui polline induce lo sviluppo di un embrione aploide contenente il solo genoma materno

- **donor** : materiale eterozigote (F2.F3) source dei geni utili da cui originano i semi aploidi

- **diploidizzazione con colchicina** dei semi aploidi per la produzione della generazione D 0

- **Autofecondazione D 0** : produzione della generazione **D 1** costituita da piante omozigoti (linee pure)

**VANTAGGI** : - riduzione dei tempi (da 8 a 2 generazioni) per l'ottenimento di linee pure  
- maggiore efficienza nell'applicazione della MAS (marker assisted selection)

$$dG = SD \times h^2 \times i / L$$

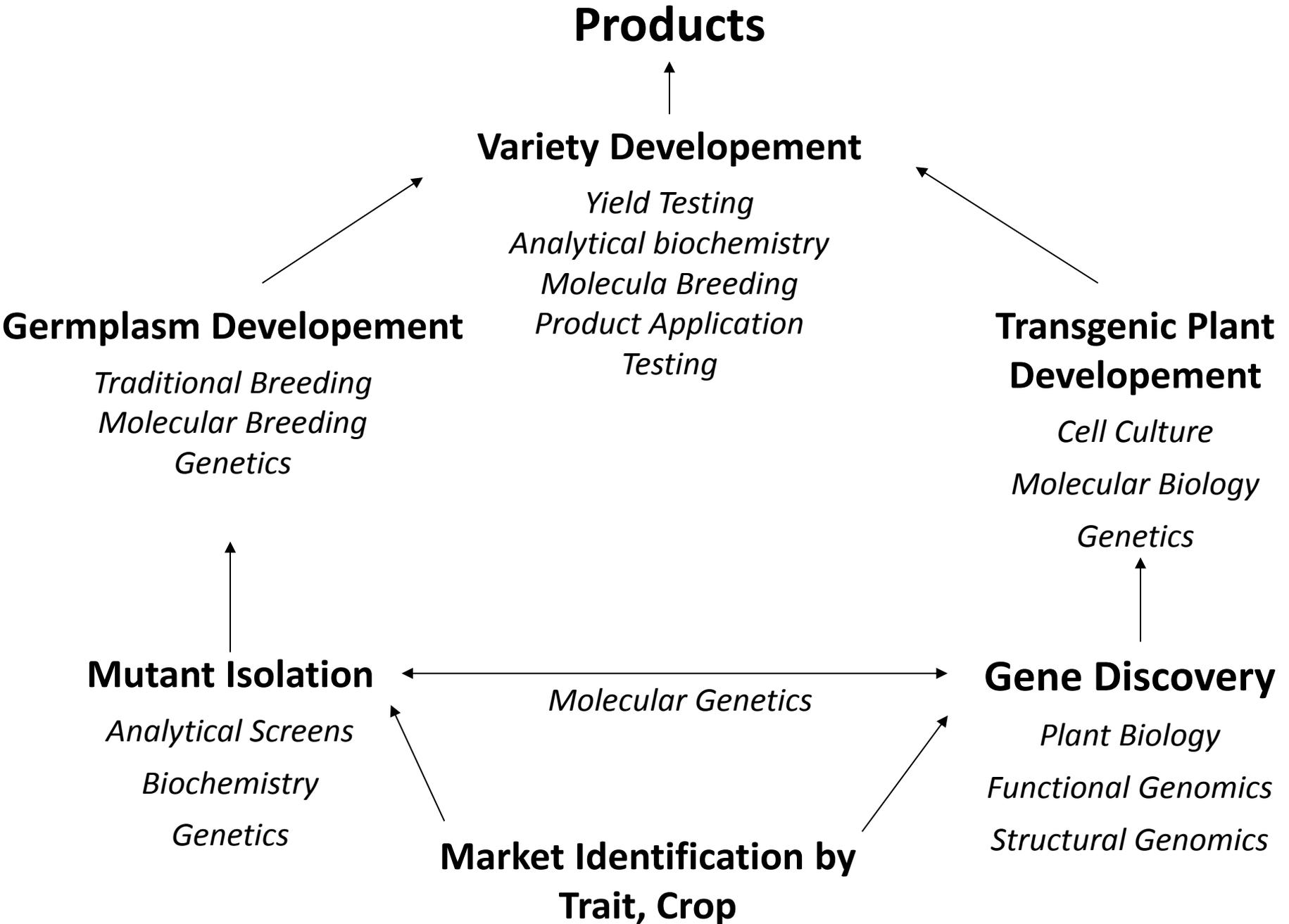
↓  
Guadagno genetico

↓  
Variabilità fenotipica

↓  
Ereditabilità  
del carattere

↓  
Intensità  
di selezione

↓  
Lunghezza di  
un ciclo di selezione



## Obiettivi del miglioramento genetico

### RESA –produzione/ha

- . EFFICIENZA FOTOSINTETICA
- . EFFICIENZA METABOLICA
- . STABILITA' vs STRESS AMBIENTALI
- . TOLLERANZA vs PATOGENI

### DROUGHT TOLERANCE

MON 87460

Monsanto (GMO)

Optimum AQUAmax

Pioneer (QTL)

ARTESIAN

Syngenta (QTL)

ALTRI

long term multi-location eval.

### NITROGEN EFFICIENCY

Vs

plant efficiency and H.Yield var.

**Anni '70 : 50 milioni di quintali**

**fine Anni '90 : 100 milioni di quintali**

**con**

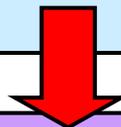
**stessa superficie, stessa acqua, stesso N**

# C L'AZOTO e le concimazioni

## FATTI vs "MITI" e regolamentazioni

Quote azoto  
Condizionalità ambientale  
Direttiva nitrati  
.....

- Sintesi industriale di  $\text{NH}_4$  possibile dal 1913  
Utilizzo dell'azoto in agricoltura dagli anni '50 e '60 contestualmente con varietà ad alta resa **"che rispondono"**
- La pratica agronomica indica la quantità di concime in ragione della produzione attesa e dell'asportato/assorbito dalla coltura
- La sostanza organica è formata da C, O, H, N in rapporti stechiometrici non modificabili
- I luoghi della **produzione** primaria **non comunicano** con i luoghi di **consumo** delle derrate
- **L'Azoto organico refluo** dai luoghi di consumo in **mix** con metalli pesanti, idrocarburi, tensioattivi, plastiche, solventi, **non è riutilizzabile e "trasuda" nell'ambiente**
- È necessaria una continua **re-immissione di azoto "fresco" nel sistema agricolo** per ottenere le produzioni e conservare la fertilità dei suoli



**RIDISEGNARE UNA SOLUZIONE PER L'INTERO SISTEMA**

# 2011 Nitrogen Use Efficiency Demonstration

- Understand how farmers' crops and fields may react the first few years after reducing N rates.
- Determine how many years are required for reductions in N rates to result in lower corn yields.
- Determine how well scientists can measure corn hybrid response to relatively small increments of applied N.
- Determine the difference in response of current commercial corn hybrids to reduced N fertilizer rates as affected by crop rotation

## Obiettivi del miglioramento genetico

**RESISTENZA PATOGENI**

**INSETTI (SUD)**

**FUNGHI (NORD)**

**VIRUS**

Diversity on time vs **coevoluzione** patogeni

**tecnologia Bt (transgenosi)**

**gene/QTL discovery ; molecular marker tech.**

“ “ “ “

**MICOTOSSINE**

Diversity on time vs **coevoluzione** patogeni

**OUTPUT TRAITS –CAR.QUALITATIVI**

**Plant factory** : nel futuro.....

**Specialty corns** : tradizionali

**Identity preseved** : sviluppo lento

**LOW INPUT –STRESS ADAPTED CORN**

**soil tillage** : posizionamento prodotti

**cold tolerance**: avanzamento mais nord