

Approcci genetici per migliorare la tolleranza allo stress da alte temperature

IL PUNTO DI VISTA DELLE PIANTE:

UN APPROCCIO MULTIDISCIPLINARE IN POMODORO



Amalia Barone
Dipartimento di Agraria, Università di Napoli Federico II





In molti casi, gli stress abiotici sono
COMBINATI
ed è difficile distinguere i singoli effetti

AUMENTANO L'ENTITA' DEGLI STRESS ABIOTICI

CALDO

SICCITA'

LUCE

SALINITA'

METALLI PESANTI

**CARENZA DI
NUTRIENTI**

FREDDO

OZONO

I CAMBIAMENTI CLIMATICI AUMENTERANNO LA FREQUENZA, LA DURATA E L'INTENSITA' DI TEMPERATURE ELEVATE



Effetti negativi sulla pianta sia
a stadio vegetativo che riproduttivo:

- Morfologia
- Sviluppo
- Fisiologia
- Pathways biochimici
- Pathways molecolari



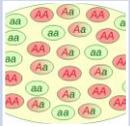
Stress da caldo:
quando le T sono 10°-15° C
più alte di quelle ottimali



DANNO DA CALDO

Da alcuni anni, nel nostro
laboratorio stiamo studiando
lo stress da caldo in pomodoro

BASI GENETICHE DELLA TOLLERANZA AL CALDO



Studio della variabilità della risposta in popolazioni per identificare genotipi superiori e QTL che influenzano la tolleranza



Identificazione e studio della variabilità in geni chiave

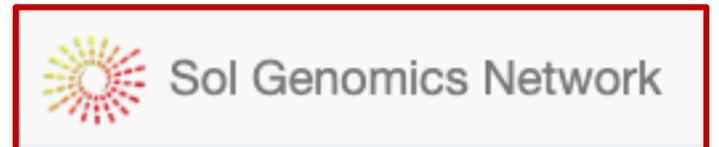


Studio di variazioni in fase di regolazione trascrizionale, traduzionale, post-traduzionale

2012



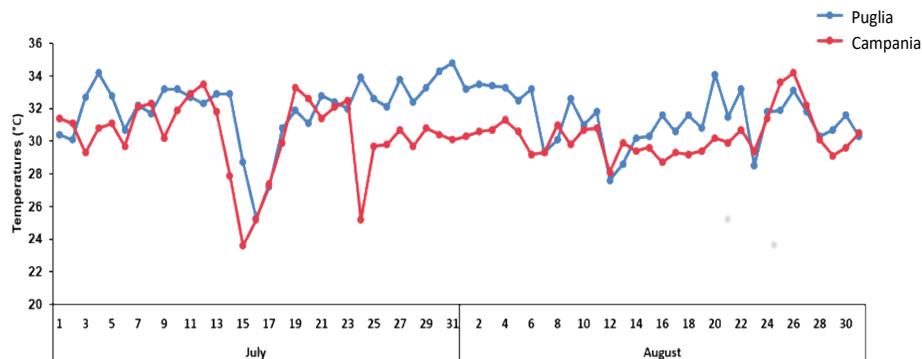
MOLTE
PIATTAFORME “OMICHE”
DISPONIBILI PER IL
POMODORO



1. Studio della variabilità della risposta in popolazioni

Valutazione di oltre 80 genotipi con elevata variabilità fenotipica e diverse origini

- Diversi anni e ambienti
- Ritardo di trapianto
- Valutazione di parametri legati alla produzione
- Approccio GWAS con piattaforma SolCAP (>7000 SNP)



**14 regioni
genomiche
associate a 6
caratteri produttivi**

Ruggieri et al. 2019



2. Identificazione e studio della variabilità in geni chiave



Selezionato un
genotipo superiore -E42-
per produzione ad HT per più
anni e in diverse condizioni,
con rese paragonabili a due ibridi
tolleranti



**“DISSECTING”
DEL CARATTERE
TERMOTOLLERANZA**



E42



Caratteri morfologici

- Numero di fiori/infiocrescenza
- Percentuale allegagione
- Numero di frutti totali
- Peso del frutto
- Produzione per pianta



Caratteri fisiologici

- Tratti morfo-funzionali foglia e stomi
- Scambi gassosi
- Fluidità della membrana
- Rapporto parte area/radici



Caratteri biochimici

- Enzimi ossidativi
- Glutazione e AsA
- Attività antiossidante
- Perossidazione lipidica
- Polifenoli e carotenoidi



Piattaforme genomiche

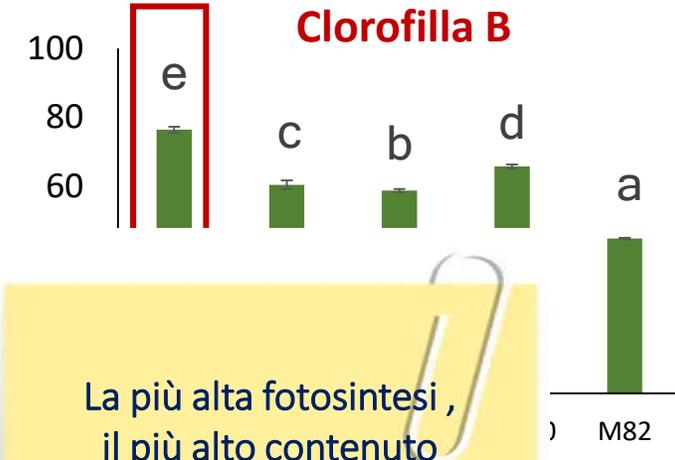
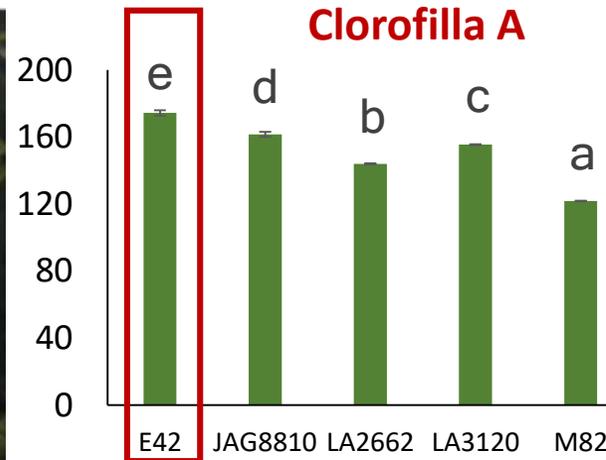
- Random GBS
- Target-region sequencing (SPET)
- Whole genome re-sequencing

2. Identificazione e studio della variabilità in geni chiave

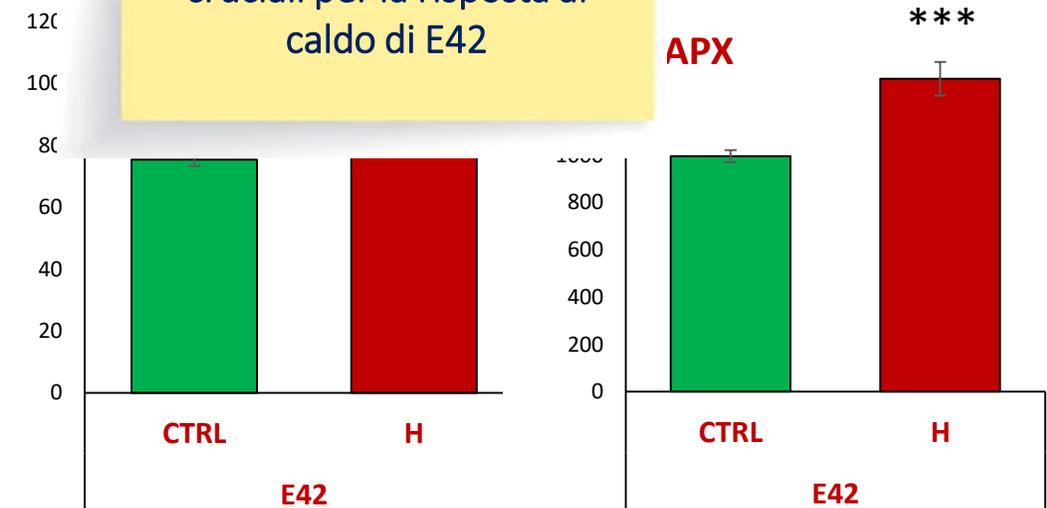
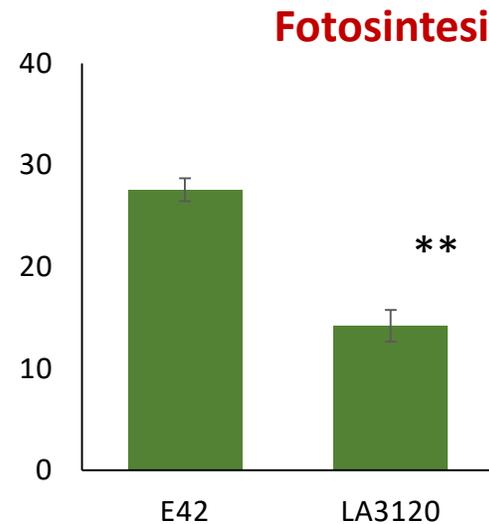
N° elevato di fiori/infiorecenza è una caratteristica morfologica genotipo-dipendente che influenza alto N° di frutti e la produzione



	media
N° fiori/infiorecenza	12,6 \pm 0,98
% Allegagione	42,5 \pm 6,3
N° frutti totali	402,7 \pm 50,2
Produzione media (kg)	3,46 \pm 0,56

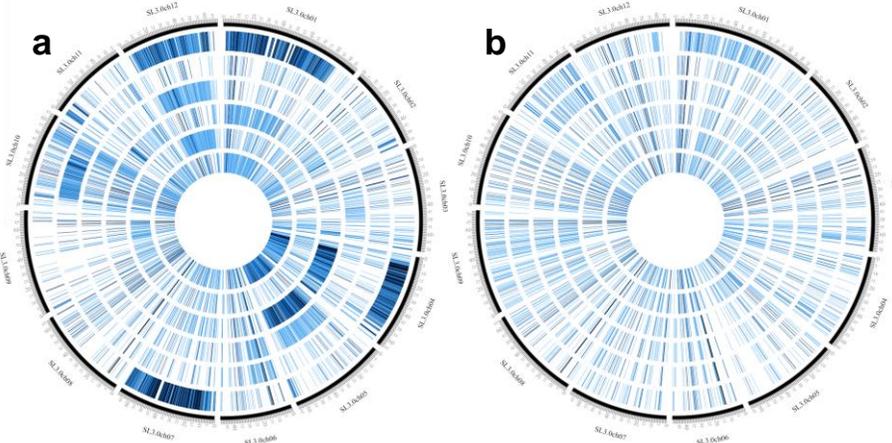


La più alta fotosintesi, il più alto contenuto di clorofille e antiossidanti sono cruciali per la risposta al caldo di E42



2. Identificazione e studio della variabilità in geni chiave

ANALISI GBS



Olivieri et al. 2020

Utilizzazione di piattaforme genomiche ha evidenziato un'elevata variabilità di E42 rispetto ad altri genotipi



75% variazioni in E42 derivano da *S. pimpinellifolium*

SEQUENZIAMENTO COMPLETO GENOMA DI E42

Categoria	Alto impatto	Categoria	Alto impatto
Fotosintesi	37	Zuccheri	3
Respirazione	4	Istoni	7
Antiossidanti	15	Ripiegamento proteine	5
Parete cellulare	5	Ca2/Calmodulina segnali	8
Fluidità membrane	5	Fattori di trascrizione	21
Fioritura	1	Ormoni	10

N. fiori/infiocrescenza

LA0854	Marglobe	Vantage	Pearson	LA1589
7.1b	5.7c	4.1d	2.8e	19.7a



110 GENI POLIMORFICI APPARTENGONO A CATEGORIE POTENZIALMENTE ASSOCIATE ALLA RISPOSTA AD HT

BASI GENETICHE DELLA TOLLERANZA AL CALDO

1. Studio della variabilità della risposta in popolazioni per identificare genotipi superiori e QTL che influenzano la tolleranza

2. Identificazione e studio della variabilità in geni chiave

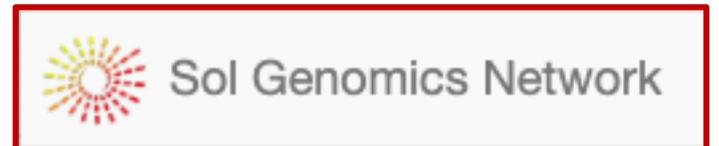


Studio di variazioni in fase di regolazione trascrizionale, traduzionale, post-traduzionale

2012



MOLTE
PIATTAFORME GENOMICHE
DISPONIBILI PER IL
POMODORO

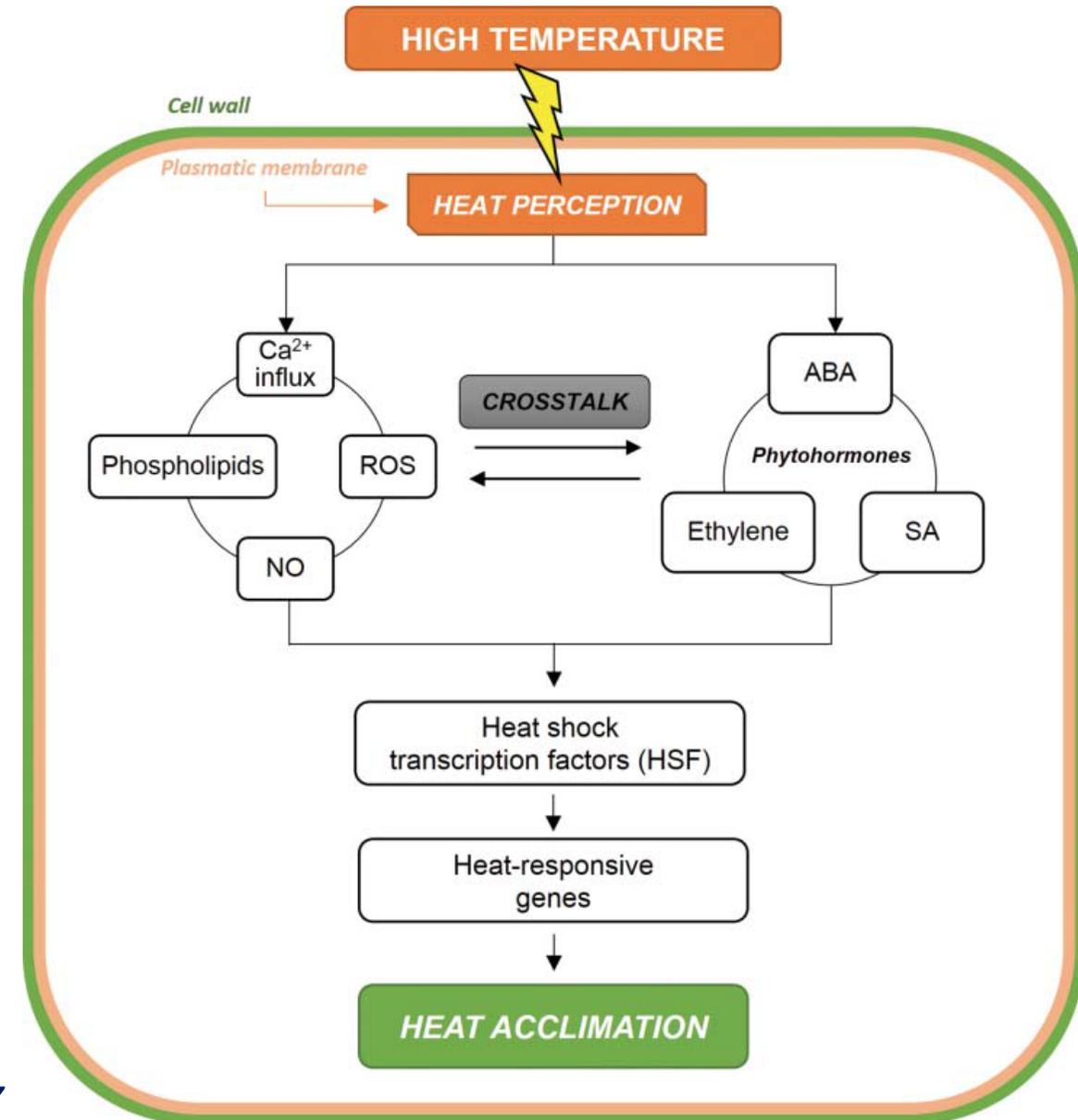


3. Variazioni nella regolazione genica a livello trascrizionale

Variazioni di HSF e HSP in E42

	Alto impatto	Impatto moderato	Promotori
HSF	0	4	16
HSP	8	9	38

HSF= Fattori di trascrizione attivati dal caldo
HSP= Geni di risposta nella reazione al caldo



3. Variazioni nella regolazione genica a livello trascrizionale

1

Ricerca di polimorfismi in promotori di geni associati allo stress da caldo e alla riproduzione

2

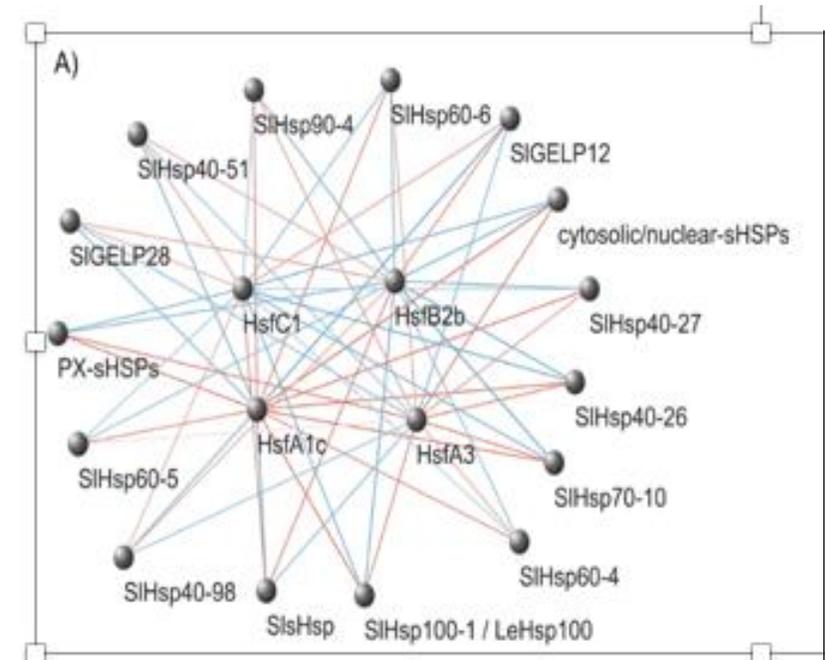
Ricerca di numero di elementi HSE (**Heat Stress Elements**) nei promotori dei geni di pomodoro

3

Analisi di network di espressione genica da dati RNA-seq disponibili

IDENTIFICATI 13 GENI

Classe di geni	N° geni
Heat shock protein	9
Heat shock factors	2
GELP (GDSE esterase/lipase)	2



BASI GENETICHE DELLA TOLLERANZA AL CALDO

1. Studio della variabilità della risposta in popolazioni per identificare genotipi superiori e QTL che influenzano la tolleranza
2. Identificazione e studio della variabilità in geni chiave
3. Studio di variazioni in fase di regolazione trascrizionale, traduzionale, post-traduzionale

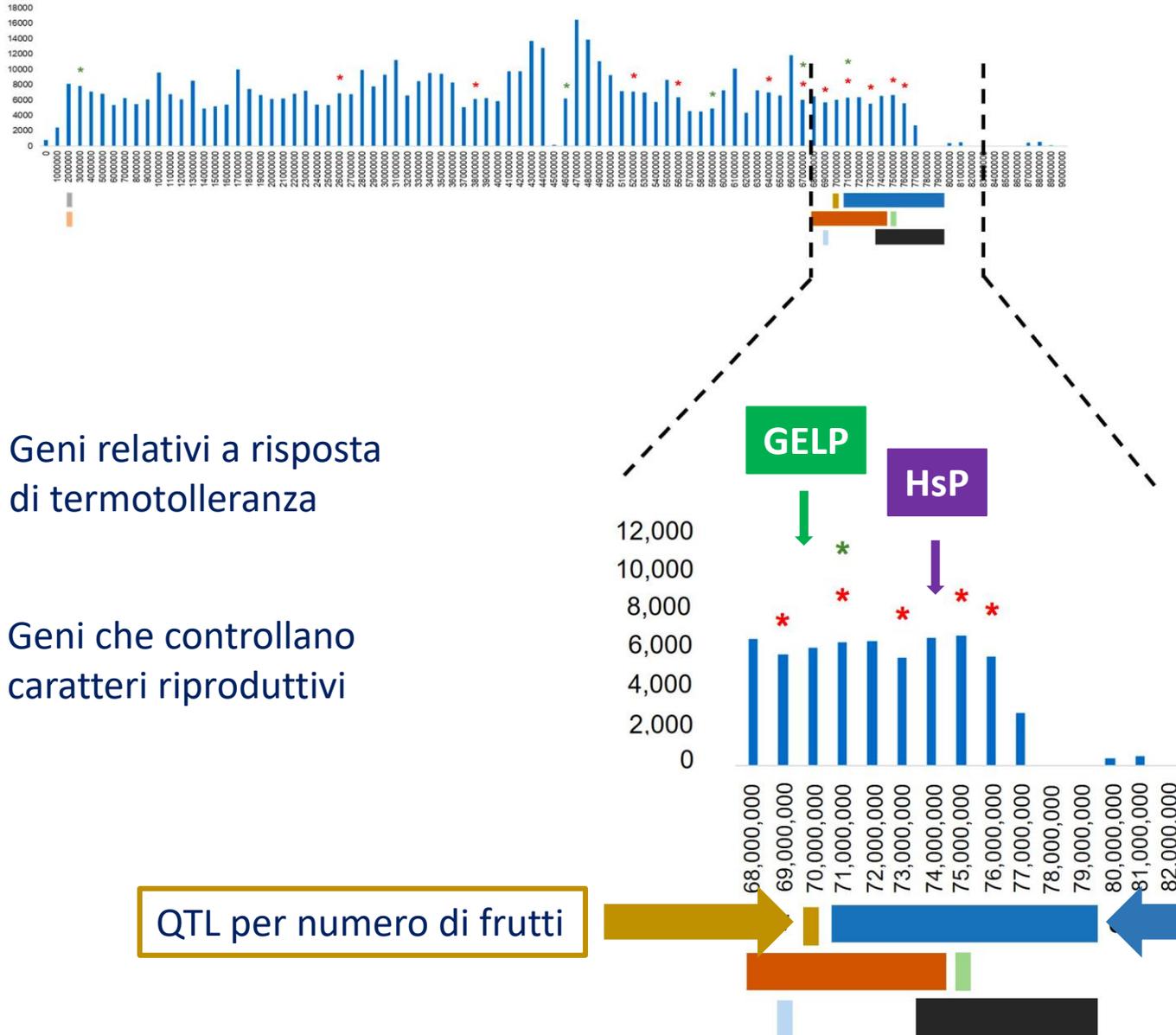
Combinare i diversi approcci per selezionare geni di cui approfondire il ruolo nella risposta alle alte T

DISTRIBUZIONE DI POLIMORFISMI SU CROMOSOMI

Cromosoma 1

Le frecce rappresentano la posizione di **2 geni** selezionati per motivi HSE nel promotore, per varianti polimorfiche nel gene e perchè interagiscono con fattori di trascrizione per la risposta al caldo

- * Geni relativi a risposta di termotolleranza
- * Geni che controllano caratteri riproduttivi



QTL per numero di frutti

QTL per numero di fiori/infiorescenza



CONCLUSIONI

PROSPETTIVE

- Selezione di un genotipo superiore e stabile (E42)
- Analisi multi livello di genotipo selezionato
- Combinazione di più piattaforme genomiche con dati fenotipici per identificare 13 geni candidati
- Verifica di alcuni geni candidati con tecnica di CRIPSR/CAS
- Ibridi con caratteristiche eterotiche per tolleranza a caldo e qualità di frutti



Manuela Rigano
Silvana Francesca
Salvatore Graci
Luigia Principio
Carmen Laezza
.... e tanti studenti del Dipartimento!!!



Luigi Frusciante



Michele Stanca