

Giornata di studio:

Plasticità fenotipica:
cambiamenti nello sviluppo, crescita
e accumulo di metaboliti primari e secondari
in piante di interesse agrario,
come risposta a variazioni ambientali

Firenze, 11 giugno 2014

ENRICO FRANCIA*, FULVIA RIZZA*, VALERIA TERZI*, ALESSANDRO TONDELLI*,
MICHELE STANCA*, NICOLA PECCHIONI*

Adattamento delle piante ai diversi ambienti di coltivazione: risposte fenotipiche e molecolari

BASI GENETICHE DELL'ADATTAMENTO A STRESS ABIOTICI

Le piante durante la loro evoluzione hanno sviluppato meccanismi di adattamento alle condizioni ambientali più avverse. La resistenza allo stress viene intesa come la capacità di sopravvivere, crescere e generare progenie in presenza del fattore sfavorevole. Essa può essere ottenuta mediante tre differenti strategie così definite:

- **STRESS ESCAPE** (evitare l'avversità). In realtà si è di fronte a una forma di falsa resistenza: la pianta ha un ciclo di sviluppo che la porta a non intercettare l'avversità o a intercettarla in fasi fenologiche non a rischio (ad esempio, le piante precoci sfuggono alla siccità estiva terminando il proprio ciclo vitale prima del sopraggiungere della stagione secca);
- **STRESS AVOIDANCE** (evitare lo stress). Caratteristico di quelle piante che possiedono barriere stabili morfologiche e/o funzionali che consentono di prevenire o ridurre lo stress prodotto dall'avversità. Ad esempio, le piante chiudono gli stomi per evitare una eccessiva traspirazione durante lo stress o in caso di stress anossico, alcuni meccanismi consentono il trasferimento dell'ossigeno dalle parti ben aerate della pianta verso quelle che ne hanno a disposizione in quantità sub-ottimale;
- **STRESS TOLERANCE** (tollerare lo stress). Le piante attivano meccanismi fisiologico-molecolari in grado di alleviare gli effetti dovuti allo stress e/o riparare i danni subiti. Dato l'elevato numero di caratteri fisiologici implicati nella tolleranza, è probabile che non esista un unico pattern di risposta ma, al contrario, specie diverse possono raggiungere simili livelli di tolleranza utilizzando differenti meccanismi.

* *CRA GPG Fiorenzuola-UNIMORE*

A livello cellulare le piante hanno un complesso sistema di percezione e risposta agli stress che può essere schematizzato in quattro fasi distinte:

- PERCEZIONE DEL SEGNALE. Il fatto che le piante attivino una serie di processi molecolari in risposta alle variazioni ambientali implica necessariamente l'esistenza di recettori, situati sulla membrana plasmatica delle cellule, che agiscono da sensori rilevando tali cambiamenti. Alcuni studi suggeriscono ad esempio un ruolo centrale della fluidità delle membrane nella percezione di alte e basse temperature;
- ATTIVAZIONE DI MESSAGGERI SECONDARI PER LA TRASDUZIONE DEL SEGNALE. Ormoni come l'acido abscissico (ABA), ioni come Ca^{2+} , proteine MAPK (Mitogen-activated protein Kinase) e altre molecole partecipano a una serie di eventi che, come una vera e propria cascata, trasportano il segnale di stress fino al nucleo, dove viene attivata la trascrizione di geni di risposta.
- ATTIVAZIONE DI PROTEINE REGOLATRICI DELLA TRASCRIZIONE. I fattori trascrizionali rappresentano l'ultimo anello della catena di trasduzione del segnale: essi inducono l'espressione dei geni effettori della risposta allo stress. L'analisi funzionale di questi fattori di trascrizione dovrebbe chiarire la complessa rete di regolazione dell'espressione di molti geni, responsabile dell'adattamento delle piante all'ambiente. Un nuovo interesse si sta spostando verso l'analisi delle modificazioni post-traduzionali, quali fosforilazione, glicosilazione, ubiquitinazione e sumoilazione a seguito di eventi di stress.

L'ubiquitinazione svolge un ruolo importante nel rimodellare il proteoma di una pianta in risposta a eventi di stress indirizzando verso la degradazione tutte le proteine che, a causa dello stress stesso, hanno subito un danno strutturale o che non sono più necessarie in quella determinata situazione. Il pathway di ubiquitinazione è articolato in tre passaggi principali che coinvolgono tre diversi enzimi: un enzima di attivazione E1, un enzima di coniugazione E2 e una ligasi E3. La E3 ligasi è la proteina che conferisce specificità e selettività al processo, in quanto riconosce specificamente proteine che recano una varietà di segnali di degradazione. Il genoma di *Arabidopsis* contiene almeno 1300 putative E3 ligasi, mentre possiede solamente 2 isoforme dell'enzima E1 e 37 enzimi E2; una tale distribuzione riflette l'importanza che le E3 ligasi rivestono nel conferire specificità alla reazione di ubiquitinazione delle proteine.

- SUMO (Small Ubiquitin-like MOdifier) è una proteina simile alla ubiquitina che viene attaccata post-traduzionalmente a una varietà di proteine target tra cui spiccano prevalentemente fattori trascrizionali.

- ESPRESSIONE DI PROTEINE LEGATE ALLA RISPOSTA. Differenti tipologie di proteine possono essere sintetizzate, a seconda del tipo di stress cui la pianta è sottoposta. In risposta a condizioni di siccità, basse temperature o alte concentrazioni saline, fenomeni riconducibili alla disidratazione cellulare, si ha ad esempio l'espressione di geni che consentono l'accumulo, di proteine anticongelanti note come AFP (Antifreeze proteins), geni codificanti per proteine localizzate all'interno del cloroplasto (COR14B), di osmoliti compatibili quali prolina, poliammine, glicinetaina, zuccheri e di ioni come il potassio, tutti utili per contrastare la perdita di acqua.

La risposta cellulare allo stress è inoltre caratterizzata anche da un meccanismo inducibile attivato da moderate condizioni di stress, che migliora sostanzialmente la capacità di tollerare gli effetti negativi delle condizioni ambientali sfavorevoli. Nel caso dello stress da freddo è noto che le piante di orzo se vengono esposte per un certo periodo a temperature basse non letali (0-5 C°), incrementano notevolmente la tolleranza verso le temperature molto inferiori allo zero: ACCLIMATAMENTO O HARDENING.

ANALISI GENETICA DELLA TOLLERANZA AGLI STRESS

Nell'ambito degli stress abiotici, siccità, salinità e basse temperature rappresentano condizioni che hanno un effetto severo sullo sviluppo e crescita dell'orzo e come ricaduta sulla produttività. Le piante si sono adattate a rispondere a questi stress a livello molecolare, cellulare, fisiologico e biochimico in modo da consentire la loro sopravvivenza. Gli studi di genetica classica hanno permesso di definire l'ereditarietà di tipo quantitativo dei diversi caratteri e con l'integrazione di test fisiologici per analizzare il fenotipo è stato possibile incrementare sostanzialmente la resistenza genetica.

Attualmente la disponibilità di strumenti molecolari sta rivoluzionando l'analisi dell'espressione di geni indotta da stress. Gli approcci di genomica in grado di monitorare in un singolo esperimento l'espressione dell'intero repertorio genico cellulare hanno messo in luce come diverse centinaia di geni siano modulati nella loro espressione (in positivo ovvero in negativo) dagli stress abiotici.

È anche stato dimostrato come la risposta molecolare agli stress messa in atto dalle piante le renda capaci di adattarsi e rispondere efficacemente

non solo ai singoli fattori ambientali ma anche alla combinazione di più stress contemporaneamente. Nel caso specifico degli stress abiotici è stato ad esempio osservato che più del 50% dei geni inducibili da siccità sono indotti anche da stress salino, indicando una sovrapposizione nella risposta ai due stress in termini di gruppi (o categorie) di geni implicati nella risposta. In contrasto, solo circa il 10% dei geni indotti da siccità sono anche indotti dallo stress da basse temperature, indicando quindi una divergenza nei due tipi di risposta molecolare. Questo indica come l'adattamento degli organismi vegetali all'ambiente sia riconducibile a semplici basi genetiche e molecolari e che queste determinino in ultima analisi la fitness e la plasticità genotipica e fenotipica delle piante.

Analizzando l'attivazione della trascrizione dei geni in termini di tempo trascorso dalla esposizione allo stress, è stato osservato che esistono almeno due gruppi distinti di sequenze codificanti che mostrano diversi profili di espressione:

1) un gruppo di geni nei quali l'attivazione trascrizionale in risposta a siccità, salinità e bassa temperatura è rapida e transiente; in questo caso l'accumulo di trascritti in risposta allo stress raggiunge un massimo alcune ore dopo l'evento stressante e poi decresce per ritornare ai livelli iniziali. La maggior parte di questi geni codifica per proteine che agiscono da fattori di regolazione/modulazione dell'espressione genica come fattori di trascrizione bHLH (basic helix-loop-helix), proteine zinc finger, proteine chinasi, fattori di trascrizione contenenti il dominio AP2 (APETALA2);

2) un gruppo di geni la cui espressione incrementa gradualmente e lentamente entro 10 ore dall'inizio dello stress. La maggior parte di questi geni codifica per proteine ed enzimi con azione di effettori della di risposta allo stress come proteine LEA (Late Embryogenesis Abundant proteins, proteine con funzione di stabilizzazione dei componenti cellulari durante lo stress abiotico), enzimi detossificanti (enzimi implicati nella protezione da danni ossidativi come glutatione perossidasi, superossido dismutasi, ascorbato perossidasi e glutatione reduttasi), ed enzimi per la sintesi di osmoprotettori (come prolina, glicina-betaina, zuccheri solubili, trealosio).

È stato dimostrato che la sovra-espressione di geni che appartengono ai due gruppi sopra citati, come fattori di trascrizione per il primo gruppo o geni che codificano per proteine LEA, per biosintesi di osmoprotettori, enzimi detossificanti per il secondo gruppo di geni, producono piante transgeniche con un fenotipo tollerante allo stress. Questi risultati indicano quindi che i prodotti di questi geni inducibili da stress funzionano realmente incrementando la tolleranza allo stress.

Un altro importante fattore di tolleranza a stress abiotici è rappresentato dall'acido abscissico (ABA), un ormone vegetale. ABA è normalmente prodotto dalle cellule vegetali in condizioni di siccità e stress salino, mentre applicazioni esogene di ABA inducono una serie di geni di risposta a stress da disidratazione (siccità e salinità) e da basse temperature. Tuttavia il ruolo di ABA nella espressione di geni da risposta da bassa temperatura non è completamente chiarito. Diversi studi hanno inoltre dimostrato che alcuni geni indotti da stress abiotici dei due gruppi sopra citati sono indotti anche da applicazioni esogene di ABA, mentre altri non rispondono al trattamento con ABA o sono comunque indotti da stress da freddo o siccità in piante mutanti di *A. thaliana* incapaci di sintetizzare ABA (piante mutanti ABA-deficient o aba) e in piante mutanti insensibili a ABA (piante mutanti ABA-insensitive o abi). Questi risultati indicano quindi che nell'adattamento delle piante agli stress abiotici esistono vie di risposta ABA-dipendenti e vie di risposta ABA-indipendenti.

Questo significa che geni come RD29A possono essere attivati sia da meccanismi di risposta a stress abiotici ABA-dipendente che da quelli ABA-indipendenti, realizzando quindi una integrazione tra le due diverse classi di risposta a stress abiotici.

La conoscenza dei meccanismi che regolano l'architettura della pianta, molto spesso mediata da un controllo ormonale, sono fondamentali per i nuovi ideotipi di pianta per il futuro. In genere gli studi sono stati rivolti principalmente a fisiologia, metabolismo e genetica della parte aerea delle piante. Oggi tuttavia una maggiore attenzione viene rivolta alle radici, per migliorare l'efficienza d'uso dell'acqua (WUE), dell'azoto (NUE), del Fosforo (PUE), alla resistenza al freddo (cor genes), alle proprietà fisico-chimiche e biologiche del suolo e al loro impatto sulla resistenza alle malattie, in modo da disegnare un moderno sistema integrato (IPM: Integrated Pest Management) per mettere i nuovi genotipi di pianta nella migliore condizione di crescita. Sono in atto in "Open Field" i primi esperimenti di simulazione dell'incremento della CO₂ nell'atmosfera, che passerà dalle 380 ppm attuali a 600 ppm nel 2050 per verificare l'effetto sulla fotosintesi e qualità dei prodotti. Non trascurabile è anche il tema che vede il sistema produttivo agrario non più basato sul trinomio Pianta-Atmosfera-Suolo ma piuttosto sul quadri-nomio Pianta-Atmosfera-Suolo-Microrganismi che vivono intorno o dentro le radici. Questa nuova visione ha stimolato la nascita di network per monitorare l'evoluzione del metagenoma al variare dei diversi sistemi colturali e degli ambienti, e come questo possa influenzare la vita delle specie agrarie e selvati-

che. Si ipotizza già che la performance di specie di piante e di genotipi entro specie dipenderà anche dagli inoculi microbici, specifici per l'esaltazione di determinati caratteri, che interagiscono con gli elementi fisico-biochimici del suolo e con il microbioma naturale in specifiche condizioni.

MARIA RAFFAELLA ERCOLANO*, LUIGI FRUSCIANTE*

La plasticità del genoma del pomodoro in risposta all'ambiente

Il genoma è spesso indicato come una componente statica della cellula, deputato alla trasmissione dei geni da una generazione all'altra. Tuttavia, dopo l'avvento del sequenziamento del DNA è emerso chiaramente che l'identificazione del numero, della struttura e della funzione dei geni presenti lungo ogni genoma non è sufficiente a spiegare la natura complessa di un organismo. Le sole informazioni di sequenza, infatti, non forniscono l'insieme completo delle istruzioni genetiche di un individuo. Oggi, si è compreso che il genoma è molto più dinamico di quanto si pensasse. Barbara McClintock, premio Nobel per la fisiologia e la medicina nel 1983, aveva già intuito questo aspetto tanto da descrivere il genoma come: «un organo molto sensibile, capace di controllare le attività genomiche, correggere gli errori comuni, rilevare eventi insoliti e imprevisi, rispondendo, spesso con la ristrutturazione del genoma» (McClintock, 1984). In un recente articolo la filosofa e storica della scienza Evelyn Fox Keller sostiene che il modo comune di percepire la genetica quale entità governatrice anteriore e separabile dal soma, vada rivisto. La teoria deterministica di casualità lineare che porta dal genotipo al fenotipo risulta anch'essa troppo semplicistica. La nuova visione deve incorporare sia la fondamentale circolarità (o ricorsività) dei sistemi viventi che la loro inseparabilità dall'ambiente *nel quale*, e *dal quale*, prendono forma (Keller, 2014). Il primo passo verso questa direzione è quello di concentrare l'attenzione non già su un singolo gene, ma sull'intero genoma.

I genomi sono entità plastiche capaci di adattarsi rapidamente ai cambiamenti dell'ambiente in seguito all'espressione o silenziamento dei geni in risposta ai diversi fattori ambientali. Elementi mobili e in continua evoluzio-

* Dipartimento di Agraria, Università degli Studi di Napoli Federico II

ne come gli small RNA e i trasposoni, o la presenza di un numero variabile di copie geniche possono fortemente influenzare la risposta del genoma agli stimoli ambientali. Per descrivere appieno il concetto di plasticità genomica occorre valutare, oltre alle mutazioni genetiche casuali, l'insieme delle alterazioni sostanziali che possono avvenire in un genoma.

La plasticità fenotipica che si osserva, infatti, deriva sia dal livello di variabilità dell'architettura generale del genoma, sia dal grado di regolazione dell'espressione genica (fig. 1). La dimensione del genoma, il numero, la tipologia e l'organizzazione dei geni può variare considerevolmente da un genoma all'altro. Il funzionamento dell'intero sistema molecolare dipende dal livello di espressione genica, dalla regolazione dei sistemi di interazione che condizionano i flussi molecolari e dalle modifiche geniche in risposta agli stimoli non dipendenti dalle sequenze del DNA (epigenetiche). Gli studi di genomica comparativa e di biologia dei sistemi consentono di esaminare in maniera profonda i processi che concorrono alla determinazione della plasticità genomica e di formulare modelli di funzionamento. Il numero totale dei geni codificanti rispetto alle dimensioni del genoma è un'importante fonte di plasticità, come anche il livello di riarrangiamento dei domini proteici e il grado di espressione delle proteine che agiscono da collettrici nelle reti di interazione e che sono, di solito, presenti in un numero elevato di copie. La plasticità del genoma del pomodoro emerge immediatamente se si osserva lo sviluppo della pianta, la sua interazione con l'ambiente e la forma ed il colore dei suoi frutti. In questo articolo sono illustrate alcune strategie adottate dalla pianta di pomodoro quali conseguenze della plasticità del suo genoma.

Il primo caso riguarda la strategia messa in atto per difendersi dagli attacchi di patogeni che comporta una variabilità nella composizione dei domini proteici, nel numero e nella disposizione dei geni di resistenza (geni R). Infatti, alcuni geni R identificati in pomodoro afferiscono a classi già note, mentre altri non rientrano in alcuna delle categorie sinora conosciute (Sanseverino e Ercolano, 2012). I geni R identificati in pomodoro non sono distribuiti casualmente lungo i cromosomi (Andolfo et al., 2012). Lo stesso gene, di solito, presenta più copie che differiscono per piccole variazioni nucleotidiche e che si raggruppano in regioni genomiche precise. Recentemente è stato verificato che le regioni più ricche di geni R nel genoma del pomodoro si trovano in aree ad elevata ricombinazione genica (Nieri e Ercolano, dati non pubblicati). Probabilmente, la localizzazione dei geni di resistenza in queste regioni favorisce un adattamento genomico all'interazione con patogeni presenti nell'ambiente. Inoltre, le differenze in numero di copie dei geni R può influire sull'espressione del carattere di resistenza/tolleranza. La disponibilità delle sequenze genomiche e le conoscenze

dell'organizzazione dei loci R consentono di identificare più velocemente varianti alleliche utili. La creazione di aplotipi con nuove combinazioni geniche, può essere favorevole in famiglie di geni che controllano la resistenza a patogeni dal genoma altamente variabile, contrariamente può essere sfavorevole se si considerano famiglie di geni in grado di controllare la resistenza verso patogeni con bassa plasticità genetica. Queste conoscenze, combinate con l'utilizzo di strumenti genomici, possono essere utilizzate per sviluppare in modo ottimale cultivar di pomodoro resistenti alle malattie.

Il secondo caso studio riguarda la diversa riprogrammazione trascrizionale del genoma di piante di pomodoro coltivate in ambienti diversi. Il recente sequenziamento del genoma del pomodoro San Marzano ha mostrato che alcuni geni responsabili della qualità del frutto presentano un numero di copie elevate e varianti uniche in geni coinvolti nei processi di maturazione (Ercolano et al., 2014). Oltre alle differenze nella struttura dei geni, anche le variazioni di espressione degli stessi sono determinate nei processi di adattamento a diversi ambienti. Per capire se la qualità organolettica delle bacche di pomodoro è influenzata dall'ambiente di coltivazione, è stata condotta un'analisi del trascrittoma su frutti maturi del pomodoro San Marzano coltivato in due località della Campania (Acerra e Sarno). Tale studio ha permesso di identificare centinaia di geni che hanno mostrato un'espressione differenziale nei due luoghi sperimentali (fig. 2): alcuni cicli metabolici correlati alla costituzione della parete cellulare, alla sintesi degli aminoacidi e al metabolismo secondario sono risultati modificati in modo significativo nei campioni raccolti nelle due località. Questi risultati indicano che i pattern di espressione genica condizionano la qualità delle bacche raccolte nei due ambienti.

Il terzo caso riguarda le modificazioni dell'epigenoma evidenziata da Zhong et al. (2013) durante il processo di maturazione del frutto. Attraverso l'espressione dei recettori specifici dell'etilene le piante di pomodoro attivano la trascrizione di migliaia di geni che determinano la maturazione del frutto. Per verificare se avvengono anche cambiamenti nella metilazione del genoma, per ciascuno degli stadi di maturazione (da verde a rosso), gli autori hanno generato una mappa del metiloma e hanno evidenziato che durante lo sviluppo del frutto la metilazione del DNA modifica sostanzialmente circa l'1% del genoma di pomodoro (900 Mb) e che il livello medio di metilazione in prossimità dei promotori diminuisce gradualmente durante la maturazione dei frutti. Al contrario, la metilazione delle regioni promotrici resta elevata nei mutanti dei geni *nor* e *rin* (inibitori della maturazione). Quanto osservato prova l'esistenza di un legame tra metilazione del DNA e il cambiamento morfofisiologico che si osserva durante lo sviluppo del frutto.

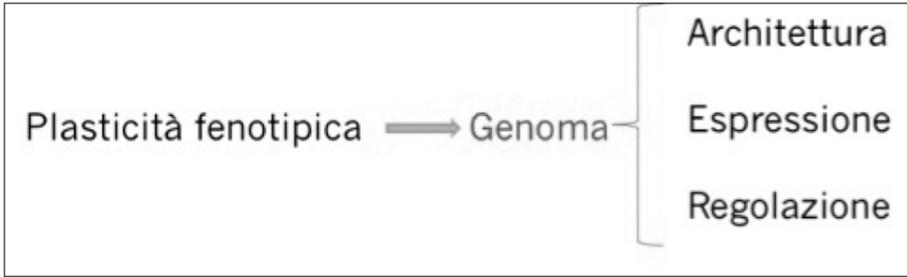


Fig. 1 *Livelli di modificabilità di un genoma*



Fig. 2 *Differenze tra i geni attivati nel genoma del pomodoro San Marzano coltivato in due località diverse (Sarno e Acerra)*

RIASSUNTO

Il genoma è spesso indicato come una componente statica della cellula. Tuttavia, dopo l'avvento del sequenziamento del DNA è emerso chiaramente che l'identificazione del numero, della struttura e della funzione dei geni presenti lungo ogni genoma non è sufficiente a spiegare la natura complessa di un organismo. Pertanto si è compreso che il genoma è molto più dinamico di quanto si pensasse.

La plasticità del genoma del pomodoro emerge immediatamente se si osserva lo sviluppo della pianta, la sua interazione con l'ambiente e la forma ed il colore dei suoi frutti. In questo articolo sono illustrate alcune strategie adottate dalla pianta di pomodoro quali conseguenze della plasticità del suo genoma. Il 1° caso riguarda la strategia messa in atto per difendersi dagli attacchi di patogeni che comporta una variabilità nella composizione dei domini proteici, nel numero e nella disposizione dei geni di resistenza (geni R). Il 2° studio riguarda la diversa riprogrammazione trascrizionale del genoma di piante di pomodoro coltivate in ambienti diversi ed i risultati qui ottenuti indicano che i pattern di

espressione genica condizionano la qualità delle bacche raccolte in due ambienti diversi. Il 3° caso riguarda le modificazioni dell'epigenoma evidenziata durante il processo di maturazione del frutto.

ABSTRACT

The genome has been often indicated as a static component of the cell. However, after the recent sequencing of DNA has become clear that the identification of the number, structure and function of genes along each genome is not sufficient to explain the complex nature of an organism. Therefore, it is understood that the genome is much more dynamic than previously thought.

The plasticity of the tomato genome can be easily seen if we look at the development of the plant, its interaction with the environment and the shape and color of the fruit. This article describes some strategies adopted by the tomato plant as consequences of the plasticity of its genome. The 1st case concerns the strategy adopted to defend itself against attacks by pathogens that leads to a variation in the composition of protein domains, in the number and arrangement of resistance genes (R genes). The 2nd study concerns the different genome transcriptional reprogramming of the tomato plants grown in different environments, and the results obtained here indicate that the pattern of gene expression affect the quality of berries picked in the two different areas. The 3rd case concerns the epigenome changes highlighted during the process of fruit ripening.

BIBLIOGRAFIA

- ANDOLFO G., SANSEVERINO W., ROMBAUTS S., VAN DER PEER J., BRADEEN J.M., CARPU-TO D., FRUSCIANTE L., ERCOLANO M.R. (2013): *Overview of tomato (Solanum lycopersicum) candidate pathogen recognition genes reveals important Solanum R locus dynamics*, «New Phytologist», 197, pp. 223-23.
- ERCOLANO M.R., SACCO A., FERRIELLO F., D'ALESSANDRO R., TONONI P., TRAINI A., BARONE A., ZAGO E., CHIUSANO M.L., BUSON G., DELLEDONNE M., FRUSCIANTE L. (2014): *Patchwork sequencing of tomato San Marzano and Vesuviano varieties highlights genome-wide variations*, «BMC Genomics», 15 (1), p. 138.
- KELLER FOX E. (2014): *From gene action to reactive genomes*, «Journal of Physiology», 592 (11), pp. 2423-2429.
- MCCCLINTOCK B. (1984): *The significance of responses of the genome to challenge*, «Science», 226, pp. 792-801.
- SANSEVERINO W., ERCOLANO M.R. (2012): *In silico approach to predict candidate r proteins and to define their domain architecture*, «BMC res notes», 5, p. 678.
- ZHONG S., FEI Z., CHEN Y., ZHENG Y., HUANG M., VREBALOV J., MCQUINN R., GAPPER N., LIU B., XIANG J., SHAO Y. GIOVANNONI J.J. (2013): *Single-base resolution methylomes of tomato fruit development reveal epigenome modifications associated with ripening*, «Nature Biotechnology», 31, pp. 154-159.

ROSARIO MULEO*, LUCIANA BALDONI**

Fiore e frutto in olivo: plasticità fenotipica e regolazione genica dello sviluppo e del metabolismo

INTRODUZIONE

L'insieme degli individui, o sarebbe più appropriato dire l'insieme dei genomi di ciascun individuo, che compongono la popolazione di una specie determina la capacità e l'entità di adattamento della specie stessa (fitness). Gli aspetti peculiari dell'adattamento determinano le specificità plastiche, che possono essere considerate anche come l'insieme delle interazioni definite dal binomio *possibilità/opportunità* che una specie possiede, e le permettono di interagire con gli altri organismi viventi e con l'ambiente. La comparsa di una mutazione in uno o più individui si sostituisce a una o più di quelle già esistenti solamente nel singolo individuo e/o negli individui interessati di una popolazione; considerando, però, la popolazione, essa si accumula e coesiste con tutte le altre mutazioni costituendo, per una specie, una nuovo binomio *possibilità/opportunità*, e, se vogliamo, per le specie di interesse agrario un ampliamento dei soggetti disponibili per l'attività agricola. Anche se indirettamente la propagazione agamica accumula mutazioni, quindi la coesistenza, di nuovi soggetti, che, derivati dai primi per mutazione, danno origine a nuove individualità. Il caso varietale è un caso molto emblematico di plasticità, e, approfittando di tali eventi, abbiamo studiato nell'olivo alcuni aspetti biologici inerenti l'induzione e lo sviluppo dell'infiorescenza e del fiore, lo sviluppo e il metabolismo del frutto.

* Dipartimento di scienze e tecnologie per l'Agricoltura, le Foreste, la Natura e l'Energia, Laboratorio di EcoFisiologia Molecolare e Biotecnologie delle Piante Arboree, Università degli Studi della Tuscia

** Istituto di Bioscienze e Biorisorse (CNR-IBBR), Divisione di Perugia

LA PLASTICITÀ DELLO SVILUPPO FIORALE

Le infiorescenze dell'olivo sono un caso interessante di plasticità fenotipica: questi organi variano per numero di singoli fiori recanti e struttura tra le varietà della specie. Inoltre, in una stessa pianta non è presente un unico modello di infiorescenza, ma coesistono modelli diversi che danno origine a una popolazione di modelli. In indagini da noi condotte nelle varietà Canino, Leccino, Moraiolo e Uovo di Piccione, abbiamo osservato che in ciascuna popolazione di modelli di infiorescenza è possibile individuare frequenze che caratterizzano ciascuna varietà. Le analisi di espressione, da noi condotte, sulle infiorescenze di Leccino e Dolce Agogia, durante lo sviluppo dell'organo, hanno evidenziato una stretta relazione tra il modello di sviluppo dell'infiorescenza e la regolazione dell'espressione dei geni *Blind*, *Rax1*, *Rax2* e *Rax3*, che codificano l'espressione di proteine deputate alla ramificazione dell'infiorescenza. Quale potrebbe essere il significato adattativo di questa plasticità? È noto che fattori nutritivi, ambientali, ormonali, regolano lo sviluppo dell'infiorescenza (Fiorino et al., 2012), però ciascuno di questi fattori non è preponderante sugli altri, ma concorre per definire la strategia dello sviluppo dell'infiorescenza, delle infiorescenze in un ramo fruttifero e di tutte le infiorescenze nella pianta intera. Prove sperimentali che prevedevano la manipolazione delle infiorescenze, simulando l'intervento di un predatore o di danni generati da eventi traumatici, hanno evidenziato che la struttura delle infiorescenze rimanenti riadattano le loro strategie di sviluppo, a seconda del periodo dello sviluppo e dell'intensità dell'intervento (Lavee et al., 1996; Lavee et al., 1999; Seifi et al., 2008).

In olivo, lo sviluppo delle infiorescenze termina con lo sviluppo completo dei fiori e quale/i tra il fiore/i pistillifero/i, tra tutti quelli presenti nell'infiorescenza, allegherà/allegheranno, dando origine alla drupa, è un evento che ricorre con una frequenza probabilistica diversa tra le varietà Canino, Leccino, Moraiolo e Uovo di Piccione. Infatti, nei nostri studi abbiamo osservato che in Uovo di Piccione solamente i fiori della seconda e terza ramificazione allegano, mentre nelle altre tre varietà anche il fiore terminale allega, e la frequenza probabilistica del fenomeno è maggiore in Canino e Moraiolo. In Leccino è stata osservata la frequenza del fruit set, con il valore probabilistico più alto, nella prima ramificazione e nella quinta ramificazione terminale. È evidente che anche in questo caso il binomio evolutivo *possibilità/opportunità* esplica una funzione fortemente adattativa, poiché il determinismo genetico, dipendente dalla storia evolutiva di ciascuna varietà, interagisce con i fattori ambientali nel definire la probabilità della frequenza del fruit set di ciascun

fiore pistillifero. La plasticità di adattamento è stata osservata in indagini da noi condotte nella varietà Canino, in tre diverse località (Blera, Canino e Vetralla) della provincia di Viterbo, caratterizzate da piccole variazioni pedoclimatiche, in cui il modello dell'architettura dell'infiorescenza, la frequenza di allegazione di ciascun fiore pistillifero e il fruit set, sono risultati correlati alle condizioni ambientali, pur manifestando sempre i tratti fenotipici della varietà Canino.

LA PLASTICITÀ DELLE VIE METABOLICHE

Nel 2014 la rivista *Science* ha pubblicato un articolo che evidenzia come nelle piante di più recente comparsa, ossia le angiosperme, si siano evoluti la gran parte dei pathway di sintesi dei metaboliti secondari (Chae et al., 2014). Il biochimismo e la fisiologia dell'olivo, analogamente a quanto avviene nelle altre specie di angiosperme, sono caratterizzati da una pletera di vie di sintesi dei metaboliti secondari e i composti prodotti svolgono una molteplicità di ruoli sia nel controllo dello sviluppo dei singoli organi e della pianta intera sia nella comunicazione che intercorre tra una pianta con le altre piante e gli altri organismi. Un'ampia gamma di questi composti agiscono per alleviare stress biotici e abiotici che si ingenerano nella pianta, ma questi stessi composti sono sintetizzati non in risposta a stress ma per comunicare stati specifici dello sviluppo ontogenico di un organo. Questo è il caso della sintesi di polifenoli nella drupa di olivo. In nostri esperimenti condotti con il gruppo del prof. Servili di Perugia e con il gruppo del prof. Gucci di Pisa, abbiamo studiato le vie di sintesi e di degradazione dei flavonoidi, in mutanti naturali (Buscionetto e Leucocarpa) per il carattere *colorazione della drupa* e nelle cultivar Leccino e Frantoio in irrigue e non irrigue. Sorprendente è stata osservata un'ampia variabilità fenotipica, la quale è risultata associata a una diversa regolazione dell'espressione dei geni coinvolti nelle vie di segnalazione e nella sintesi degli enzimi deputati alla via di sintesi (Frioni et al., 2013; Frioni et al., 2014; Cirilli et al., 2014). In alcuni casi è stata osservata anche una stretta associazione con mutazioni genetiche ed epigenetiche, indicando che la differenziazione varietale è avvenuta sia per adattamento sia per selezione.

È doveroso evidenziare che molti dei metaboliti secondari svolgono una funzione importante anche nella salute e nel benessere umano e degli animali (Vauzour et al., 2010); pertanto è verosimile ipotizzare che tra l'uomo e le specie vegetali coltivate esista una co-evoluzione. Negli esperimenti da noi condotti tra le varietà studiate è presente la varietà Leucocarpa, che produce

un frutto maturo di colore bianco avorio, il quale non ha apparentemente alcun valore sia come oliva da tavola sia da oliva da olio. L'uomo però mantiene in vita questa varietà e con la sua azione, probabilmente, ne aumenta la fitness. Quale sia il valore adattativo di *Leuococarpa* non è ancora chiaro, ma è interessante tener presente che essa incrementa la plasticità della specie olivo, come risulta dall'espressione dei geni del metabolismo della via di sintesi dei flavonoidi osservata nelle sue drupe durante la maturazione.

I nostri studi hanno evidenziato che anche in olivo l'espressione dei geni del pathway dei polifenoli avviene in cluster, ossia in maniera coordinata, forse questo avviene in relazione all'effetto della vicinanza della loro posizione nel DNA (network di *neighboring genes*). Dalla letteratura recente è noto che geni che si esprimono coordinatamente sono spesso funzionalmente associati, per cui le conoscenze del genoma di una specie e le conoscenze delle putative vie metaboliche, implicate in risposta a uno stimolo o in relazione a uno stadio di sviluppo ontogenico, potrebbero condurre a ipotesi predittive di comportamenti adattativi (Hansen et al., 2014). La comparsa di una mutazione funzionale, pertanto, genera una perturbazione nel network dei geni coinvolti, per cui determina o un adattamento, con la comparsa di un nuovo fenotipo e di un nuovo binomio *possibilità/opportunità*, oppure la pianta muore.

CONCLUSIONI

Dell'olivo, pur essendo una pianta fortemente antropizzata, si conosce poco della sua plasticità fenotipica, poiché, fino a ora, non è stata completamente esplorata. La conoscenza delle variazioni genetiche ed epigenetiche permetterebbe di costruire sistemi comportamentali adattativi polifunzionali, ossia sfruttare la plasticità della specie olivo in programmi di miglioramento genetico. In questo breve sunto abbiamo presentato delle anomalie. L'accumulo dell'anomalie mettono in crisi le teorie e/o le convinzioni più solide, determinando il cambiamento di paradigma, e come diceva Albert Einstein in un suo aforismo «se in un primo momento l'idea non è assurda, allora non c'è nessuna speranza che si realizzi».

RINGRAZIAMENTI

Questa ricerca è stata finanziata dal Progetto Strategico MiPAF “OLEA – Genomica e Miglioramento Genetico dell'Olivo”, D.M. 27011/7643/10.

Ringraziamo la Roche Diagnostic Spa, Applied Science per aver supportato il progetto italiano OLEA.

ABSTRACT

Whole-genomes of a individual pool of each variety that constitute a species define the resource for the adaptability of the species itself to the ambient. The adaptability might be evaluated as an index of the plasticity of one species. The plasticity can therefore be meant as the binomial *possibility/opportunity* that allows the plant to interact with other organisms and environmental factors. In cultivated plants, the appearance of mutations might generate new possibility, giving origin to new opportunity of adaptation in one species and, therefore, a new variety could appear.

Olive panicle and flower development, fruit set and secondary metabolites biosynthesis in the fruit are an excellent examples of phenotypic plasticity. Flowers number and panicle structure varies among inter- and intra-variety, generating a population of inflorescence models, which resulted to be strongly linked to different gene expression of olive *Blind*, *RAX1*, *RAX2* and *RAX3*, observed. These gene coding for transcription factors regulating the branching, of panicle. Fruit-set occurs with a different frequency among olive varieties, depending to the ovary position within panicle, and epigenetic and genetic factors are responsible.

Secondary metabolites playing a role in many plant physiological process, as biotic and abiotic stress adaptation and ontogenic development of an organ, under different deploration stage and environmental conditions are dependent from the historical evolution of each variety and its plasticity off adaptation. The analysis of gene expression data, in our studies, has shown that transcriptionally coordinated (co-expressed) genes are often functionally related, enabling us to use expression data in gene function prediction.

BIBLIOGRAFIA

- CHAE L., KIM T., NILO-PAJANCO R., RHEE S.Y. (2014): *Genomic Signatures of Specialized Metabolism in Plants*, «Science», 344, pp. 510-513.
- CIRILLI M., URBANI S., PERROTTA G., SERVILI M. e MULEO R. (2014): *La colorazione bianca dell'oliva è generata da una regolazione negativa, temporanea e/o permanente, di geni della via metabolica dei flavonoidi*, in Riassunti dei lavori III Convegno Nazionale dell'Olio e dell'Olivo, Bari 26-28 Novembre 2014, a cura di: GOMES T., CAMPOSEO S., CLODOVEO M.L., «Acta Italus Hortus», 14, p. 28.
- FIORINO P., MARONE E., ROSATI A., CAPORALI S., PAOLETTI A. (2012): *Il fiore e la biologia fiorale*, Collana Divulgativa dell'Accademia, a cura del Consiglio Accademico dell'Accademia Nazionale dell'Olio e dell'Olivo (Spoleto), vol. I <http://hdl.handle.net/2067/2597>.
- FRIONI E., CARUSO G., CIRILLI M., ZEGA A., GENNAI C., RUZZI M., SERVILI M., GUCCI R., BONOCORE V., POERIO E., MULEO R. (2013): *Stato idrico della pianta e catabolismo dei polifenoli in Olea europaea*, in Riassunti dei lavori, X giornate Scientifiche SOI,

- Padova, 25-27 giugno 2013, a cura di: BONGHI C., SAMBO P., «Acta Italus Hortus», vol. 12, p. 76.
- FRIONI E., CARUSO G., GENNAI C., URBANI S., ESPOSTO S., RUZZI M., SERVILI M., GUCCI R., POERIO E., MULEO R. (2014): *Catabolism of fruit polyphenols accumulation in Olea europaea L. trees with different water status*, in IHC 2014, The 29th International Horticultural Congress. vol. unico, p. 1, Brisbane:IHC 2014, Brisbane, Australia, 17-22 August.
- HANSEN B.O., VAID N., MUSIALAK-LANGE M., JANOWSKI M. and MUTWIL M. (2014): *Elucidating gene function and function evolution through comparison of co-expression networks of plants*, «Frontiers in Plant Science», 5, pp. 1-9.
- LAVEE S., RALLO L., RAPOPORT H.F., TRONCOSO A. (1996): *The floral biology of the olive: effect of flower number, type and distribution on fruit set*, «Scientia Horticulturae», 66, pp. 149-158.
- LAVEE S., RALLO L., RAPOPORT H.F., TRONCOSO A. (1999): *The floral biology of the olive II. The effect of inflorescence load and distribution per shoot on fruit set and load*, «Scientia Horticulturae», 82, pp. 181-192.
- SEIFI E., GUERIN J., KAISER B.N., SEDGLEY M. (2008): *Inflorescence architecture of olive*, «Scientia Horticulturae», 116: pp. 273-279.
- VAUZOUR D., RODRIGUEZ-MATEOS A., CORONA G., ORUNA-CONCHA M.J. and SPENCER J.P.E. (2010): *Polyphenols and Human Health: Prevention of Disease and Mechanisms of Action*, «Nutrients», 2, 1106-1131.

MARIO PEZZOTTI*, STEFANO PONI**, SARA ZENONI*

Analisi della plasticità fenotipica e dell'interazione genotipo-ambiente in *Vitis vinifera* L.: le sinergie tra la valutazione fisiologica e l'approccio genomico

I. INTRODUZIONE

La viticoltura del nuovo millennio prospetta, per il nostro Paese, stimoli ma anche nuove sfide. L'annata in corso (2014) segna l'ennesimo record di presenze a Vinitaly, mentre nel 2013 l'export di vino italiano ha raggiunto e superato, in valore, la fatidica soglia dei 5 miliardi di euro. Accanto a questi dati "luccicanti", anche alcune ombre: il persistere della classica situazione a "macchia di leopardo" della viticoltura italiana che accanto ad aree che prosperano ne segnala altre in grave difficoltà di prezzo delle uve e collocamento del prodotto, la crescente preoccupazione per quelle che potrebbero essere le future normative che regoleranno la messa a dimora di nuovi impianti, l'apparentemente inarrestabile calo del consumo pro-capite di vino, oggi oscillante intorno ai 37L/anno, le sfide imposte alla viticoltura dal cambiamento climatico che richiedono una rivisitazione delle tecniche colturali tradizionali e, quasi paradossalmente, il rovesciamento di alcuni concetti da sempre concepiti come pilastri fondanti del "saper coltivare la vite e produrre buon vino".

Ciò premesso, ci pare di potere individuare alcuni argomenti "caldi" che, in futuro, saranno certamente all'attenzione dei ricercatori e degli operatori del settore. Tra questi:

- 1) l'esigenza di conciliare con sempre maggiore efficacia "tradizione" e "innovazione". La prima rappresentata dal fascino quasi mistico del "terroir", punto di forza di una viticoltura nazionale che presenta una varietà di genotipi, mesoclimi e suoli che non ha certamente eguali al mondo e, la

* Dipartimento di Biotecnologie, Università di Verona

** Istituto di Frutti-Viticultura, Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza

seconda, dall'applicazione di moderne tecniche di impianto e gestione del vigneto. Volendo esprimere questo connubio in termini più immediati, un territorio "vocato" dovrebbe poter conseguire anche una resa "remunerativa", la qualità "desiderata" delle uve (ovvero quella che, in ultima analisi, ne consente un'agevole collocazione sul mercato) e una riduzione sensibile dei costi di produzione. Il tutto, ovviamente, all'interno di un quadro di sostenibilità economica e ambientale;

- 2) le interazioni tra il cambio climatico e il "modo" di fare viticoltura. Nella fattispecie, continuando il trend ambientale di surriscaldamento che, peraltro, i modelli sembrano confermare, occorrerà rivedere la "vocazionalità" dei territori e la redistribuzione geografica dei vitigni (emblematici i casi, sempre più frequenti di vigneti che spuntano in Paesi del Nord Europa), si dovrà riconsiderare la valenza di aree a maggiore altitudine o di mesoclimi particolari e, soprattutto, sarà necessario adattare la tecnica colturale in maniera tale da contrastare fenomeni che appaiono sempre più preoccupanti (maturazione alcolica molto anticipata, aromi atipici, ecc.);
- 3) il tema del ricorso all'irrigazione che sta irrompendo in diverse aree tradizionalmente in "asciutta" e che pone al viticoltore, non avvezzo a questa pratica, problemi di natura tecnica ma anche, in certo senso, "psicologica". È, infatti, del tutto evidente che alcuni stereotipi (uno su tutti: dare acqua al vigneto fa sempre male alla qualità) ancora pesano e frenano la consapevolezza che il ricorso oculato alla pratica irrigua costituisca un formidabile strumento di stabilità quanti-qualitativa e di flessibilità gestionale;
- 4) tratti simili a quelli delineati per la risorsa idrica sono rilevabili anche in tema di meccanizzazione del vigneto che, specie per vendemmia meccanica e potatura meccanica invernale, vede il nostro paese ancora in posizione arretrate rispetto ai cugini francesi o a grandi paesi produttori di oltre-oceano (es. Cile e Australia). In tale contesto appare evidente che, nonostante i ragguardevoli sforzi prodotti dalla ricerca fin dai primi anni 70, vi sia ancora un diffuso scetticismo sul fatto che l'ovvio contenimento dei costi che accompagna, specie su superfici adeguate, un intervento meccanico sia del tutto compatibile con il mantenimento di livelli produttivi e qualitativi simili a quelli conseguiti con una gestione manuale;
- 5) le cosiddette "nuove tecnologie" che stanno letteralmente invadendo anche la pratica viticola e che annoverano varie strategie di viticoltura di precisione, nuovi protocolli di monitoraggio ambientale e di applicazione di modelli epidemiologici per la previsione dell'insorgenza di malattie e,

non ultimi, i nuovi sistemi di supporto alle decisioni (DSS) che stanno trovando crescente favore e gradimento da parte degli operatori per caratteristiche di polivalenza, tempestività e non “intrusività”;

- 6) da ultimo, il tema che sarà poi sviluppato nei paragrafi seguenti e che, ponendo al centro la sempre dibattuta interazione genotipo-ambiente, ambisce a chiarire come fisiologia e genomica possono finalmente integrarsi per fornire risposte concrete a quesiti che ruotano intorno alla temuta “variabilità” di effetti e risposte che si riscontrano in vigneto.

2. INTERAZIONE GENOTIPO-AMBIENTE: LA VALUTAZIONE FISIOLOGICA

Un ideale punto di partenza per questa trattazione è certamente costituito dalla natura del panorama ampelografico italiano che si caratterizza per centinaia di vitigni peraltro in dinamica evoluzione sotto il profilo delle tendenze di impianto. Come è noto, infatti, nelle ultime due campagne vivaistiche, le barbatelle più richieste sono quelle di vitigni a bacca bianca (Pinot grigio in particolare) anche se, ancora oggi, dei circa 650.000 del vigneto “Italia”, circa 70.000 sono impiantati a Sangiovese. È peraltro certamente impressionante notare che almeno un terzo di questa superficie è formato dalla messa in coltura di piccoli appezzamenti di un elevatissimo numero di genotipi (circa 330 secondo fonti ISTAT, 2012).

A fronte di tale ricchezza ampelografica (e, in questa sede, tralasciamo volutamente l’aspetto riguardante la presenza, per diversi vitigni di un numero talvolta impressionante di cloni) occorre in primo luogo chiedersi quale e quanta variabilità esiste all’interno di varietà appartenenti a *Vitis vinifera* L. Il tema è quanto mai attuale e dibattuto poiché il fattore “vitigno” concorre insieme con i fattori clima e suolo all’espressione fenotipica e, in ultima analisi, alla redditività di una determinata scelta colturale. Secondo Van Leuwen et al. (2004), le risposte vegeto-produttive e qualitative osservate in vigna dipendono almeno per il 50% dalla cosiddetta “annata” e per il restante 50%, in parti più o meno equivalenti, da suolo e combinazione vitigno/portinnesto. In quel contributo si riscontrò, inoltre, che gli effetti indotti dal “suolo” non erano in realtà di natura “diretta” bensì mediati da quelli esercitati sullo stato idrico delle viti.

Indubbiamente, il tratto che più di altri descrive con efficacia la variabilità inter-varietale è quello relativo alla precocità di maturazione dei vitigni, efficacemente sintetizzata in figura 1, in cui per quattro fasce climatiche separate da un ΔT di 2 °C calcolato sulla media delle temperature giorno-

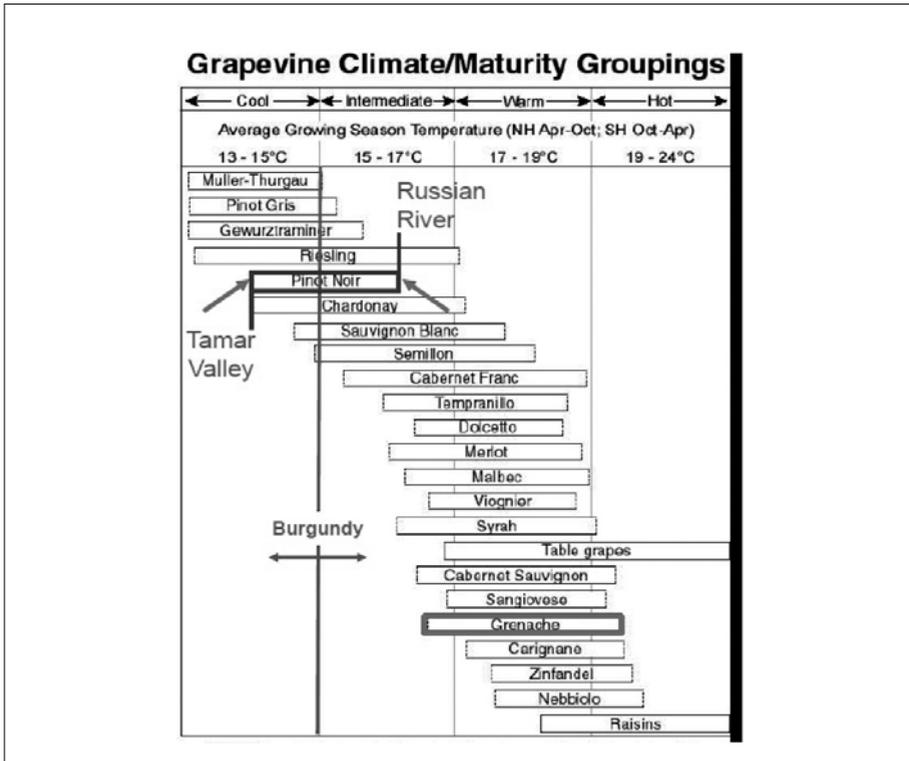


Fig. 1 Posizionamento di alcuni vitigni in base alle rispettive esigenze climatiche (da Jones, 2005)

liere per il periodo 1 aprile-31 ottobre, si può apprezzare il posizionamento dei principali vitigni coltivati. Poiché il carattere di “precoce” o “tardivo” è evidentemente legato soprattutto alla sommatoria termica di cui il vitigno necessita per giungere a maturazione, il tratto in questione è evidentemente preponderante rispetto all’influenza esercitata da suolo e tecnica colturale. È inoltre curioso notare che la dislocazione dei vitigni di figura 1 è, peraltro, relativamente “mobile”. Si calcola, infatti, che il ritmo attuale di “global warming” (circa 0.4 °C per decade secondo Jones, 2005) porti, in un cinquantennio, ad accumulare quel delta di 2 °C che segna anche il passaggio di “fascia”. Quest’ultimo riveste importanza particolare nel caso di aree prima non vitate e che, grazie a questo fenomeno, entrano in fascia “cool” (vedi alcune zone del Regno Unito o di alcuni paesi Scandinavi) e di aree che, essendo già oggi al confine tra segmento “warm” e “hot” rischiano seriamente di “uscire” dalle fasce di vocazionalità viticola (è il caso di aree molto calde della California o del Portogallo).

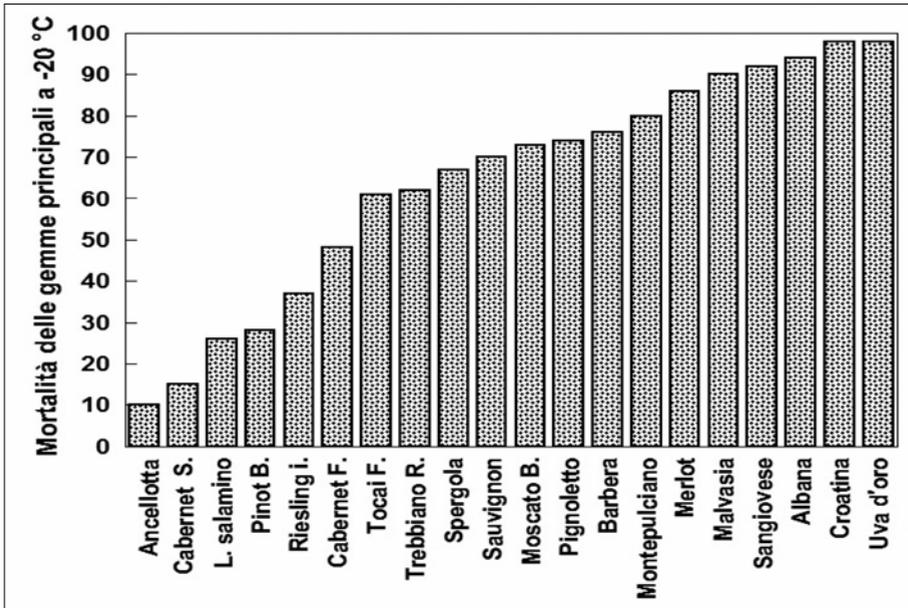


Fig. 2 *Mortalità delle gemme principali (%) a -20 °C in diversi vitigni appartenenti a Vitis vinifera L. (da Intrieri et al., 1985)*

In generale, l'apprezzamento delle differenze sicuramente imputabili al vitigno o, per meglio dire, alla combinazione vitigno/portinnesto, non è certamente di facile percezione. Peraltro, tale difficoltà è comprensibile poiché questi confronti sono spesso "spuri", ovvero viziati da un effetto di "confounding" connesso al variare anche di condizioni ambientali e colturali. Pertanto, quasi paradossalmente, una buona occasione per valutare in maniera accettabilmente obiettiva il peso della variabilità genotipica è quella di eventi climatici estremi che, agendo su scala di macro-clima, in un certo senso "obbligano" i vari vitigni a sottostare alle medesime condizioni facilitandone la valutazione comparativa. Un esempio calzante è quello che risale alla gelata invernale storica del 1995 (-26 °C raggiunti in pianura padana) che permise di valutare la sensibilità al danno da freddo per una gamma molto ampia di vitigni (fig. 2). Nella fattispecie, si notò che, in corrispondenza della soglia critica di -20 °C, alcuni vitigni (es. Ancellotta e Cabernet S.) presentavano una percentuale di danno alle gemme principali inferiore al 20% mentre, in altri, (es. Albana, Croatina e Uva D'oro) l'entità del danno raggiungeva in pratica il 100% delle gemme osservate (Intrieri et al., 1985).

Un'altra condizione che, pur in un'alea negativa, costituisce una ghiotta occasione di comparazione di variabilità genotipica è quella dell'insorgenza

di gravi stress idrici che inducono determinati adattamenti morfo-fisiologici. Anche se la classificazione tra vitigni “isoidrici”, ovvero capaci di mantenere sotto stress potenziali idrici relativamente elevati grazie ad una pronta chiusura stomatica, es. Grenache) e anisoidrici (dotati di una reattività e di un controllo stomatico più blando e quindi più esposti a raggiungere potenziali idrici fogliari decisamente più negativi) è stata messa di recente in discussione (Lovisolo et al., 2010), non vi è dubbio che le risposte con cui diversi vitigni reagiscono a stress idrici severi siano molto diverse. Ad esempio, il Sangiovese mostra solitamente segni assai tangibili di stress con un marcato ingiallimento e filloptosi delle foglie basali e tendenza, per tutte le foglie, ad assumere un’inclinazione tendenzialmente verticale, utile a sfuggire alla radiazione incidente e, di conseguenza, a ridurre i consumi traspiratori. Viceversa, la chioma di Montepulciano non pare mostrare tali limiti apparendo in pratica perfetta. Tuttavia, una valutazione “fisiologica” dell’adattamento dei due vitigni allo stress porta a conclusioni molto diverse se non opposte. Come ben evidenziato da Palliotti et al., 2009, infatti, il Sangiovese, anisoidrico, intelligentemente “sacrifica” le foglie basali, peraltro ormai avviate alla senescenza e quindi scarsamente funzionali, mantenendo però una discreta funzionalità delle foglie mediano-apicali per le quali non si registra una chiusura stomatica fortemente limitante. Viceversa, il Montepulciano presenta una reazione monolitica di marcata chiusura stomatica indipendentemente dalla posizione della foglia raggiungendo, almeno nel breve periodo, il risultato di una salvaguardia del proprio status idrico fogliare ma, poiché gli stomi sono anche il canale di diffusione della CO₂, di limitazione molto forte dell’attività fotosintetica.

Indubbiamente, la tipologia di risposta di un determinato genotipo a uno stress biotico o abiotico può anche essere influenzata dalla metodologia di valutazione. Un esempio recente e calzante è quello proposto alla figura 3A, B in cui misure condotte su viti di Sangiovese sottoposte a un livello crescente di stress idrico portano a conclusioni opposte a seconda della metodologia adottata. Infatti, misure di scambio gassoso (fotosintesi e traspirazione) condotte su foglia singola segnalano per il parametro di efficienza intrinseca di uso dell’acqua (rapporto tra fotosintesi e conduttanza stomatica) un forte aumento in condizioni di stress (fig. 3A). Tuttavia, quando la scala di rilievo viene portata al livello di chioma intera, il risultato si inverte (fig. 3B). Questa risposta contraddittoria suona certamente come un campanello di allarme poiché è evidente che la valutazione oggettiva di un adattamento fisiologico non dovrebbe dipendere in maniera così netta e decisiva dalla metodologia adottata.

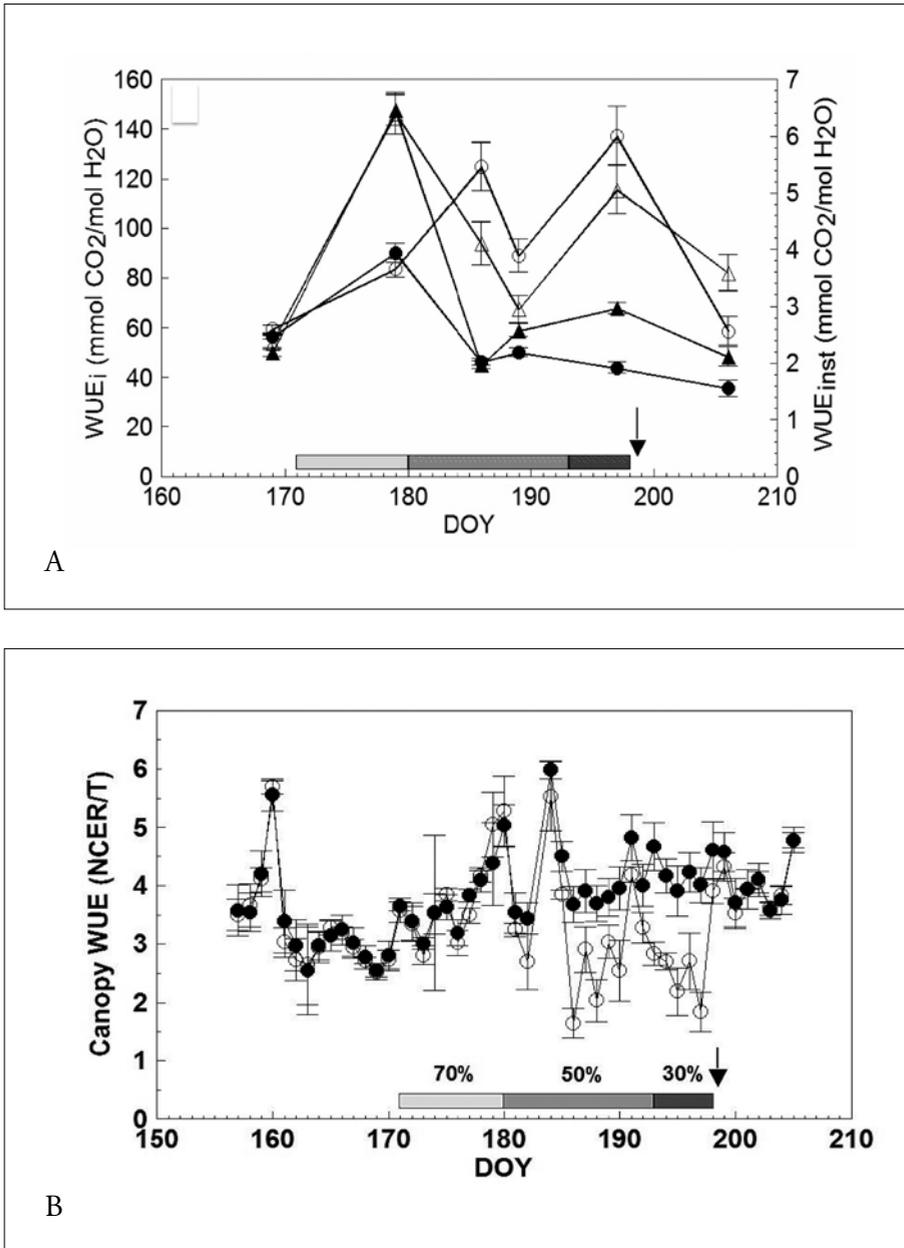


Fig. 3 In A), efficienza di uso dell'acqua istantanea (A/E) e intrinseca (A/g_s) rilevata su foglie singole di Sangiovese sottoposte, in pre-invasiatura, a un ciclo di stress idrico fino alla restituzione di solo il 30% dell'acqua traspirata; in B) la misura stagionale di efficienza di uso dell'acqua condotta su chioma intera (da Poni et al., 2014)

Gli esempi finora riportati non fanno peraltro che rafforzare l'urgenza di avere risposte precise ai seguenti temi: a) comportamento di diversi vitigni nel medesimo ambiente; b) comportamento dello stesso vitigno in ambienti diversi e c) consistenza e ripetibilità della risposta a una certa tecnica colturale in funzione di vitigno e ambiente.

È di tutta evidenza che una risposta soddisfacente a questi quesiti non può prescindere da un'azione sinergica tra caratterizzazione morfo-fisiologica e analisi genomica. In tema, uno degli interrogativi da sempre più stimolante è se esistano vitigni "facili" o "difficili". In linea teorica "facile" è quel vitigno che, oltre a caratterizzarsi per una certa rusticità, tende a mantenere le proprie peculiarità pur in presenza di ampia variabilità ambientale e che non necessita, quando trasferito dall'ambiente di origine in cui si presume sussistano le condizioni ottimali di performance, di profondi adattamenti della tecnica colturale. Sempre per deduzione logica, vitigni relativamente facili potrebbero essere quelli detti anche "internazionali" o "cosmopoliti" (es. Cabernet Sauvignon o Chardonnay) che sono presenti e coltivati in tutti i principali paesi viticoli del mondo e per i quali non sembrano sussistere particolari problemi agronomici. Peraltro, è percezione comune che un vitigno come il Cabernet S. abbia caratteristiche che, rispetto ad altri, lo rendono decisamente più adattabile; tra queste una certa tolleranza alle principali malattie fungine, una buona resistenza alle minime invernali, un portamento assurgente che ne facilita la gestione anche nel caso di forme a portamento libero e, soprattutto, una scarsa sensibilità a variazioni drastiche del regime termico luminoso nella zona dei grappoli. Viceversa, il Sangiovese ad esempio, è considerato un vitigno "difficile" che, se spostato dai suoi areali di origine, può regalare, se ben gestito, grandi soddisfazioni ma anche cocenti delusioni. Il Sangiovese richiede infatti una gestione della chioma particolarmente attenta poiché la sua già non esaltante capacità di accumulare antociani può essere ulteriormente inficiata, ad esempio, da operazioni che determinano una sovraesposizione dei grappoli alla luce e quindi alle alte temperature.

Sotto questo profilo, in tema di vitigni "facili" o "difficili" il contributo che potrebbe dare la genomica è prezioso poiché avere una conferma che quanto sopra ipotizzato ha un fondamento transcrittomico sarebbe di estrema utilità per uno screening dei vitigni che, più di altri, hanno la possibilità di adattarsi ad ambienti diversi da quelli di origine e che, meno di altri, hanno necessità di cambiamenti drastici delle tecniche di gestione della chioma.

Come è noto, il successo e il gradimento di una determinata tecnica colturale, oltre alla facilità ed economicità di esecuzione (ad esempio la suscettibilità alla meccanizzazione) dipende soprattutto dalla ripetibilità degli ef-

fetti che la medesima induce al variare di ambiente e vitigno. In generale, le operazioni di gestione del vigneto che hanno particolari necessità di risultare “ripetibili” sono quelle di “potatura verde” le quali, poiché eseguite in piena fase vegetativa, sono particolarmente soggette all’influenza esercitata dal clima. Tra queste, l’operazione di defogliazione precoce (pre-fioritura) eseguita allo scopo di indurre uno stress fotosintetico temporaneo e calibrato che, come ricaduta positiva, consente di ridurre la quota di allegagione e di ottenere quindi grappoli meno compatti e meno suscettibili ai marciumi (Poni et al., 2006) rappresenta la metodologia più innovativa e di successo dell’ultima decade. Gli effetti dell’operazione (grappoli più spargoli, acini più piccoli con un rapporto buccia/polpa più favorevole, maturazione piena con mantenimento di una buona acidità) si sono rivelati particolarmente stabili anche al variare di vitigno e condizioni colturali. Il dato probabilmente è in parte prevedibile poiché questa particolare defogliazione basa i suoi effetti su un principio fisiologico molto solido secondo il quale una carenza precoce di “source” ha come effetto quasi scontato quello di limitare la percentuale di allegagione. Tuttavia, anche per questa tecnica, non mancano casi di vitigni che, a parità di modalità di applicazione della stessa, sono risultati poco reattivi (es. Ortrugo). Quello delineato è uno dei casi classici in cui la fisiologia applicata chiede aiuto alle tecniche di genomica per potere capire, studiando i meccanismi di up e down-regulation dei geni coinvolti, se la refrattarietà alla tecnica effettivamente ha una base genetica oppure se è da ricercarsi in condizioni ambientali o “endogene” (nella fattispecie individuabile nel pool di sostanze di riserva presente negli organi permanenti che, in presenza di una decurtazione drastica e improvvisa di *source* potrebbero essere mobilizzate per svolgere un’azione di *buffering*).

Un secondo esempio che chiarisce secondo quali direttrici genomica e fisiologia potrebbero integrarsi è quello relativo a processi che cambiano il proprio pattern temporale in rapporto all’ambiente in cui si verificano. Un caso emblematico è quello della longevità fogliare in *Vitis vinifera* L. per la quale diversi contributi (Poni et al., 1994) tendono a collocare la massima attività fotosintetica intorno ai 40 giorni di età e, successivamente, riportano un lento ma costante declino che attribuisce alla foglia di circa 120 giorni un tasso di fotosintesi pari a circa il 50% di quello massimo. Tuttavia, quando il trend di longevità è stato studiato in climi molto più freschi (es. Valle del Reno, Germania) rispetto a quelli a cui fanno riferimento i dati sopra citati, il decremento di fotosintesi una volta varcata soglia dei 40 giorni non si è verificato e solo a fine stagione le foglie hanno mostrato segni evidenti di invecchiamento. Questo comportamento pare il frutto di un’evidente risposta

di adattamento ambientale: in una località che pone oggettivi limiti climatici all'attività fotosintetica (es. minore radiazione e sommatorie termiche) un naturale fattore di compensazione può certamente essere rappresentato da una maggiore longevità fogliare. Indubbiamente, rimane una curiosità insoddisfatta: il medesimo vitigno che, coltivato nei due ambienti, presenta questa ampia plasticità in termini di longevità fogliare mostra anche un pattern transcrittomico coerente con quanto osservato?

3. INTERAZIONI GENOTIPO-AMBIENTE: IL CONTRIBUTO DELLA GENOMICA

Il vino è la risultante di un complesso processo biologico che deriva dalla profonda interazione della vite con il suo ambiente. Il vitigno è un'entità genetica unica, generalmente rappresentata da uno o pochi individui perfettamente adattati a un territorio e moltiplicati vegetativamente per migliaia o milioni di talee, ovvero, geneticamente parlando, uno o più cloni. L'uomo ha da secoli capito che per mantenere inalterate le combinazioni genetiche tipiche di un unico individuo, bisogna evitare la ricombinazione dei caratteri e quindi la riproduzione gamica. La combinazione vite e ambiente è quindi sicuramente unica, cioè, in termini genetici, un'interazione genotipo-ambiente che esprime un particolare e unico fenotipo.

In viticoltura non si parla di ambiente ma di "terroir", termine che rivela le origini francesi del concetto. Tradotto in termini letterali, "terroir" significa territorio, suolo o terreno, sebbene i francesi attribuiscono a questo termine un più largo significato, non necessariamente legato alla sola "terra". Il concetto di terroir comprende infatti tutti quei fattori e condizioni che intervengono a caratterizzare un vino, quali il clima, l'altitudine ed esposizione, le caratteristiche geologiche del suolo e degli elementi minerali e organici che lo compongono, il drenaggio dell'acqua, ma anche le popolazioni dei lieviti "indigeni" tipici del luogo e, non da ultimo, le pratiche e la cultura enologica adottata nella produzione. Riferito al mondo del vino, *terroir* assume quindi un significato complesso, che riassume le tipicità di un territorio piuttosto ristretto - spesso un singolo vigneto - tanto da impartire ai vini caratteristiche uniche. Questo è certamente vero: due vini prodotti con la medesima uva, anche dallo stesso produttore, ma provenienti da vigneti diversi, possono essere innegabilmente diversi. In fin dei conti, se è vero che un'uva può essere "trasferita" e coltivata in ogni luogo, le caratteristiche specifiche di un luogo sono sempre uniche e non replicabili altrove.

La biologia molto recentemente ha sviluppato conoscenze che hanno con-

sentito la nascita della genomica, una branca della genetica che studia la struttura, la funzione e l'evoluzione dei genomi dei viventi. Il genoma rappresenta il potenziale di una cellula, di un individuo, di una specie, la cui manifestazione dipende dalle complesse interazioni tra le componenti genetiche e ambientali. Nel 2007 sono stati pubblicati i risultati del sequenziamento e dell'analisi dettagliata del genoma della vite (Jaillon et al., 2007; Velasco et al., 2007). Le due iniziative, una italo-francese e l'altra italo-americana, hanno decodificato rispettivamente il genoma di PN40024, un clone sperimentale non coltivato di Pinot Nero, e di ENTAV 115, clone largamente diffuso di Pinot Nero. Questi risultati, di grande valenza internazionale e motivo di orgoglio, costituiscono la base di partenza per gli studi futuri e consentiranno l'adozione di metodologie innovative di genomica applicata per sviluppare e rafforzare la viticoltura italiana del XXI secolo.

La vite è una specie dotata di una grande plasticità fenotipica, cioè un singolo genotipo è capace di esprimere fenotipi differenti in relazione ai diversi ambienti di coltivazione. Si pensi solo ad alcuni esempi molto cari alla viticoltura italiana come la varietà Sangiovese, i suoi cloni e differenti "performances" di questi nei diversi territori.

Per cominciare a definire in termini genomici la plasticità fenotipica si è studiata l'espressione genica di bacche di un singolo clone di vite della varietà Corvina in undici vigneti dell'areale viticolo Veronese -Bardolino, Valpolicella classica e Valpolicella allargata- scelti in modo tale da massimizzare la variabilità fenotipica. Le bacche, raccolte a diversi stadi di maturazione, in tre anni consecutivi 2006-2007-2008, sono state analizzate tramite l'utilizzo dei microarray di espressione. I microarray sono matrici solide di piccole dimensioni su cui sono immobilizzate tutti i geni codificanti presenti nel genoma. Tramite lettura di 12 genomi equivalenti, sono stati predetti circa 30.000 geni nel genoma di vite, il cui monitoraggio tramite appunto piattaforme microarray, permette di analizzare le variazioni di espressione genica dell'intero genoma che avvengono in un dato campione di RNA estratto dall'organo che si vuole analizzare (nel caso specifico gli acini).

Attraverso lo studio dell'espressione genica sono stati evidenziati i geni di vite responsivi all'ambiente per la varietà Corvina, clone 48, capaci molto probabilmente di influenzare la qualità finale dei frutti (Dal Santo et al., 2013). Tra questi geni alcuni regolano processi metabolici risultati estremamente sensibili ai diversi climi; è il caso di geni chiave per la produzione di composti fenolici che hanno un ruolo centrale nel definire il colore e le caratteristiche gustative del vino. Un dato molto importante ottenuto in questo lavoro è che considerando un'unica annata e valutando la diversa modulazione

di espressione genica tra 11 diverse aziende della provincia di Verona, circa il 20% di tutti i geni che si modulano durante il processo di maturazione della bacca risultano plastici. I risultati dello studio hanno anche dimostrato che le prime fasi di maturazione delle bacche sono più sensibili ai cambiamenti delle condizioni ambientali, evidenziando come l'invaiaitura sia una fase di sviluppo estremamente critica e di grande impatto sull'intero processo di maturazione rendendo la vite più esposta all'area climatica. Oltre ai geni plastici, grazie a un accurato campionamento, è stato possibile identificare anche i geni costanti, ovvero geni la cui espressione risultava invariata in tutti i vigneti e le condizioni ambientali studiate. Questi geni sono quindi da considerare come marcatori universali del processo di maturazione delle uve in campo, la loro identificazione e il loro futuro utilizzo contribuirà a meglio definire l'epoca ottimale di raccolta e conseguentemente l'elaborazione di una determinata tipologia di vino.

Altri studi sono tuttora in corso e riguardano la caratterizzazione dell'espressione genica in bacche di vitigni di Sangiovese e Cabernet Sauvignon allevati in tre diverse località italiane e in bacche di Garganega coltivata in diversi suoli dell'area di produzione del Soave nella provincia di Verona.

La sperimentazione condotta su Sangiovese e Cabernet Sauvignon, ha previsto il monitoraggio dell'espressione genica durante lo sviluppo e maturazione delle bacche dello stesso clone di entrambi i vitigni allevato con le stesse pratiche colturali in due zone toscane e una zona in Emilia Romagna per due anni consecutivi. Questo piano sperimentale permette di studiare con molta precisione l'interazione genotipo x ambiente. I risultati ottenuti, seppur ancora preliminari, suggeriscono in generale che una larga parte del trascrittoma di entrambe le varietà viene influenzata dall'ambiente di coltivazione; in particolare Sangiovese è risultata la varietà più plastica, per la quale l'ambiente di coltivazione ha un effetto molto importante sui profili di espressione genica in entrambe le annate.

Il fatto che il trascrittoma della bacca di Cabernet Sauvignon sia più stabile in funzione dell'ambiente di allevamento rispetto a Sangiovese fornisce una spiegazione a livello molecolare del fatto che Cabernet Sauvignon sia un vitigno "facile", che tende a mantenere le proprie peculiarità pur in presenza di un'ampia variabilità ambientale. Viceversa, l'elevata plasticità trascrittomica riscontrata in Sangiovese sottende al fatto che si tratta di vitigno "difficile" che richiede quindi attenzioni maggiori in termini di tecnica colturale.

I dati ottenuti da questo studio permetteranno di definire in prima istanza quei geni che, indipendentemente dal genotipo, dall'ambiente di allevamento e dall'annata, mostreranno lo stesso profilo di espressione durante lo sviluppo

e la maturazione della bacca di vite. L'individuazione di questi geni, definiti "non plastici", permetterà di approfondire le conoscenze riguardanti i meccanismi molecolari che avvengono durante il processo di maturazione della bacca di vite e permetterà di identificare i geni la cui espressione è necessaria per la regolazione delle principali vie metaboliche che si attivano o si reprimono durante la transizione tra la fase vegetativa e quella matura del frutto.

Si potranno anche definire geni genotipo-specifici, modulati solamente in Sangiovese o in Cabernet Sauvignon, geni attivati o repressi in funzione dell'annata, e infine geni che indipendentemente dal genotipo si modulano solamente in una particolare area di coltivazione.

In ultima analisi, si potranno definire i geni la cui espressione varia in funzione dell'interazione tra il genotipo e l'ambiente, geni cioè che si modulano solamente quando un determinato vitigno è allevato in una particolare area di coltivazione e in una particolare annata. Quest'ultimo gruppo di geni rappresenterà un'informazione fondamentale che permetterà in prima battuta di definire con precisione a livello molecolare le risposte fenotipiche che si osservano in quella particolare interazione genotipo x ambiente e, in un secondo momento, di poter prevedere le risposte molecolari che sottendono alla performance di un dato vitigno allevato in un dato ambiente.

Per quanto riguarda il lavoro condotto sul vitigno Garganega, la sperimentazione, per ora annuale, ha previsto il prelievo a quattro stadi di sviluppo durante la maturazione dello stesso clone allevato a pergola, da quattro aree, caratterizzate da diversi terreni e diverse altitudini. I dati fino a ora ottenuti suggeriscono che anche questo vitigno, come Sangiovese, sia molto plastico in termini di modulazione di espressione genica. Molti geni, infatti, risultano differenzialmente espressi in funzione dei diversi ambienti di allevamento e quindi in funzione della diversa composizione del suolo e altitudine. In particolare vigneti coltivati su terreni di origine vulcanica mostrano una specifica modulazione genica durante la maturazione dell'acino di geni coinvolti in particolari processi quali: il metabolismo dei lipidi, che influenza direttamente la produzione di composti aromatici, il metabolismo dei polifenoli e la risposta a stress termico. La diversa modulazione di geni di risposta al caldo è interessante in quanto potrebbe essere dovuta al fatto che i terreni vulcanici, più scuri dei terreni alluvionali, possono avere un effetto sullo stato idrico della pianta e di conseguenza sulla traspirazione dell'acino che si può di conseguenza scaldare. Questi meccanismi a loro volta potrebbero essere responsabili dello sviluppo di particolari caratteristiche finali delle bacche.

Seppur ancora in corso, questi studi offrono un'opportunità unica di esplorare come un dato genotipo risponda a un particolare ambiente in ter-

mini di espressione genica e di definire con sempre maggior precisione i geni responsabili di particolari caratteristiche di qualità delle bacche.

4. CONCLUSIONI

Poiché, come più volte ripetuto, il cambiamento climatico avrà un impatto significativo sulla viticoltura e sulla crescita del settore viticolo nel prossimo futuro, i risultati molecolari fino a ora ottenuti insieme con quelli che si andranno a definire nei prossimi anni riguardanti la precisa caratterizzazione dei processi molecolari che regolano lo sviluppo della bacca in funzione dei fattori ambientali e colturali, costituiranno una solida e necessaria base di partenza per l'identificazione delle ottimali condizioni di crescita e per l'ottenimento di varietà più tolleranti ai futuri cambiamenti climatici. In un'ottica di breve periodo, è altrettanto evidente che le tecniche di genomica, interfacciandosi con le conoscenze di fisiologia e di cinetica di maturazione, potranno tendere al traguardo agognato di potere "ragionevolmente" prevedere come un determinato vitigno potrà comportarsi se inserito in un certo ambiente o se sottoposto a determinate operazioni di manipolazione della chioma.

RIASSUNTO

Il problema classico dell'interazione genotipo x ambiente che, ove significativa, determina notevoli differenze fenotipiche per il medesimo genotipo coltivato in diversi areali di coltura è particolarmente sentito per *Vitis vinifera* L. che, oltre a caratterizzarsi per un panorama ampelografico molto ampio e variegato, è coltivata lungo tutta la penisola con un'altrettanto ampia variabilità di macro e meso-climi. Pertanto, le combinazioni genotipo x ambiente sono innumerevoli ed è estremamente arduo decifrare quale sia il peso relativo di "annata", "suolo" e "vitigno" nelle risposte osservate. In questa nota, in una prima parte dedicata a una valutazione fisiologica, forniamo esempi relativi alla variabilità esistente entro *V. vinifera* in termini di resistenza ai danni da freddo e allo stress idrico, alla possibilità di potere discriminare tra vitigni di "facile" o "difficile" gestione, alla consistenza delle risposte a una determinata tecnica di potatura verde (es. defogliazione precoce) al variare di vitigno e ambiente e, infine, all'influenza che l'ambiente può esercitare su relazioni fisiologiche di primaria importanza (es. variazione di fotosintesi su età della foglia). Un quadro così complesso ha grande necessità di interagire con le moderne tecniche di genomica applicata. Ad esempio, un primo studio effettuato su clone di Corvina allevato in ambienti diversi dimostra come sia possibile distinguere geni "plastici" da geni "costanti", questi ultimi veri e propri marcatori di maturazione poiché forieri di un'espressione che non dipende né da ambiente né da tecnica colturale. Inoltre, riscontri iniziali sembrano confermare che il Sangiovese abbia in effetti una maggiore plasticità transcrittomica rispetto al Cabernet S. Infine, dati ottenuti su Garganega

allevata in terreni diversi mostrano una forte variabilità di espressione genica e, a questo punto, l'auspicio è quello di potere capire se gli effetti che vengono genericamente attribuiti al suolo sono "diretti" o "indiretti". In prospettiva, con fisiologia e genomica che si integrano come mai avvenuto in passato, la quantificazione del livello di consistenza e ripetibilità degli effetti promossi da determinati operazioni colturali o di gestione della chioma al variare di genotipo e ambiente sembra finalmente un traguardo raggiungibile.

ABSTRACT

The issue of the genotype x environment interaction is a special burden in Italian viticulture due to the multitude of grown varieties and clones as well as of macro and meso-climates which can be found throughout the peninsula. Therefore, the number of genotype x environment interactions is huge and it is very tough defining which fraction of phenotypic variability is explained by climate, soil and cultivar. In this review we provide examples for wide within *vinifera* variability in terms of cold and drought resistance, we hypothesize that "easy-to-grow" vs. "difficult-to-grow" genotypes do exist, we discuss consistency of effects due to a given practice (i.e. summer pruning) across different environments and genotypes and, finally, we face the issue of basic physiological relationships (i.e. leaf age vs. leaf photosynthesis) whose pattern is climate dependent.

Such a complex scenario cannot do without the assistance of genomic sciences, namely transcriptomics. A first survey carried out on a cv. Corvina clone grown in 11 different locations has shown that a number of genes having constancy of expression regardless of year and location do exist and such genes can act as precious markers for ripening traits. Likewise, transcriptional studies carried out on cvs. Sangiovese and Cabernet S. grown in different locations have confirmed that, in Sangiovese, transcriptional plasticity is much more pronounced than in Cabernet Sauvignon. Finally, a more recent survey carried out on cv. Garganega planted in different soils has shown strong differences in transcriptional patterns feeding the hope that soon the never-ending debate about soil being able to exert direct influence on grape composition will come to solution. Indeed, the challenge physiology and genomic will have to face is complex and of utmost importance: assessment of degree of repeatability of vine response to cultural practices and canopy management across variability of genotype and growing site seems now to be closer to the finishing line.

BIBLIOGRAFIA

- DAL SANTO S., TORNIELLI G.B., ZENONI S., FASOLI M., FARINA L., ANESI A., GUZZO F., DELLEDONNE M., PEZZOTTI M. (2013): *The plasticity of the grapevine berry transcriptome*, «Genome Biol.», Jun 7, 14 (6), p. 54.
- INTRIERI C., VOLPELLI P., PONI S. (1985): *Danni da freddo alla vite*, «Frutticoltura», 8, pp. 56-61.
- JONES G.V., WHITE M.A., COOPER O.R., STORCHMANN K. (2005): *Climate change and global wine quality*, «Climate Change», 73, pp. 319-343.

- LOVISOLO C., PERRONE I., CARRA A., FERRANDINO A., FLEXAS J., MEDRANO H., SCHUBERT A. (2010): *Drought-induced changes in development and function of grapevine (Vitis spp.) organs and their hydraulic and non-hydraulic interactions at the whole-plant level: a physiological and molecular update*, «Functional Plant Biology», 37, pp. 98-116.
- JAILLON O., AURY J.M., NOEL B., POLICRITI A., CLEPET C., CASAGRANDE A., CHOISNE N., AUBOURG S., VITULO N., JUBIN C., VEZZI A., LEGEAI F., HUGUENEY P., DASILVA C., HORNER D., MICA E., JUBLOT D., POULAIN J., BRUYERE C., BILLAULT A., SEGURENS B., GOUYVENOUX M., UGARTE E., CATTONARO F., ANTHOUARD V., VICO V., DEL FABRO C., ALAUX M., DI GASPERO G., DUMAS V. et al. (2007): *The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla*, «Nature», 2007, 449, pp. 463-467.
- PALLIOTTI A., SILVESTRONI O., PETOUMENU D. (2009): *Photosynthetic and photoinhibition behavior of two field-grown grapevine cultivars under multiple summer stresses*, «American Journal of Enology and Viticulture», 60, pp. 189-198.
- PONI S., INTRIERI C., SILVESTRONI O. (1994): *Interactions of leaf age, fruiting, and exogenous cytokinins in Sangiovese grapevines under non-irrigated conditions. I. Gas exchange*, «American Journal of Enology and Viticulture», 45, pp. 71-78.
- PONI S., CASALINI L., BERNIZZONI F., CIVARDI S., INTRIERI C. (2006): *Effects of early defoliation on shoot photosynthesis, yield components, and grape quality*, «American Journal of Enology and Viticulture», 57, pp. 397-407.
- PONI S., MERLI M.C., MAGNANINI E., GALBIGNANI M., BERNIZZONI F., VERCESI A., GATTI M. (2014): *An improved multichamber gas exchange system for determining whole-canopy water-use efficiency in grapevine*, «American Journal of Enology and Viticulture», 65, pp. 268-276.
- VAN LEEUWEN C., FRIANT P., CHONÉ X., TREGOAT O., KOUNDOURAS S., DUBOURDIEU D. (2004): *Influence of climate, soil, and cultivar on terroir*, «American Journal of Enology and Viticulture», 55, pp. 207-217.
- VELASCO R., ZHARKIKH A., TROGGIO M., CARTWRIGHT D.A., CESTARO A., PRUSS D., PINDO M., FITZGERALD L.M., VEZZULLI S., REID J., MALACARNE G., ILIEV D., COPPOLA G., WARDELL B., MICHELETTI D., MACALMA T., FACCI M., MITCHELL J.T., PERAZZOLLI M., ELDREDGE G., GATTO P., OYZERSKI R., MORETTO M., GUTIN N., STEFANINI M., CHEN Y., SEGALA C., DAVENPORT C., DEMATTÈ L., MRÁZ A., BATTILANA J., STORMO K., COSTA F., TAO Q., SI-AMMOUR A., HARKINS T., LACKEY A., PERBOST C., TAILLON B., STELLA A., SOLOVYEV V., FAWCETT J.A., STERCK L., VANDEPOELE K., GRANDO S.M., TOPPO S., MOSER C., LANCHBURY J., BOGDEN R., SKOLNICK M., SGARAMELLA V., BHATNAGAR S.K., FONTANA P., GUTIN A., VAN DE PEER Y., SALAMINI F., VIOLA R. (2007): *A high quality draft consensus sequence of the genome of a heterozygous grapevine variety*, «PLoS One.», Dec 19, 2 (12), p. 1326.

Genecologia e plasticità fenotipica in alberi forestali

La plasticità fenotipica è il tema del nostro incontro, argomento che negli ultimi 15 anni ha avuto un amplissimo e rinnovato interesse. Gli alberi forestali sono un efficace campo di indagine per comprendere il significato del tema. La genecologia è stato il primo approccio con cui, nel mondo degli alberi forestali, è stato affrontato il problema, attraverso una sperimentazione di vasta portata i cui risultati possono essere di grande aiuto scientifico se non altro per aver contribuito a creare materiale di studio di notevole interesse.

Gli alberi forestali, per le loro dimensioni, sono i *driver* dell'estetica e della funzionalità delle foreste, raccogliendo in sé un forte effetto domino, capaci di realizzare “profili viventi” di oltre cento metri in altezza controllando e conservando un tasso elevatissimo di biodiversità epigea e ipogea. La speciazione delle specie attuali risale a milioni di anni fa (Terziario), ma è durante il Pleistocene (ultima glaciazione) che si è “stabilizzata” la loro attuale ricchezza genetica. Dispongono di sistemi riproduttivi di tipo assortativo molto raffinati tesi ad assicurare una discendenza spesso derivante da esoincrocio e da un grande potere dispersivo (polline e semi) con massimi elevatissimi anche se discontinui nel tempo. Costituiscono spesso ampie popolazioni (in Europa l'areale di distribuzione naturale del pino silvestre, *Pinus sylvestris* L., spazia dalla Turchia alla Penisola di Kola e oltre la catena degli Urali) caratterizzate da elevata variabilità inter e intrapopolazione. Le dimensioni genomiche sono elevate anche se possono variare enormemente. La ricerca in questo settore, anche se iniziata solo recentemente, procede con intensità con particolare riguardo agli aspetti relativi

* Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agrari, Alimentari e Forestali (GESAAF), Università di Firenze

** Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agroalimentari e dell'Ambiente (DISPAA), Università di Firenze

alla ridondanza dei contenuti genomici codificanti e non codificanti e sull'origine della complessità. Anche per questi motivi gli alberi forestali, possono essere considerati specie modello da utilizzare per la comprensione della separazione tra forze selettive di tipo evuzionistico da quelle di tipo probabilistico nella selezione naturale. Sono organismi longevi, con stadi di sviluppo ben differenziati (oltre 4000 anni per il *Pinus aristata* Engelm.) e quindi caratteristici per la loro immobilità. Questa permanenza obbligata non può essere casuale. È probabile che si sia instaurata attraverso un percorso evolutivo che assegnava ai singoli componenti un ruolo funzionale preciso, e che portava all'affermazione dei genotipi più adatti ai vari cambiamenti creando una strutturazione genetica intraspecifica differenziata per effetto dell'azione congiunta dei fattori evolutivi. Tra l'altro le singole specie hanno un basso livello di domesticazione (piante agrarie >10.000 anni *vs* alberi forestali <100 anni). In vero a livello globale il rapporto uomo/foresta è stato fortemente conflittuale ed è iniziato oltre 10.000 anni fa! Le azioni perturbatrici hanno riguardato l'eliminazione e la sostituzione della foresta con altri tipi di uso del suolo in modo temporaneo (uso agricolo) o permanente (urbanizzazione), ovvero la loro frammentazione e/o marginalità. Anche l'applicazione di modelli selvicolturali tesi al rispetto e alla conservazione della funzionalità del bosco (*closed to nature silviculture*), non possono prescindere da un'azione di erosione genetica/fenotipica, per cui non si possono escludere azioni perturbatrici sulle dinamiche evolutive con effetti negativi dovuti alla deriva genetica.

In riferimento a queste ultime considerazioni e ai crescenti allarmi sulle possibili conseguenze degli effetti del cambiamento globale sugli organismi viventi, ha ripreso vigore lo studio della plasticità fenotipica.

I sistemi naturali sono stati profondamente trasformati dalle attività umane fin dal XIX secolo, ma negli ultimi decenni, questi cambiamenti si stanno verificando a un ritmo senza precedenti. Per cambiamento globale si intende ogni cambiamento antropogenico ambientale che altera l'atmosfera, gli oceani e i sistemi terrestri, comprese quelle modifiche che, anche se si verificano a livello locale, hanno effetti globali o sono così diffuse da essere considerate globali. In tal senso le componenti del cambiamento globale, i *drivers*, possono essere raggruppati in cinque categorie: i) cambiamenti climatici, ii) cambiamenti di uso del suolo, iii) sovrasfruttamento, iv) inquinamento, v) introduzione di specie aliene invasive.

Come le specie vegetali rispondono a questi nuovi e complessi scenari ambientali e quali meccanismi saranno coinvolti nel processo?

Le variazioni climatiche stanno alterando gli ambienti in cui tutti gli organismi si sviluppano e vivono. Le specie vegetali, in genere, e gli alberi forestali,

in particolare, sono e sono stati in grado (variazioni climatiche passate del Pleistocene) di adattarsi a nuove condizioni attraverso la plasticità fenotipica, l'adattamento per selezione naturale o la migrazione per seguire le condizioni alle quali sono più adattati (queste opzioni non si escludono a vicenda).

La plasticità fenotipica è uno dei meccanismi proposti per quelle specie che possono «persistere» facendo fronte a queste rapide variazioni ambientali. I singoli organismi possono modificare lo sviluppo, la fisiologia, la crescita a seconda delle condizioni ambientali. In tal senso la plasticità fenotipica si può intendere come la capacità di un dato genotipo di esprimere fenotipi diversi in differenti ambienti. Fino al secolo scorso la risposta fenotipica ambientale è stata considerata come «rumore ambientale» che oscurava le «vere» caratteristiche genetiche dell'organismo.

Nel 1971 sulla rivista «Taxon», Olof Langlet, professore emerito del Dipartimento di *Forest Genetics* di Stoccolma, pubblica un lavoro dal titolo *Two Undred Years Genecology* in cui vengono illustrate le vie miliari della genecologia, disciplina che si sviluppa a partire dalla metà del XVIII secolo con le prime esperienze condotte dall'ispettore-generale della Marina Francese, ma anche botanico, agronomo e fondatore della botanica forestale, H.L. Duhamel du Monceau (1745-1755), sul comportamento di differenti provenienze di pino silvestre, specie di interesse per i cantieri navali. Il termine genecologia, coniato da Turesson (1923), è la sintesi di *Gene* dal greco *genos*=razza ed *ecology*. La genecologia (Turesson, 1923) si riferisce allo studio dei caratteri adattativi che operano nell'interazione tra l'organismo e il suo ambiente a livello individuale e di popolazione, ovvero tutti quei processi a livello di popolazione che sono alla base della micro-evoluzione. In altri termini è l'interazione tra genotipo e ambiente a livello di popolazione, definita da Bennett (1964) come la comprensione e il controllo dell'interazione tra la variabilità genetica adattativa e le forze della selezione naturale («*the genotype-environment interaction at the population level. This is the province of genecology*»; Bennett, 1965).

Da un punto di vista applicativo la genecologia si concretizza nella selezione razziale e si realizza attraverso le “prove di provenienze” che vengono sviluppate con l'obiettivo di individuare le migliori razze per caratteri adattativi e fenotipici di pregio, di alto valore selvicolturale (gestione produttivistica, rimboschimento, introduzione di specie). Pioniere delle ricerche sperimentali sulle provenienze degli alberi forestali è Pierre Philippe André de Vilmorin (1862), che nel 1820 realizza, presso l'arboreto a Les Barres in Francia, prove comparative di pino silvestre quasi copiando quanto aveva intrapreso anni prima Duhamel du Monceau. Lo sviluppo mondiale delle prove di prove-

nienze ha riguardato quasi tutte le principali specie di alberi forestali. Gli intensi scambi di conoscenze e l'interesse strategico riconosciuto alla selezione razziale hanno consentito la realizzazione di programmi internazionali specifici sotto l'egida della IUFRO (*International Union of Forest Research Organizations*) che seguono procedure codificate.

Solo recentemente la plasticità è stata riconosciuta come «diversità fenotipica», come capacità di un dato genotipo di esprimere fenotipi diversi in diversi ambienti. Questa nuova consapevolezza ha portato a una ridefinizione del genotipo come un repertorio di «potenziali» fenotipi di risposta alle contingenze ambientali o «norma di reazione», piuttosto che un progetto per un unico risultato «fisso». Il fenotipo è il risultato di complessi sistemi di sviluppo sinergici, influenzati da più geni che interagiscono e dei loro prodotti genici, nonché da ambienti interni ed esterni dell'organismo.

La plasticità fenotipica di tratti funzionali è sotto controllo genetico, e quindi è soggetta a meccanismi evolutivi, quali la selezione naturale o la deriva.

Anthony D. Bradshaw (2006), *invited speaker* al *14th New Phytologist Symposium*, inizialmente si dichiara quasi indispettito dell'accettata affermazione del controllo genetico della plasticità fenotipica in quanto capace di creare confusione su «*what a genotype 'really' was – in other world how show its characteristics could be defined*». Successivamente riconosce che l'abilità del genotipo a cambiare il fenotipo indica, in contrapposizione, la stabilità genotipica, ovvero la capacità intrinseca di un genotipo di manifestare, in condizioni ambientali differenziate, debolezza nei confronti di perdita di *fitness*, ma anche potenza dei meccanismi che la esaltano.

Si può dimostrare che una pianta che vive in un ambiente non adatto e che quindi fenotipicamente si presenta in condizioni che potrebbero essere ritenute precarie per la sua sopravvivenza, in effetti si manifesta in quella figura fenotipica che è quella adatta alla sopravvivenza come risultato dell'interazione genotipo/ambiente. Pensiero questo già espresso nel passato e riportato da un'ampia letteratura. Di interesse è scoprire i processi molecolari a livello metabolico e biochimico, che presiedono il *range* del limite di separazione tra acclimatazione (plasticità fenotipica) e adattamento (evoluzione).

Una delle caratteristiche più importanti del cambiamento globale antropogenico è che sta portando a una nuova serie di scenari ambientali che le piante possono non aver sperimentato prima, creando nuovi e forti pressioni selettive. Se le nuove condizioni ambientali sono diverse dalle condizioni originali, alcuni caratteri funzionali di plasticità potranno essere utili e quindi selezionati a favore della sopravvivenza. Tuttavia, perché l'evoluzione della plasticità fenotipica via

selezione naturale possa verificarsi, diverse condizioni devono essere soddisfatte: (i) la presenza di eterogeneità ambientale; (ii) la variabilità genetica entro popolazione per la plasticità dei caratteri funzionali, cioè, diversi genotipi rispondono in modo diverso alla stessa serie di ambienti; (iii) perché la plasticità sia adattativa, e quindi selezionata, deve avere un impatto sulla fitness della pianta.

È generalmente accettato che alti livelli di variabilità genetica all'interno delle popolazioni naturali possono migliorare il potenziale di «resistere» e adattarsi a nuovi cambiamenti ambientali biotici e abiotici, tra cui la tolleranza del cambiamento climatico. Una parte di questa variabilità genetica determina la capacità delle piante di percepire i cambiamenti nell'ambiente e produrre una risposta plastica. Ad esempio, la variabilità genetica nei geni che codificano per i sensori di temperatura e fattori di trascrizione che regolano vernalizzazione possono aiutare le popolazioni ad adattarsi ai cambiamenti di temperatura. La plasticità, quindi, è in grado sia di fornire un cuscinetto verso cambiamenti climatici rapidi e assistere il rapido adattamento. La capacità di un organismo di esprimere plasticità in un determinato tratto deve essere mediata a livello molecolare.

Sino a ora sono stati ampiamente descritti gli impatti a cui le diverse piante sono sottoposte dovuti ai cambiamenti nella concentrazione atmosferica di CO₂, temperatura dell'aria e dell'acqua, delle precipitazioni, e anche la quantità di radiazione solare che raggiunge la superficie terrestre, modificati a causa delle attività umane.

È importante sottolineare che la maggior parte delle specie vegetali affrontano contemporaneamente molteplici *drivers* di cambiamento globale. Nel complesso, il cambiamento climatico ha dimostrato di influenzare la fenologia, l'abbondanza e la distribuzione delle specie vegetali, e la composizione delle comunità vegetali. Altri aspetti del cambiamento globale che hanno ricevuto grande considerazione sono il cambiamento di uso del suolo e lo sfruttamento eccessivo, che alterano la complessità di reazioni e interazioni degli ecosistemi.

Studi in ambiente controllato su genotipi di faggio (Paffetti et al., 2011) allevati con alti livelli di CO₂ o su genotipi di pioppo (Mara et al., 2010) sotto alti livelli di UVB, hanno evidenziato profili diversi di geni differenzialmente espressi, ma lo stesso si è potuto mettere in evidenza in individui con lo stesso genotipo. Quest'ultimo fenomeno sembra (studi più approfonditi sono ancora in corso) legato a un'espressione di copie diverse (famiglie multigeniche) dello stesso gene chiave di risposta alla variazione ambientale.

Più in generale la plasticità è la capacità di un individuo o di una popolazione ad adattarsi ai cambiamenti ambientali. Essa ingloba una plasticità

fisiologica (*physiological plasticity*) che coinvolge la capacità adattativa che si estrinseca attraverso modifiche fisiologiche interne e una capacità genetica di adattamento (*genetic plasticity*) che è promossa da cambiamenti nelle frequenze genetiche (Wright, 1962; Wright, 1969). In effetti anche i processi e le funzioni fisiologiche sono controllati da una componente genetica per cui si intuisce come i geni, o complessi di geni, siano il motore che promuove la plasticità.

I cambiamenti fenotipici rappresentano l'espressione visiva, che è quantificabile, dei caratteri che sono soggetti a cambiamenti quale conseguenza dell'adattamento.

La genetica quantitativa prende in esame queste modifiche dei caratteri, che vengono stimate attraverso i valori di ereditabilità che indica quanto quel carattere, che si manifesta diverso, sia sotto controllo genetico.

A livello di popolazione le caratteristiche della distribuzione delle frequenze genetiche (*genetic profile*) possono risultare di importanza come indicatori dei più rilevanti processi di natura adattativa ed evolutivistica.

In situazioni di drastici cambiamenti ambientali che possono determinare diffuse estinzioni di specie, queste conoscenze appaiono necessarie in quanto indispensabili per preservare la capacità adattativa delle popolazioni che rappresentano lo scrigno della variabilità genetica degli organismi viventi.

Così anche le conoscenze sulla filogenetica, che potrebbero apparire, in una valutazione non sufficientemente ponderata, di secondaria importanza nei confronti della plasticità, svolgono un ruolo robusto per la definizione delle strategie che riguardano le modalità di campionamento (*sampling strategy*) delle popolazioni ai fini della salvaguardia delle risorse genetiche.

Riprendendo quanto riportato in precedenza sul ruolo delle prove di provenienze, appare evidente l'utilità del contributo scientifico che hanno recato e che possono recare nel futuro. Una forte motivazione che favorì la diffusione di questi studi i cui risultati rappresentavano anche la garanzia scientifica di correttezza nella scelta e introduzione di nuove specie al di fuori del loro areale naturale di distribuzione, risiedeva nel desiderio di conoscere la distribuzione della variazione spaziale ed ecologica della variabilità genetica e di descrivere e comprendere le caratteristiche adattive di popolazioni e specie. D'altra parte si deve considerare anche un aspetto pratico legato alle peculiarità degli alberi forestali: quale tipo di ambiente controllato si sarebbe dovuto progettare e realizzare per avere la conferma sperimentale di possibili adattamenti a differenti ambienti (plasticità – adattamento – geni coinvolti e loro regolazione ed espressione) in esperimenti per alberi? La strada scelta per ottenere le risposte richieste fu quella di spostare le popolazioni (o copie ve-

getative) in tanti differenti ambienti, individuati in base ad analisi congiunte sulle esigenze autoecologiche delle singole specie e sulle caratteristiche stazionali (valutazione di parallelismo ambientale), e studiarne il comportamento. In quel momento l'interesse era rivolto principalmente a una valutazione dei caratteri di alto valore economico – sopravvivenza/mortalità, accrescimento, resistenza a stress biotici e abiotici, presenza di caratteri fenotipici di pregio (dirittezza e forma del fusto, dimensione dei rami, ecc.), ma anche alla ricerca di quelle popolazioni ad alta specializzazione per specifici ambienti e quelle caratterizzate da una costante superiorità (razze nobili).

Oggi le nuove tecnologie consentirebbero di affrontare studi sui processi funzionali e sui geni che li controllano.

Tutto questo ci porta a sottolineare ancora una volta il ruolo e quindi anche il valore, che riveste la diversità genetica nei confronti della sopravvivenza delle specie. Il concetto sopra indicato che identifica a livello genetico la popolazione come lo scrigno della diversità, ci pone in primo piano il fatto che i componenti interfecondi della popolazione danno origine a discendenze diverse e manifeste nel polimorfismo che sarà distintivo per alcuni fenotipi ovvero con variazioni continue in relazione alla tipologia dei geni di riferimento, e che questo susseguirsi nel tempo di nuovi *pool* genici sotto l'azione congiunta dei fattori evolutivi, realizza la strutturazione genetica intraspecifica (numero dei loci polimorfici, numero degli alleli, relazioni di dominanza, architettura genetica, distribuzione spaziale delle varianti genetiche).

Comprendere i meccanismi capaci di mantenere i polimorfismi richiesti per la conservazione della plasticità all'adattamento anche ai cambiamenti imprevedibili, non noti, ma che potrebbero accadere, è una sfida che dovrebbe essere vinta in tempi brevi. Restano presenti alcuni colli di bottiglia che acquistano particolare peso nel caso degli alberi forestali. Come già indicato gli alberi sono organismi viventi immobili e quindi non possono rifugiarsi in ambienti a loro favorevoli al sopraggiungere di cambiamenti. I rifugi dai quali sono ripartite le colonizzazioni dopo le glaciazioni non sono stati "cercati", ma sono diventati tali perché in quelle aree i cambiamenti sono stati di intensità ridotta e comunque compatibili a soddisfare le esigenze autoecologiche della(e) specie presente(i). La possibilità di sopravvivenza è dipendente della capacità specie specifica di conquista di nuovi territori da parte del *gene flow* imputabile ai semi. Il processo è lentissimo e variabile tra specie pioniere e definitive, ma è anche ostacolato dal fatto che la maturità sessuale è spesso tardiva e che la produzione di seme ottimale, accade a intervalli di tempo anche molto lunghi (40-50 anni).

Le popolazioni naturali hanno subito e subiscono erosione e frammentazione ovvero risultano isolate e ridotte nelle dimensioni: tali situazioni fa-

voriscono le probabilità di estinzione per ragioni demografiche in quanto vengono a essere maggiormente esposte all'effetto dei fattori deleteri alla sopravvivenza e in particolare alla deriva genetica (*genetic drift*) e all'inincrocio che congiunti al basso numero effettivo (individui produttori) formano una triologia strettamente interconnessa.

In condizioni di equilibrio genetico una popolazione diploide ampia manterrà a ogni nuova generazione una altrettanto alta variabilità che garantisce resistenza e resilienza ecologica e una capacità di adattamento in sintonia con gli effetti della selezione naturale. Nell'altro caso le frequenze alleliche individuali possono divergere e, anche in presenza di fluttuazione degli effetti della deriva genetica, la probabilità che vengano fissati in frequenza maggiore crescente accoppiamenti omozigotici è esaltata con conseguente perdita di variabilità ovvero di plasticità fenotipica, genetica ed evolutiva.

In situazioni di ridotte dimensioni e di isolamento genetico la deriva genetica agisce con effetto domino determinando livelli più bassi di *fitness* individuale e un aumento dei coefficienti di inincrocio. Nel primo caso si esercita una perdita diretta di alleli in un ristretto numero di loci, nel secondo la fissazione di alleli deleteri che aumentano il rischio di estinzione.

La plasticità fenotipica è di per sé un carattere e quindi è soggetta a evoluzione naturale o altri fattori evolutivi. Ne consegue che in presenza di variazione genetica per la plasticità dei caratteri funzionali la risposta a fattori ambientali favorevole determinerà una *fitness* vantaggiosa e la plasticità fenotipica può evolvere per selezione naturale. Se la plasticità di questi caratteri migliora la sopravvivenza e la riproduzione (aumento di *fitness*), questa plasticità è considerata adattativa. In questo caso la plasticità fenotipica rappresenta una delle principali risposte positive dei popolamenti forestali ai cambiamenti globali.

RIASSUNTO

Gli alberi forestali presentano caratteristiche estrinseche e intrinseche tali da poter essere considerati "specie modello" per gli studi sulla plasticità fenotipica.

L'acquisizione di nuove conoscenze sulla plasticità fenotipica appare oggi di estremo interesse per l'interpretazione e lo sviluppo di modelli di risposta al *global change* da parte degli organismi viventi.

Difatti la plasticità fenotipica, cioè la capacità da parte di un genotipo di esprimere fenotipi diversi in diverse condizioni ambientali, rappresenta uno dei meccanismi genetico-funzionali che consentono alle specie di persistere facendo fronte alle variazioni ambientali.

Lo studio delle variazioni intraspecifiche degli alberi forestali si è concretizzato nello sviluppo della genecologia che consiste nello studio dell'interazione genotipo-ambiente a

livello di popolazione attraverso “prove di provenienze”, e ha come obiettivo la comprensione dei meccanismi di interazione della variabilità genetica adattativa e le forze della selezione naturale.

ABSTRACT

Forest trees have intrinsic and extrinsic characteristics such that they can be considered as “model species” for studies of phenotypic plasticity.

Nowadays, acquiring new knowledge on phenotypic plasticity appears extremely important in order to interpret and develop patterns of response of living organisms to global change.

In fact, the phenotypic plasticity, that is the ability of one single genotype to express different phenotypes under different environmental conditions, constitutes one of the genetic-functional mechanisms which allows the species to persist responding to environmental variations.

The study of intraspecific variation of forest trees led up to the development of geneecology; it represents the study of genotype-environment interactions at the population level by “tests of provenance”, and which aims to understand the mechanisms of interaction of adaptive genetic variability and of natural selection forces.

BIBLIOGRAFIA

- BENNET E. (1964): *Historical perspective in geneecology*, Scottish Plant Breeding Station Record.
- BENNETT E. (1965): *Geneecological aspect of plant introduction and genetic conservation*, Scottish Plant Breeding Station Record.
- BRADSHAW A.D. (2006): *Unravelling phenotypic plasticity – why should we bother?*, «New Phytologist», 170, pp. 644-648.
- LANGLET O. (1971): «Taxon», 20, pp. 653-722.
- MARA K., PAFFETTI D., SPANU I., EMILIANI G., RADDI S., VETTORI C. (2010): *Different gene expression pattern of Populus alba L. genotypes under elevated UV-B radiation*, «Journal of Biotechnology», 150S: S508-S508. ISSN:0168-1656, doi: 10.1016/j.jbio-tec.2010.09.799.
- PAFFETTI D., MAREN O., FLADUNG M., ERNST D., MARKUSSEN T., FORSTREUTER M., DONNARUMMA F., KUČEROVÁ V., VESTE M., VETTORI C. (2011): *Effects of high levels of CO₂ on gene expression in two different genotypes of Fagus sylvatica*, «BMC Proceedings», 5 (Suppl. 7), P171. doi:10.1186/1753-6561-5-S7-P171
- VILMORIN DE P. PH. A. (1862): *Exposé historique et descriptif de l'Ecole forestier des Barres près Nogent-sur-Vernisson (Loiret)*, Mèm. Soc. Imp. Centr. D'Agric., France (Extrait, Paris, 1874).
- WRIGHT J.W. (1962): *Genetics of Forest Tree Improvement*, FAO Forestry and Forest Product, No 18, Roma, 399 pp.
- WRIGHT S. (1969): *Evolution and the genetics of population*, Vol. 2, University of Chicago Press, Chicago USA.