

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 Bioscienza 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 allegagione 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 pletora 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 development 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'Olio, 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'Olio (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.