

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.

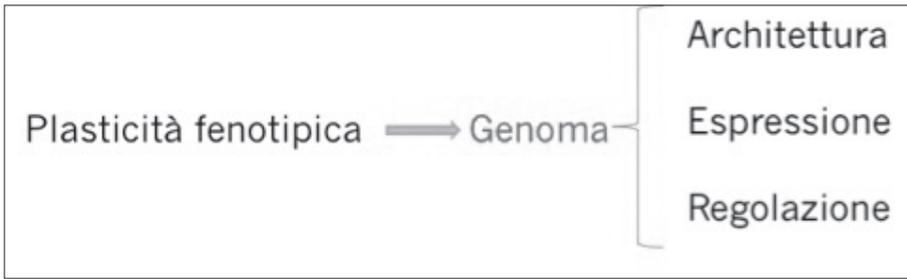


Fig. 1 *Livelli di modificabilità di un genoma*



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.