

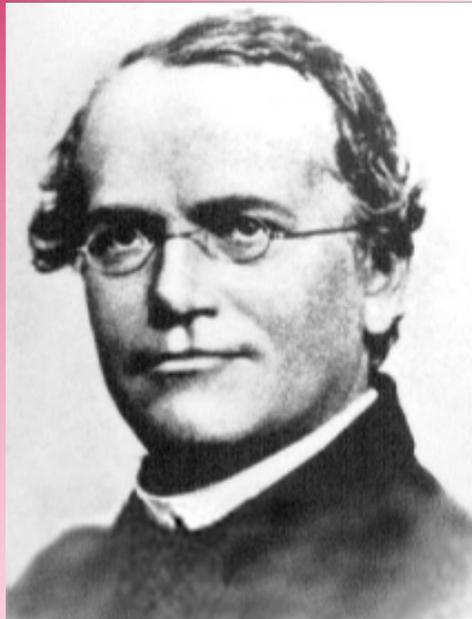
3 giugno 2009

# **Corso di genomica**

Una panoramica sulla  
genetica vegetale

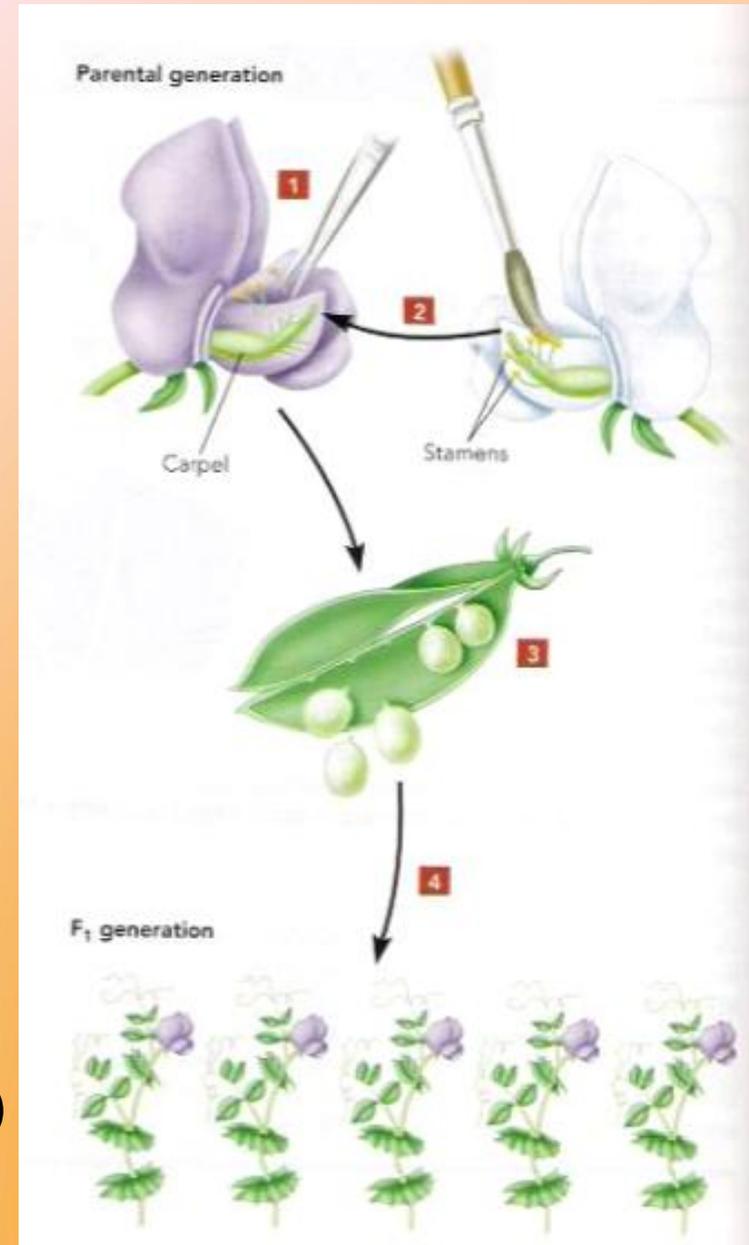
- Genoma vegetale sottoposto a intensa selezione
- Caratteristiche principali del genoma vegetale
- Mutazioni genomiche

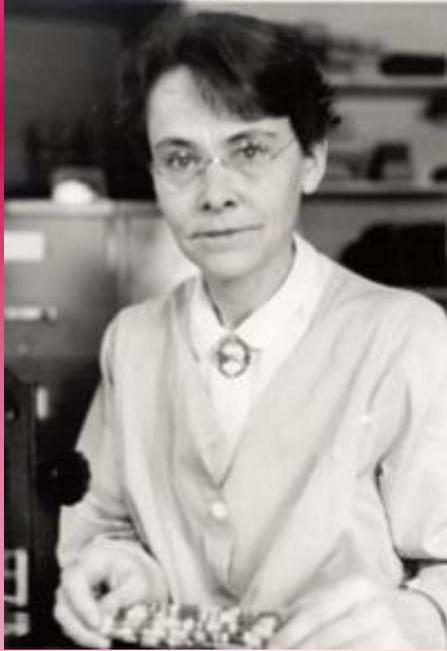
# Agli inizi della genetica..



7 anni di esperimenti  
28.000 piante di piselli  
2 anni per elaborare i dati

Leggi dell'ereditarietà di Mendel (1869)





Studio dei cromosomi di mais

Scoperta dei trasposoni (1951)

Doppia elica Watson Crick (1953)

# Il rapporto dell'uomo con le piante è iniziato moltissimo tempo fa...

coltivazione delle piante:

- Per scopi alimentari
- Per ottenere fibre tessili (FAO: 2009 anno delle fibre naturali)
- Per alimentazione animale
- Per produzione di sostanze particolari non a scopo alimentare  
(pigmenti, medicinali...)

# La mezzaluna fertile: addomesticazione del frumento



# Confronto tra specie antiche e moderne

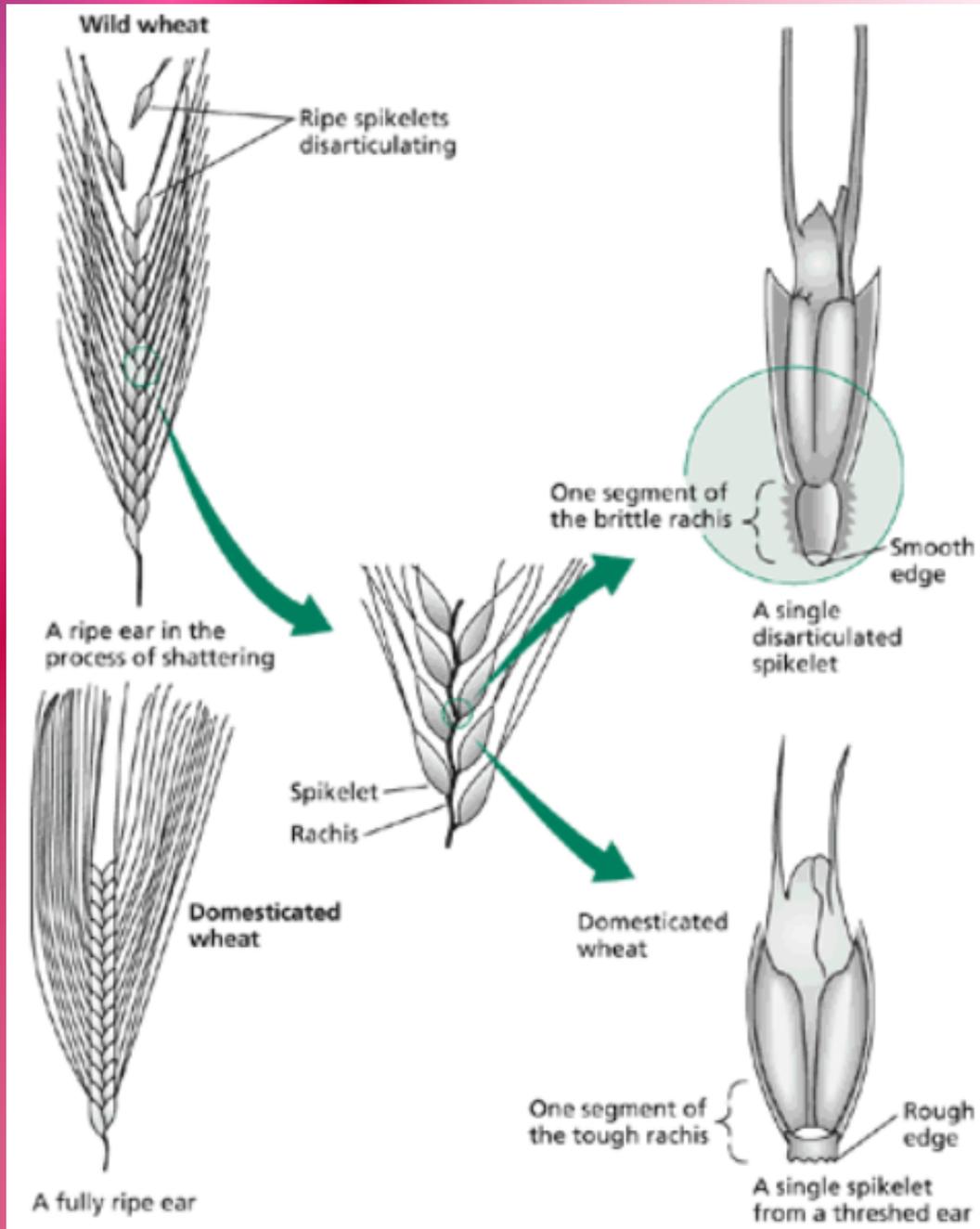
Pomodoro selvatico  
(*Lycopersicon pimpinellifolium* )  
D = 1 cm



# Caratteri importanti nel processo di domesticazione:

- 1 disseminazione
- 2 dormienza dei semi
- 3 habitus di crescita e indice di raccolto
- 4 dimensione e variabilità dei prodotti raccolti (semi e frutti)
- 5 resistenza a malattie, insetti e sostanze tossiche

# 1 disseminazione



Rachide  
nelle  
Graminacee

# Bacello delle Leguminose



Perdita dei meccanismi responsabili della disseminazione per far sì che i semi a maturazione potessero rimanere attaccati alle piante

# 2 dormienza dei semi



perdita dei meccanismi fisiologici responsabili della dormienza nei semi

germinazione rapida in determinate condizioni di umidità e temperatura del terreno

# 3 habitus di crescita e indice di raccolto

La sopravvivenza delle piante selvatiche dipende dalla loro capacità competitiva nei confronti di altre piante della stessa specie (o di specie diverse) per acqua, luce ed elementi nutritivi



Forme selvatiche sono quasi sempre ramificate, cespugliose, con grande sviluppo vegetativo rispetto alle piante coltivate (crescita compatta, poco ramificate, bassa taglia)

# Indice di raccolto (harvest index)

$$\text{HI} = \frac{\text{Peso secco del prodotto raccolto (semi)}}{\text{Peso secco della biomassa totale prodotta}}$$

HI delle specie selvatiche: 0,2-0,3

HI delle specie coltivate: 0,4-0,5



*Lycopersicon esculentum*  
var. *cerasiforme*

*Lycopersicum*  
*esculentum*



# 4 dimensione e variabilità dei prodotti raccolti

Produzione di

Frutti (pomodoro, melanzana,  
zucca, pesco, melo, agrumi)

Semi (cereali e leguminose)

Foglie (lattuga e spinacio)

Fittoni (barbabietola da zucchero)

Tuberi (patata)



# 5 resistenza a malattie, insetti e sostanze tossiche

Durante l'evoluzione le piante hanno sviluppato meccanismi di resistenza contro le malattie e per mimetizzarsi o non rendersi appetibili dagli insetti

- Tomentosità epidermica
- Sostanze tossiche nelle foglie:
  - acido cianidrico in Manioca e fagiolo di Lima
  - glucosinolati in alcune forme di cavolo
- Colori molto scuri nei semi

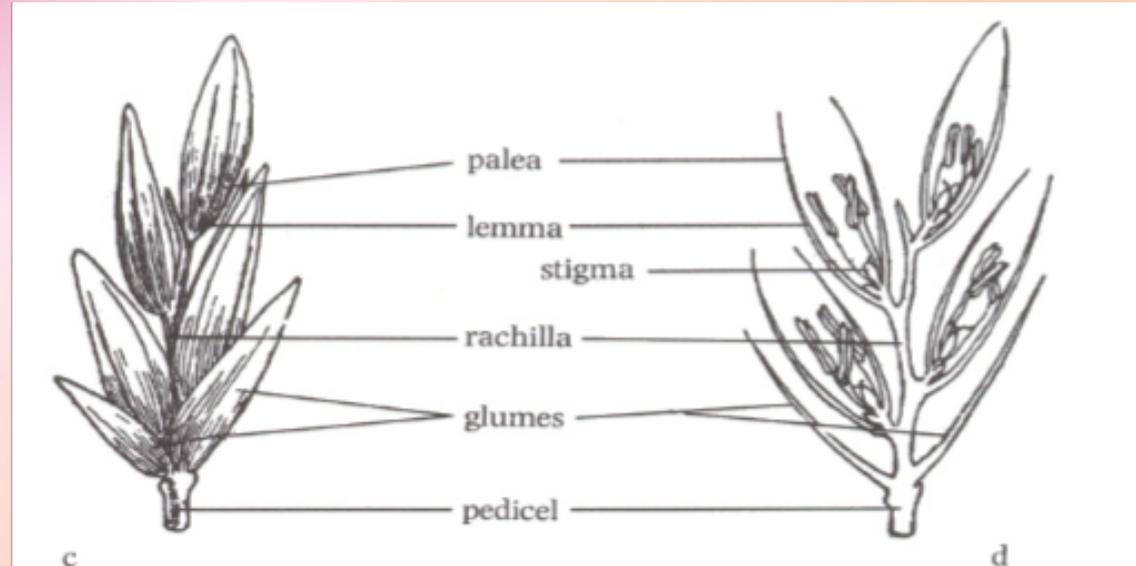
# Quanti e quali geni sono stati selezionati durante la domesticazione per avere maggiore produttività e maggior adattamento alle condizioni ambientali?

Controllo genetico semplice: pochi geni sono in grado di spiegare le profonde differenze fenotipiche che si osservano tra specie selvatiche e coltivate

1 Orzo: rachide fragile

2 Frumento: bassa taglia

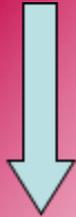
# Rachide fragile



Il carattere rachide fragile (brittel rachis) è regolato da 2 loci strettamente associati cioè Bt1 e Bt2. In presenza dell'allele dominante (Bt1, Bt2) per entrambi i locus si osserva il carattere rachide fragile che favorisce la dispersione della specie. Gli orzi coltivati sono omozigoti recessivi (bt1, bt2) per uno o per entrambi i loci.

# Bassa taglia

fertilizzazione



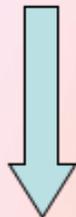
aumento della biomassa totale



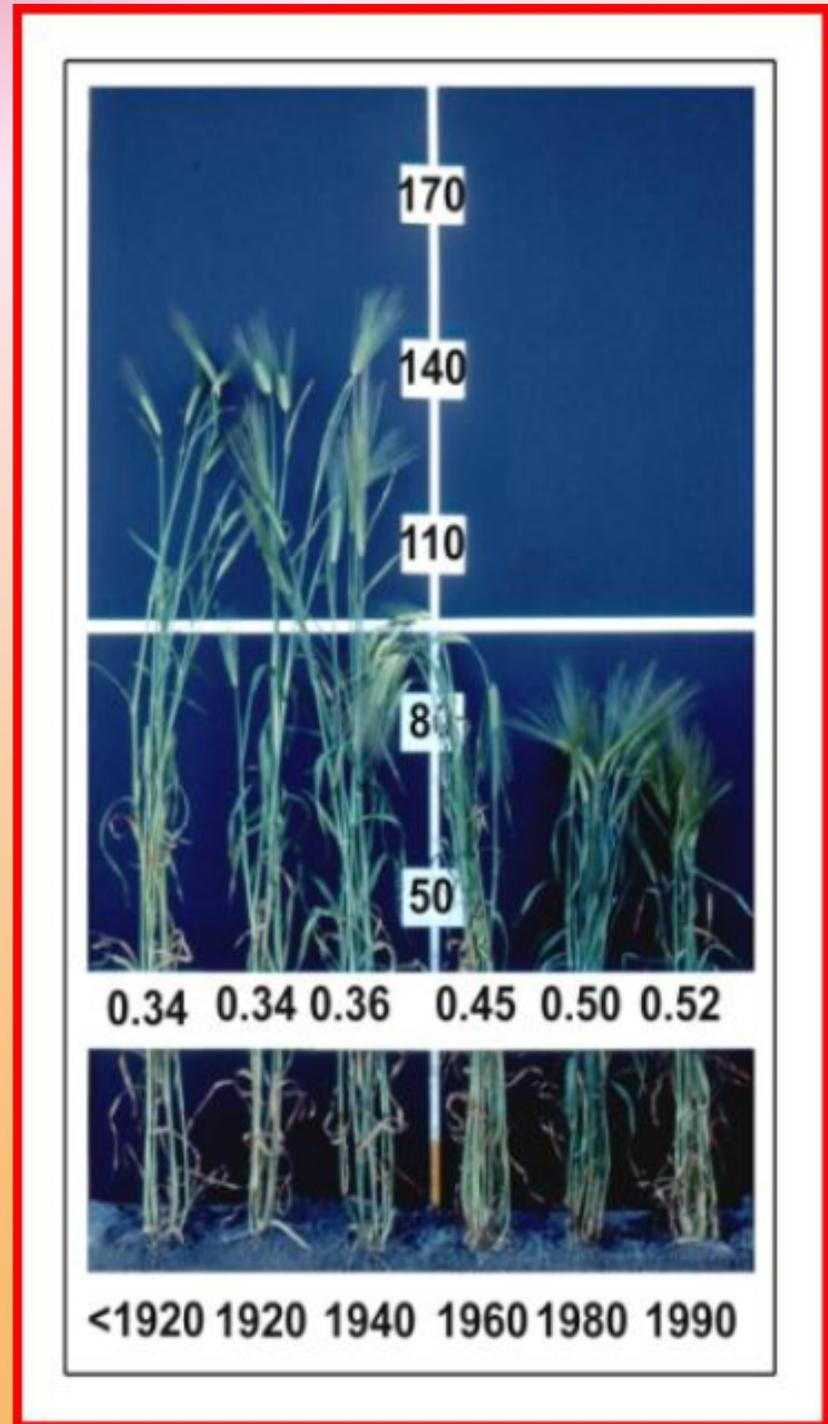
miglior resa produttiva



l'incremento altezza della pianta



Allettamento e difficoltà nella raccolta meccanica



# Strampelli incrocia tra di loro frumenti bassi giapponesi con frumenti italiani più produttivi

Cv Akakomugi X Cv Rieti



Ottenne una varietà alta la metà dell'italiano e produttiva il doppio del giapponese.

Con il lavoro di Strampelli il rendimento passa dai 6-8 quintali per ettaro ai 65 quintali/ettaro.

Fino agli anni 50 tutti i frumenti europei coltivati avevano come base di partenza le varietà depositate da Strampelli.

Il grano Norin 10 è una varietà semi-nana a spighe molto grosse proveniente dalla stazione sperimentale di Norin in Giappone.

Nella varietà Norin 10 erano presenti 2 geni, *Rht1* e *Rht2* che riducono la sensibilità della pianta all'acido gibberellico, sostenitore della crescita soprattutto in presenza di fertilizzanti.

Norman Borlaug e dai suoi collaboratori eseguirono incroci con tradizionali varietà messicane presso il CYMMIT (International Maize and Wheat Improvement Center).

Da questi incroci nasceranno delle varietà ad altissima produzione (Lerma Rojo 64 e Sonora 64)

A Norman Borlaug venne assegnato il premio Nobel per la pace nel 1970 per aver contribuito alla pace nel mondo attraverso la riduzione della fame e del bisogno alimentare.

Almeno uno dei geni

*Rht8* *Rht9* derivanti da Akakomugi

o

*Rht1* *Rht2* derivanti da Norin 10

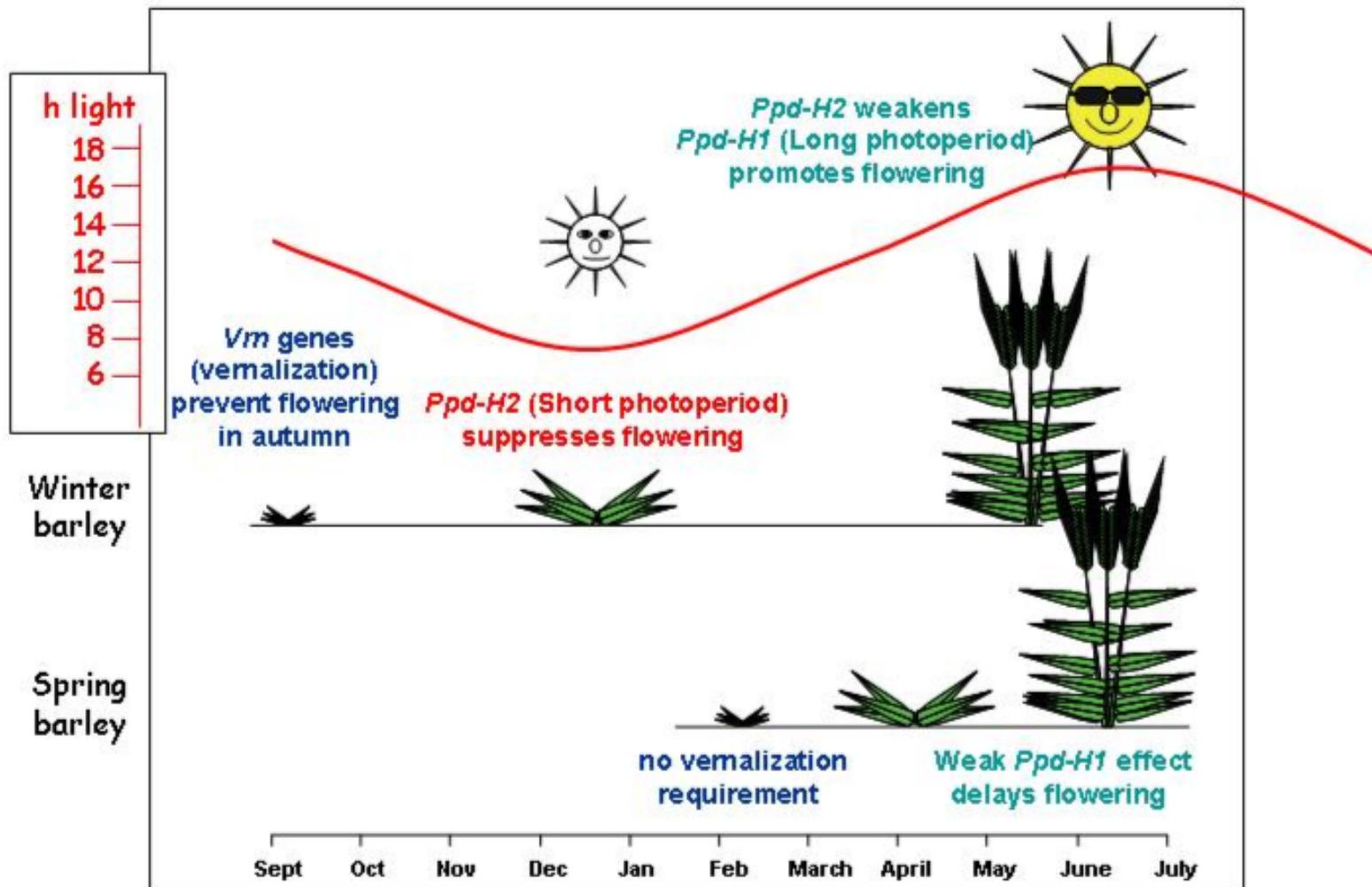
sono presenti nei frumenti moderni

In termini genetici Stampelli ha introdotto:

- 1 i geni per la bassa taglia Rht
- 2 un gene di insensibilità al fotoperiodo (Ppd)

Vernalizzazione: una pianta ha bisogno di trascorrere un certo periodo a bassa temperatura per poter fiorire

A model for the control of flowering in barley by vernalization and photoperiod



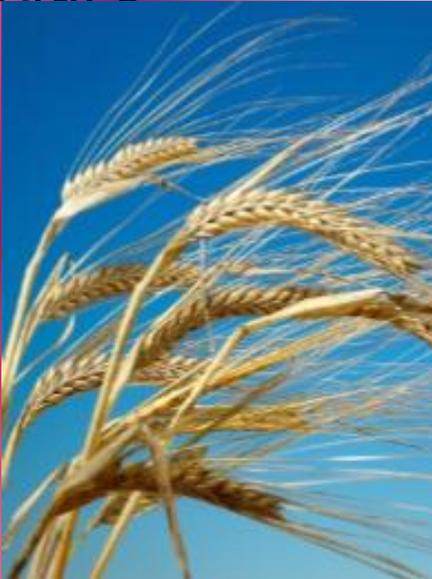
Il gene Ppd H1 rende la pianta insensibile al fotoperiodo e ciò determina una fioritura precoce rispetto alla pianta normale. Quindi Ppd H1 è un fattore di precocità quando la temperatura è ottimale

Questa panoramica ci insegna che  
la struttura e il genoma delle  
piante coltivate sono state  
sottoposte ad un intenso processo  
di selezione

Attualmente si sta cercando di caratterizzare ulteriormente alcune  
specie vegetali di interesse agronomico mediante studi fisiologici,  
genetici, biochimici e anche grazie ai progetti di sequenziamento.

# Quali piante modello?

Orzo *Hordeum  
vulgare*



*Arabidopsis thaliana*



Riso *Oryza sativa*

Pomodoro *Lycopersicon esculentum*



# Genoma in via di sequenziamento



● Arabidopsis

● Orzo

● Brassica

● Cottone

● Vite

● Lattuga

● Mais

● Erba Medica

● Avena

● Peperone

● Pino

● Pioppo

● Patata

● Canna da zucchero

● Riso

● Soya

● Sorgo

● Tabacco

● Pomodoro

● Frumento

## List of plants that have been or are nearly sequenced as of November 2008

Completed Large-Scale Sequencing Projects[15]

[Arabidopsis thaliana](#) (thale cress)

5 chromosomes: [1](#), [2](#), [3](#), [4](#), [5](#), [plastid](#), [mitochondrion](#)

[Medicago truncatula](#) (barrel medic)

8 chromosomes: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 [plastid](#), mitochondrion

[Oryza sativa](#) (rice)

2 chromosomes: [1](#), [2](#), [3](#), [4](#), [5](#), [6](#), [7](#), [8](#), [9](#), [10](#), [11](#), [12](#),  
[plastid](#) , [mitochondrion](#),  
[mitochondrial plasmid B1](#),  
[mitochondrial plasmid B2](#)

[Populus trichocarpa](#) (black cottonwood)

19 chromosomes: [I](#), [II](#), [III](#), [IV](#), [V](#), [VI](#), [VII](#), [VIII](#),  
[IX](#), [X](#), [XI](#), [XII](#), plastid, mitochondrion

In-progress Large-Scale Sequencing Projects - funded,  
genome sequence expected in GenBank

*Brachypodium distachyon*

5 chromosomes: 1, 2, 3, 4, 5, plastid, mitochondrion

*Glycine max* (soybean)

20 chromosomes: A1, A2, B1, B2, C1, C2, D1a, D1b, D2,  
E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O, plastid, mitochondrion

*Lotus japonicus* (lotus)

6 chromosomes: 1, 2, 3, 4, 5, 6, plastid, mitochondrion

*Manihot esculenta* (cassava)

20 chromosomes: A, B, C, D, E, F, G, H, I, J,  
K, L, M, N, O, P, Q, R, S, plastid, mitochondrion

*Solanum lycopersicum* (tomato)

12 chromosomes: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12,  
plastid, mitochondrion

*Solanum tuberosum* (potato)

12 chromosomes: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10,  
11, 12, plastid, mitochondrion

*Sorghum bicolor*

10 chromosomes: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, plastid, mitochondrion

*Zea mays* (corn)

10 chromosomes: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10,  
plastid, mitochondrion, mitochondrial 1.9 kb plasmid

# Difficoltà di studio dei genomi vegetali

1 genoma di grandi dimensioni

*Escherichia coli* 4.5 Mbp (milioni di paia di basi)

Lievito 13.5 Mbp

*C. elegans* 97 Mbp

*A.thaliana* 125 Mbp

Drosophila 180 Mbp

Riso 430 Mbp

Uomo 3200 Mbp

Orzo (diploide) 6000-7000 Mbp

Grano duro (tetraploide) 12000-13000 Mbp

Grano tenero esaploide 16000 Mbp

Liliaceae 50000-60000 Mbp

# Difficoltà di studio dei genomi vegetali

2 poliploidia diffusa (difficoltà dell'uso di sonde eterologhe)

3 sequenze non-senso molto abbondanti (non codificanti, ripetute)

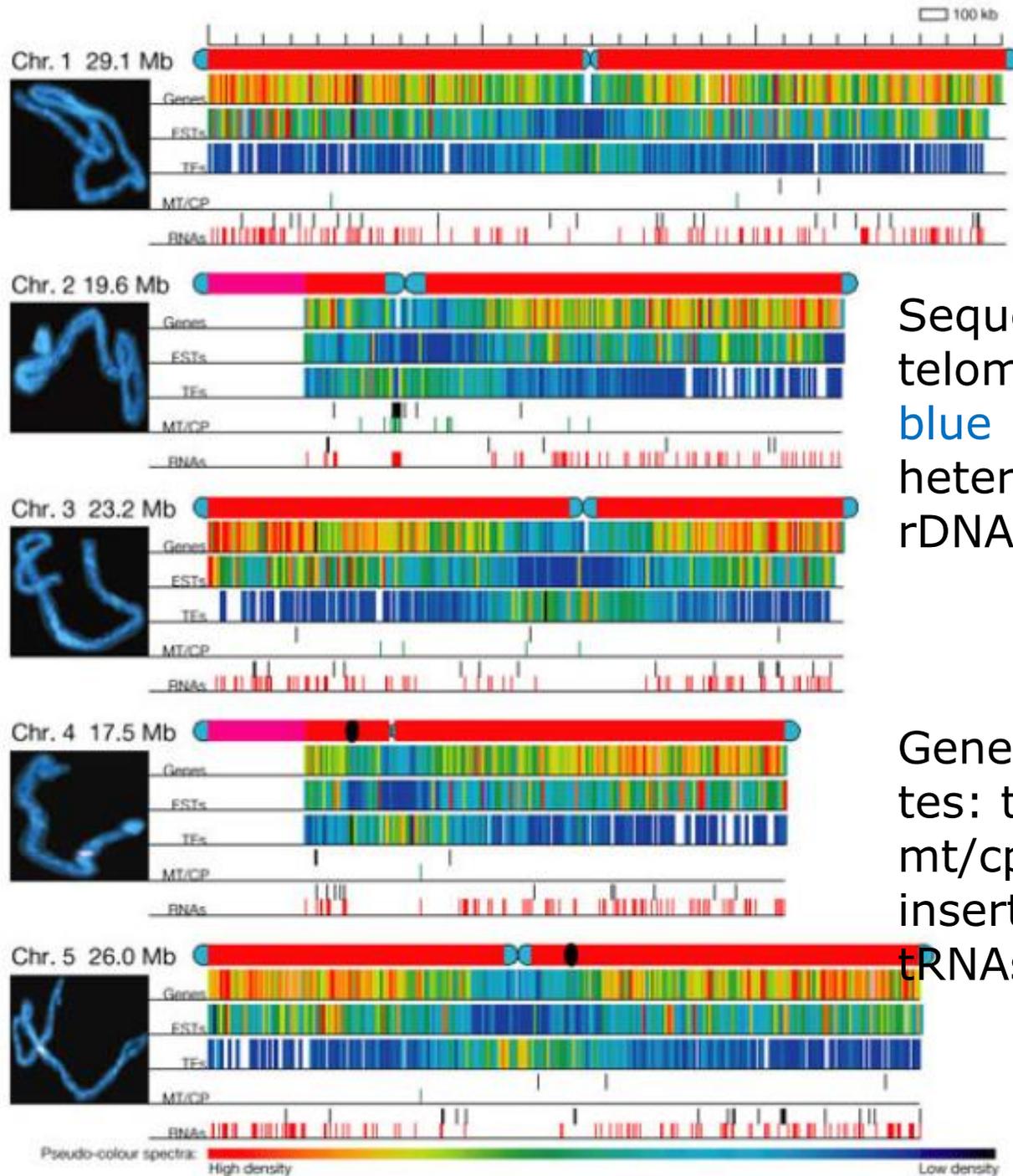
4 mappaggio dei cromosomi limitato

5 molte specie con cromosomi piccoli e numerosi

6 difficile localizzare geni sui cromosomi con tecniche *in situ*

7 per molte specie non si conosce precisamente il contenuto in DNA ed il numero di cromosomi.

# *Arabidopsis* genome



Sequenced **Red**  
telomeres and centromeres **light blue**

heterchromatic knobs **black**  
rDNA repeats **magenta**

Genes, ests,  
tes: transposable elements,  
mt/cp: mito or chloroplast  
insertions

tRNAs and snRNAs

# Caratteristiche principali del genoma vegetale

## 1 dimensione del genoma

- Le dimensioni dei genomi vegetali sono piuttosto elevate

Range: 125 Mbp genoma diploide di Arabidopsis ai 50000 Mbp delle liliaceae

Graminacee: frumento 16000 Mbp, orzo 5300 Mbp, mais 2500 Mbp, riso 425 Mbp

- Il numero di cromosomi è molto variabile così pure il livello di ploidia
- Tuttavia si ritiene che il numero di geni codificanti per una pianta sia attorno a 25000
- Paradosso del valore C (contenuto in DNA delle cellule eucariotiche apolidi):

non si nota una correlazione tra dimensioni del genoma e complessità dell'organismo

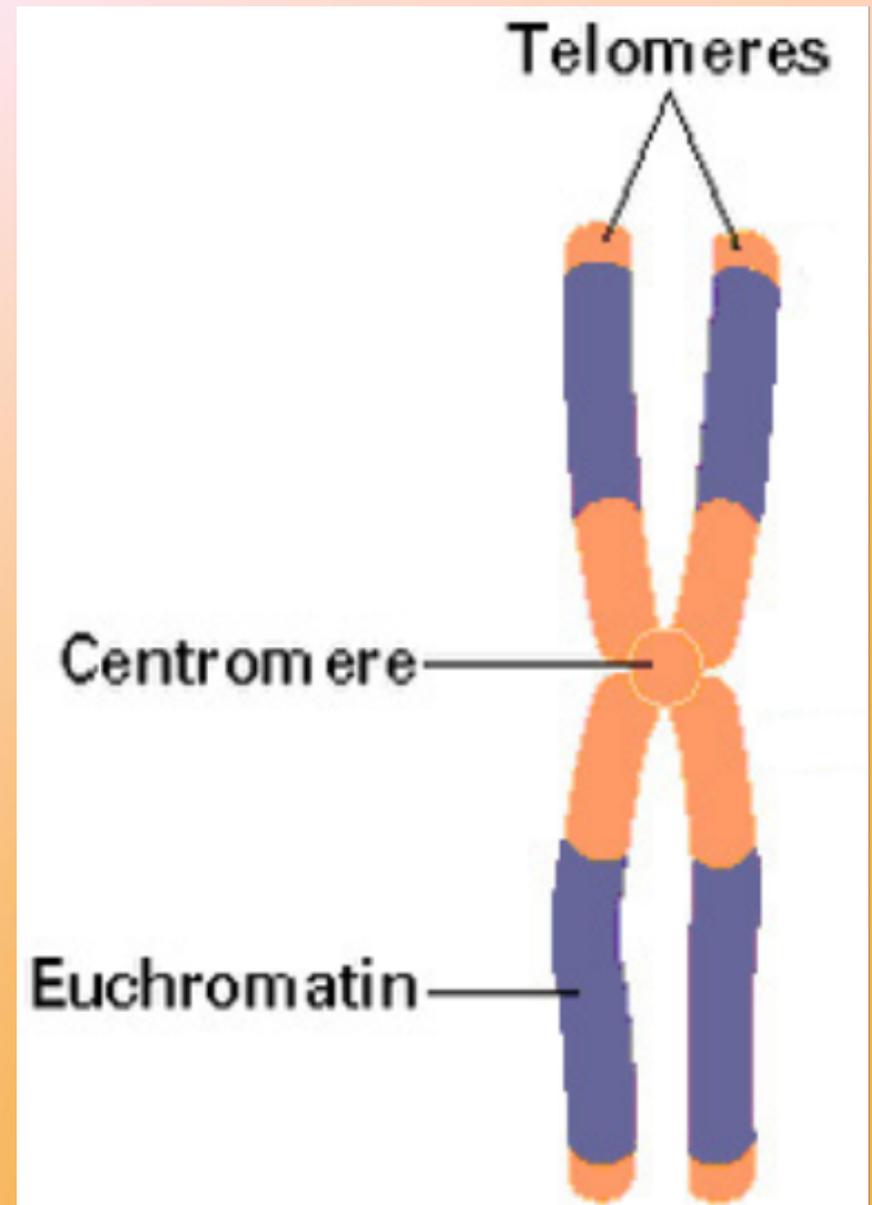
## 2 distribuzione dei geni lungo i cromosomi

Nel genoma di frumento si è osservato che la distribuzione dei geni lungo il cromosoma è non casuale ma essi risultano concentrati nelle regioni distali

I geni sono intervallati da lunghe regioni ripetute

Questa osservazione è valida per genomi di grandi dimensione

Se si considerano genomi vegetali più piccoli e "compatti" si ha che le unità ripetitive di 200 Kb e oltre, risultano assenti



## 3 sequenze disperse ripetute

La maggioranza del genoma dei cereali è costituito da sequenze disperse ripetute.

Gli elementi più abbondanti sono i retrotrasposoni.

Questi possono essere distinti in due gruppi:

- fiancheggiati da long terminal repeat (LTRs)
- privi di LTRs (elementi LINES)

I retrotrasposoni vengono riscontrati nelle regioni intergeniche.

I retrotrasposoni costituiscono almeno il 50% del genoma di mais.

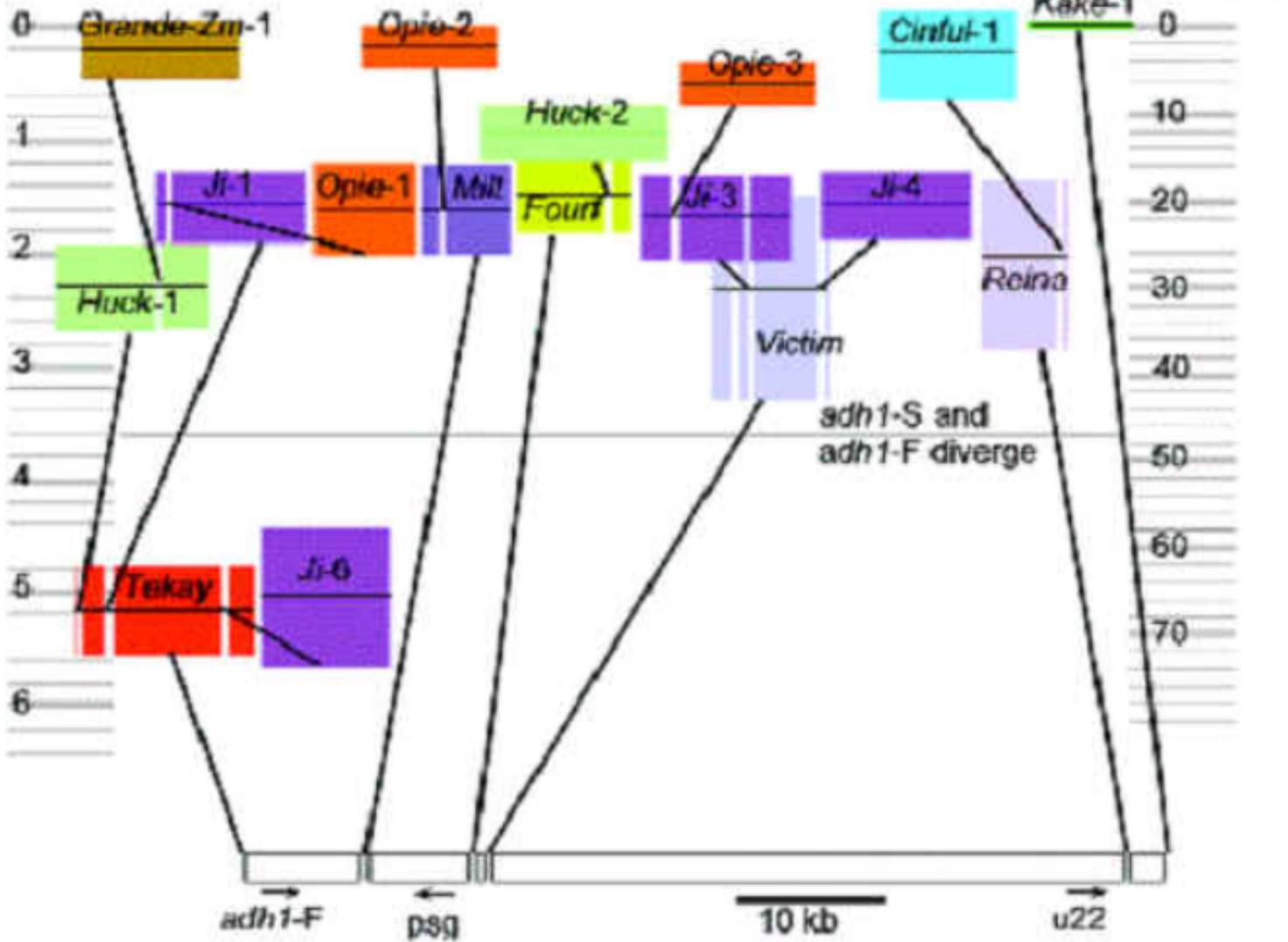
In seguito alla divergenza dal progenitore comune del mais e del sorgo si è notato

un aumento del genoma di mais di 2-5 volte: apparentemente questo incremento è imputabile all'azione dei retrotrasposoni.

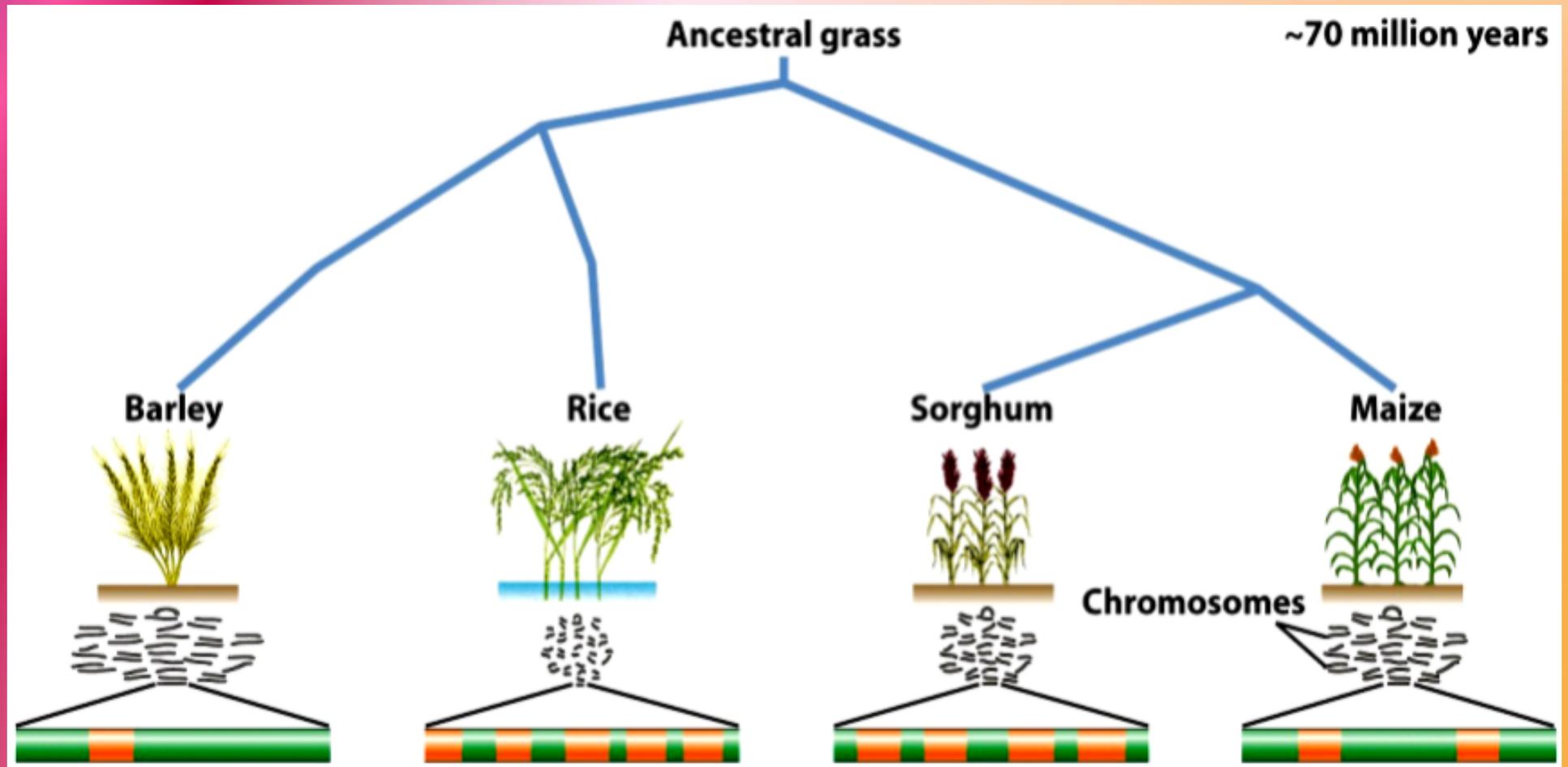
Il sequenziamento di Arabidopsis ha mostrato relativamente poche sequenze

intergeniche derivanti da retrotrasposoni

Millions of Years Ago



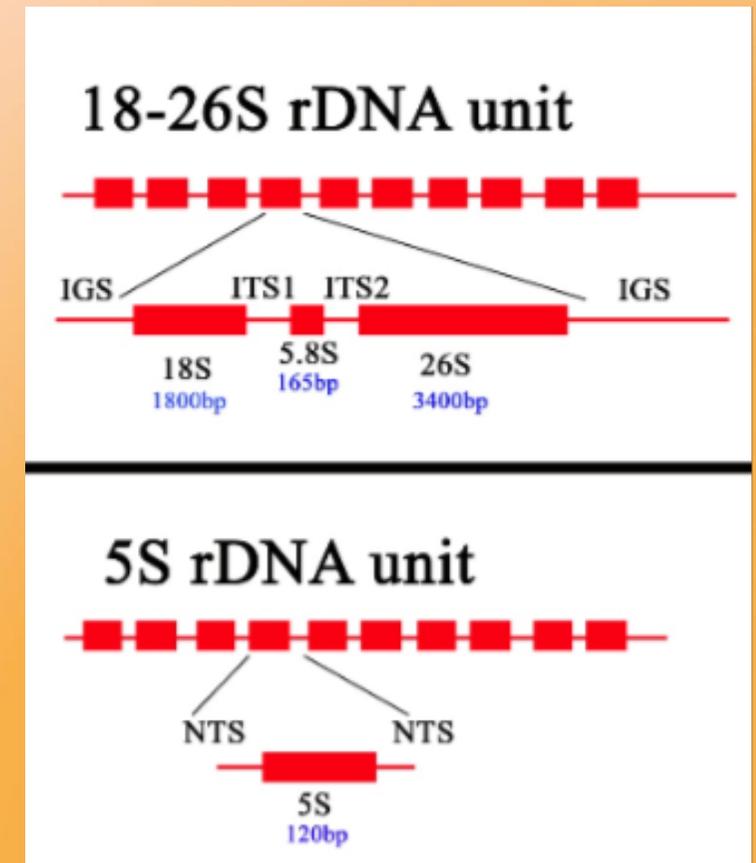
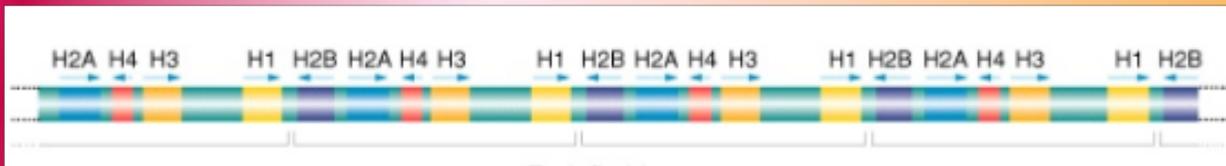
Plants with large genomes (maize) have many more retroelements (green) than plants with small genomes (rice).



## 4 sequenze ripetute in tandem

Nell'ambito di queste sequenze si possono individuare:

- telomeri, sequenza  $(TTAGGG)_n$  anziché  $(TTAGGG)$  di uomo e tripanosomi
- centromeri
- geni per rRNA
- geni codificanti per gli istoni



## 5 famiglie multigeniche

Organizzazione di geni in famiglie multigeniche

Esempi: proteine di riserva come le zeine, prolamine, leghemoglobine, metallotioneine  
fattori di trascrizione MADS-box

Eventi di formazione: duplicazioni, mutazioni, amplificazioni, crossino over ineguale

Le piante sono più tolleranti verso amplificazioni ed alti numeri di copie inoltre sono molto più tolleranti verso la ploidia

Espressione differenziale dei vari membri della famiglia genica

Regolazione della trascrizione o dello splicing

Famiglie spesso contengono pseudogeni

# 6

## sintenia

L'ordine dei geni risulta conservato su cromosomi omeologhi di specie affini.

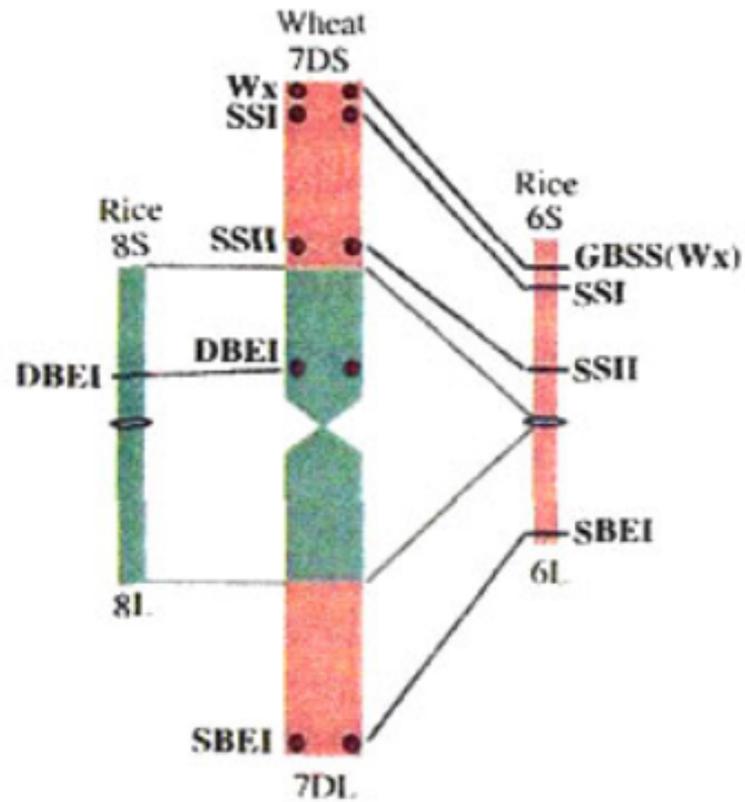
La conservazione riguarda sia sequenze anonime che sequenze codificanti (geni)

La distanza fisica tra gene e gene non è conservata nelle diverse specie

Le piante sono divise in monocotiledoni e dicotiledoni.

La specie modello per le monocotiledoni è il riso mentre per le dicotiledoni è Arabidopsis.

Grazie alla sintenia posso dire che se viene identificato un gene interessante sul genoma del riso è più semplice trovare quello stesso gene nel genoma di tutte



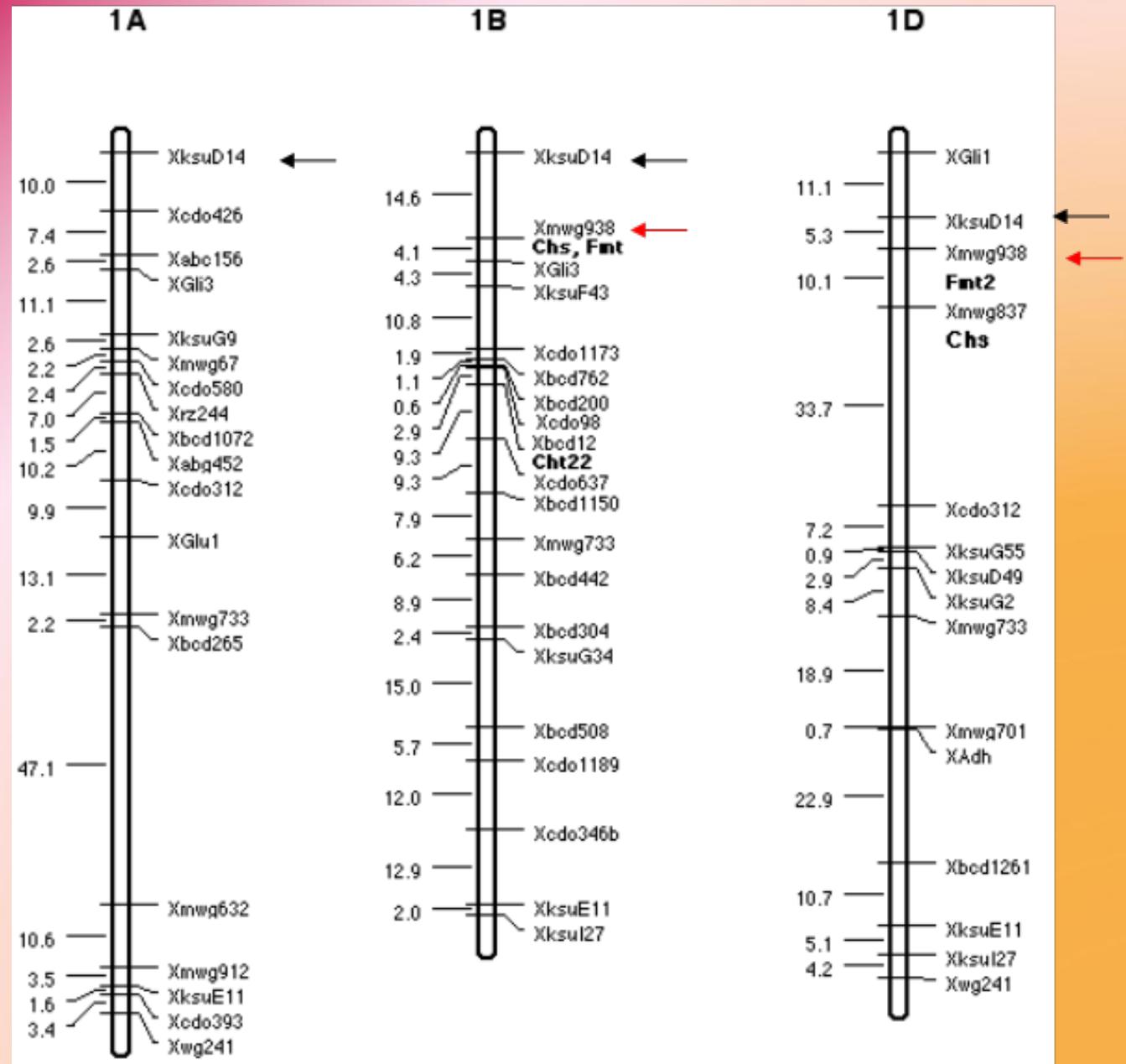
**Fig. 7.** FISH strategy used for genome organization comparison between wheat and rice.

While genome size varies dramatically among grass species, gene content and gene order are more highly conserved



Note the use of the same markers (RZ = rice marker, CDO = oat markers) across both species





Triticum  
aestivum

