

Centri di origine primari

Centri di origine secondari



Nuove caratteristiche ecologiche in cui originare nuova variabilità



Allontanandosi dal territorio di origine primario

Le aree di sviluppo dell'agricoltura:



1. Vicino Oriente



2. America Centrale



Le piante domestiche sarebbero state introdotte in più regioni del Vecchio e Nuovo Continente creando nuovi Centri di diffusione

Variabilità genetica



Selezione naturale



Popolazioni adattate a determinati ambienti



speciazione

Ritorno allo stato selvatico

Fonte di materiale utile per il miglioramento genetico

Domesticazione



Popolazione adattate alle condizioni di coltura



Varietà migliorata

Processo di evoluzione



Selezione naturale
domesticazione
selezione artificiale

Probabilmente l'agricoltura iniziata contemporaneamente in più parti del mondo

+ noti

Vicino Oriente
America Centrale

Fine 1800 → Miglioramento genetico



Non solo selezione di particolari genotipi ma incroci controllati

Dal XX secolo in Europa e Nord America →

Coltivazioni ottenute dal miglioramento genetico

Fino al 1940 →

Non c'è stato nessun effetto in quelle regioni che presentavano la più grande variabilità genetica

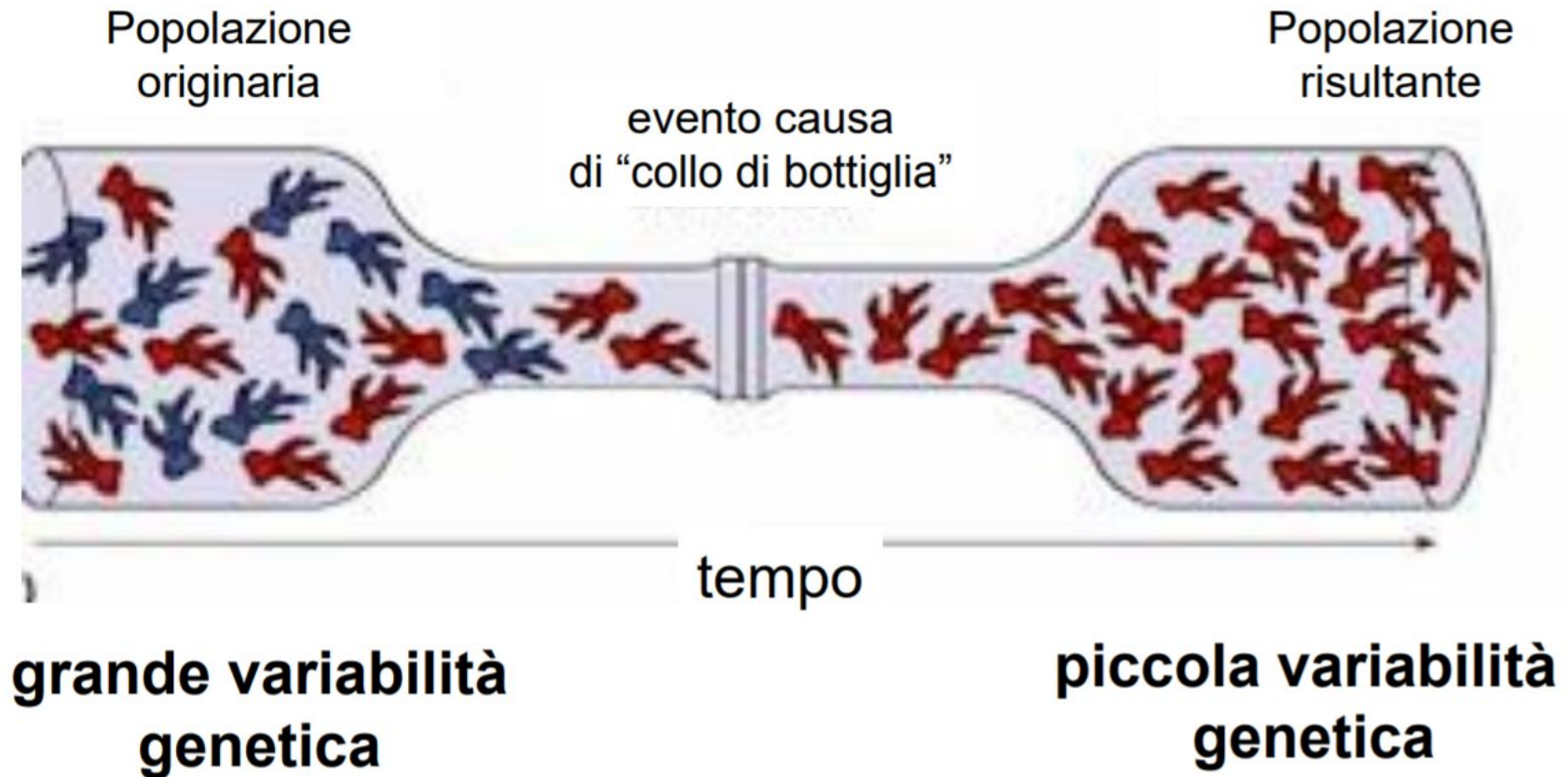
1950-60 →

Sviluppo agricolo in aree coltivate con varietà locali

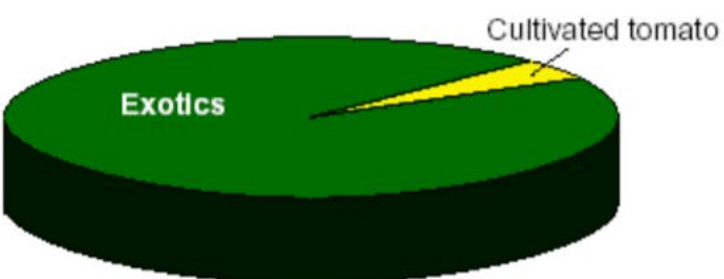
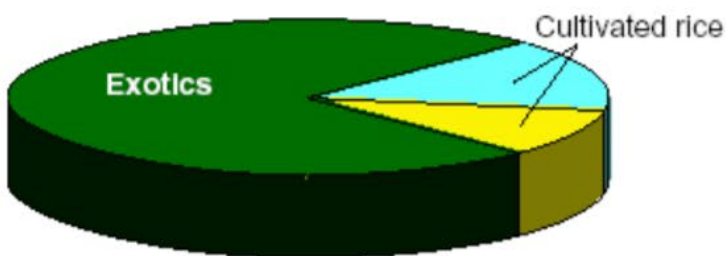
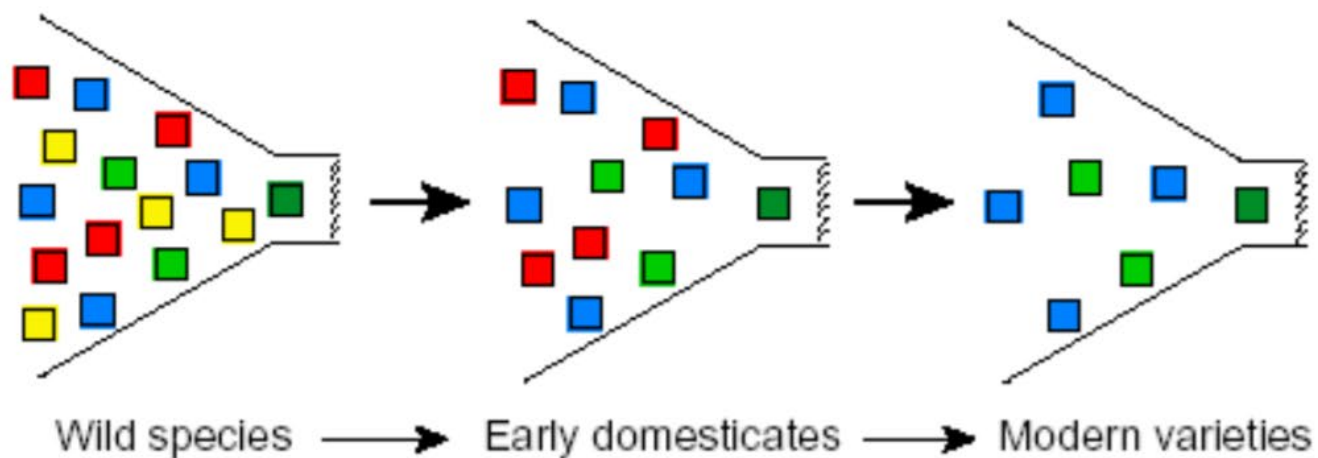
Vantaggi

- ▶ Varietà più produttive
- ▶ Enorme incremento di produzione di cibo

Cosa succede alla **variabilità genetica** durante la domesticazione e miglioramento



La base genetica delle piante coltivate è ridotta



Domestication syndrome

Nella grande diversità dei processi di domesticazioni (le specie coltivate hanno un livello diverso di domesticazione) vi sono delle caratteristiche comuni che il genere umano ha selezionato

Often only few genes are actively selected and account for large shifts in phenotype (usually recessive alleles are selected).

Tipicamente tali caratteristiche sono:

- frutta o grani più grandi, ma meno numerosi
- le piante sono più robuste
- aumento dominanza apicale / crescita più determinata
- perdita di dispersione dei semi naturali (** non-shattering)
- diminuzione di sostanze amare /tossiche nelle parti commestibili
- cambiamenti nella sensibilità fotoperiodo
- perdita di dormienza delle sementi

Es: Grossi cambiamenti nella morfologia del prodotto finale



Il granturco che Colombo trovò in America, era stato creato dai Nativi Americani circa **4.000 anni** fa per addomesticamento di una pianta selvatica nota come **teosinte**.

Nel corso del tempo queste popolazioni avevano **selezionato** varietà sempre più produttive e adatte all'agricoltura.

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

Gibberelline

composti terpenici prodotti dai funghi e dalle piante superiori con attività ormonale

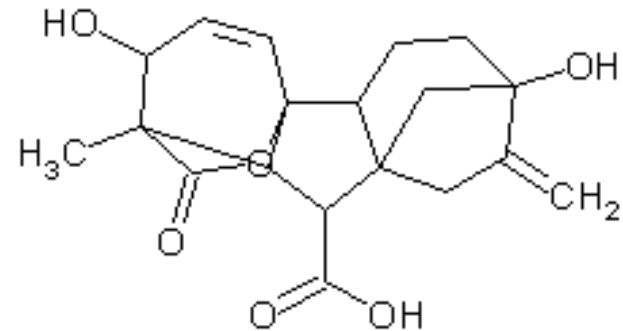
GIBBERELLINE

Insieme di composti definiti in base alla loro struttura chimica e non rispetto alla loro attività biologica

note 136 gibberelline poche biologicamente attive

Gibberella fujikuroi

- Fungo agente causale del “BAKANAE” = crescita incontrollata del germoglio di riso
- **gibberelline** prodotte dal fungo sono la causa dei sintomi



Gibberellic Acid

ATTUALMENTE SONO NOTE 136 GIBBERELLINE

(12 presenti solo in *G. fujikuroi*)

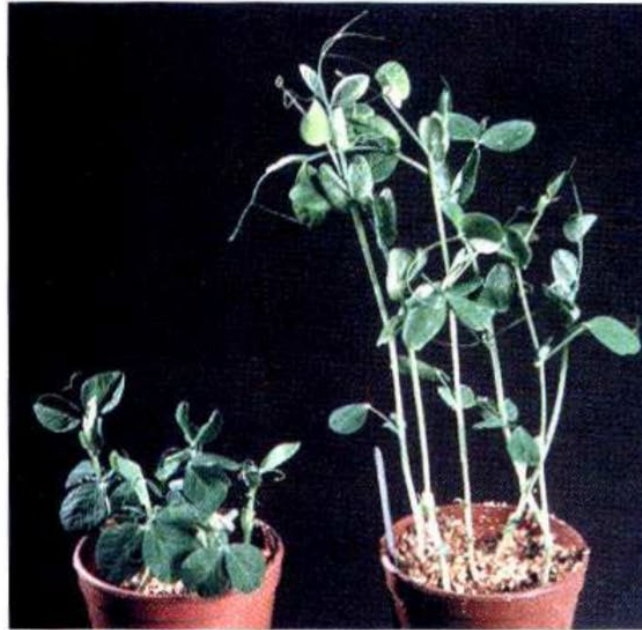
NOMENCLATURA: GA_x , a seconda dell'ordine cronologico della scoperta

- 1930 (Giappone) Isolamento da brodi di coltura del fungo di cristalli impuri di due composti attivi; uno fu chiamato GA A
- 1950 (USA, GB) Struttura acido gibberellico (GA3), isolato da brodi di coltura del fungo
- 1950 (Giappone) dalla GA A isolate e caratterizzate , GA1GA2, GA3
- 1958 Identificazione e purificazione nelle piante (GA1)

Effetti delle gibberelline

- Promuovono la germinazione dei semi
- Stimolano l'accrescimento del fusto in piante nane e a rosetta
- Stimolano la divisione e distensione cellulare (aumentano l'estensibilità della parete)
- Regolano la transizione della fase giovanile ad adulta
- Influiscono sulla formazione dei fiori
- Promuovono la fruttificazione

- stimolano la crescita del fusto in piante nane e a rosetta (GA_1 , GA_3 , Ga_4 , GA_7)

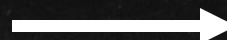


effetto di GA_3 sull'allungamento del fusto di piante nane di pisello

Rice leaf sheath bioassay for gibberellin



Increasing GA₃ concentration



➤ regolano la transizione dalla fase giovanile ad adulta

(A) Abete bianco



(C) Pianticella di sequoia gigante



L'applicazione di GA4+GA7 induce conifere giovanili ad entrare in fase riproduttiva producendo coni precocemente

➤Influiscono sulla formazione dei fiori e sulla determinazione del sesso

Nel mais le GA sopprimono la formazione degli stami portando alla formazione di **fiori femminili (pistillati)**

Nelle dicotiledoni (spinacio) hanno effetto opposto

Piante monoiche (mais) fiori unisessuali sullo stesso individuo: si formano per aborto selettivo di primordi di stami o di pistilli (fiori femminili o maschili)

**Pennacchio: fiore maschile, stame
Spiga: fiore femminile, pistillo**

Nel mais le GA sopprimono la formazione delle antere

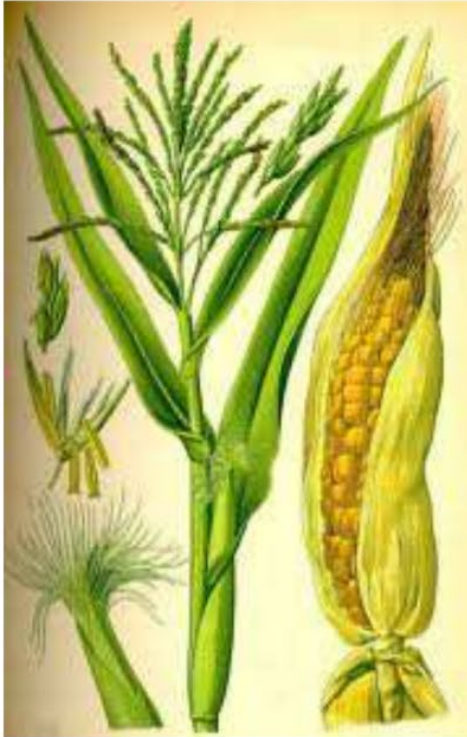


FIGURE 20.3 Anthers develop in the ears of a gibberellin-deficient dwarf mutant of corn (*Zea mays*). (Bottom) Unfertilized ear of the dwarf mutant *an1*, showing conspicuous anthers. (Top) Ear from a plant that has been treated with gibberellin. (Courtesy of M. G. Neuffer.)

➤ Promuovono la fruttificazione e la partenocarpia



L'applicazione di GA promuove la fruttificazione cioè l'accrescimento del frutto in seguito all'impollinazione (pero)

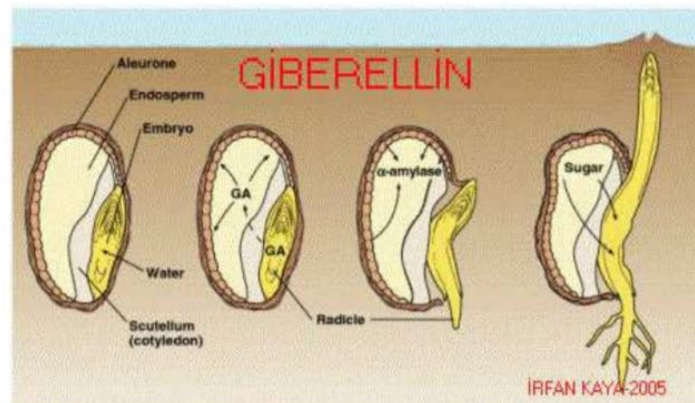
La fruttificazione indotta da GA può avvenire anche in assenza di impollinazione portando alla formazione di fusti senza semi (uva)

➤ **Promuovono la germinazione dei semi
(interruzione della dormienza)**

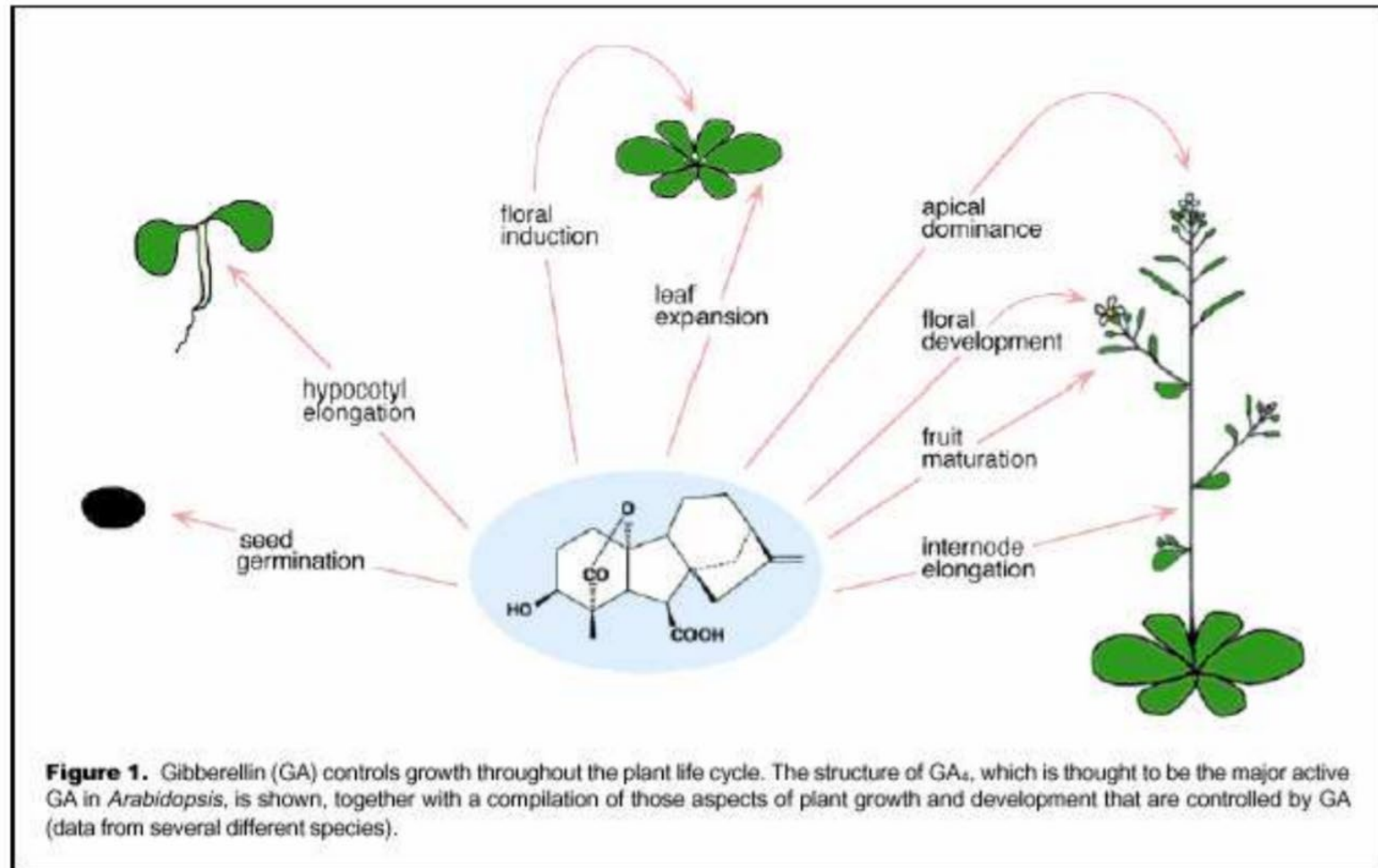
mutanti carenti di GA hanno semi abortiti

In semi che richiedono luce o vernalizzazione per germinare, le GA possono indurre la germinazione in assenza di stimolo ambientale

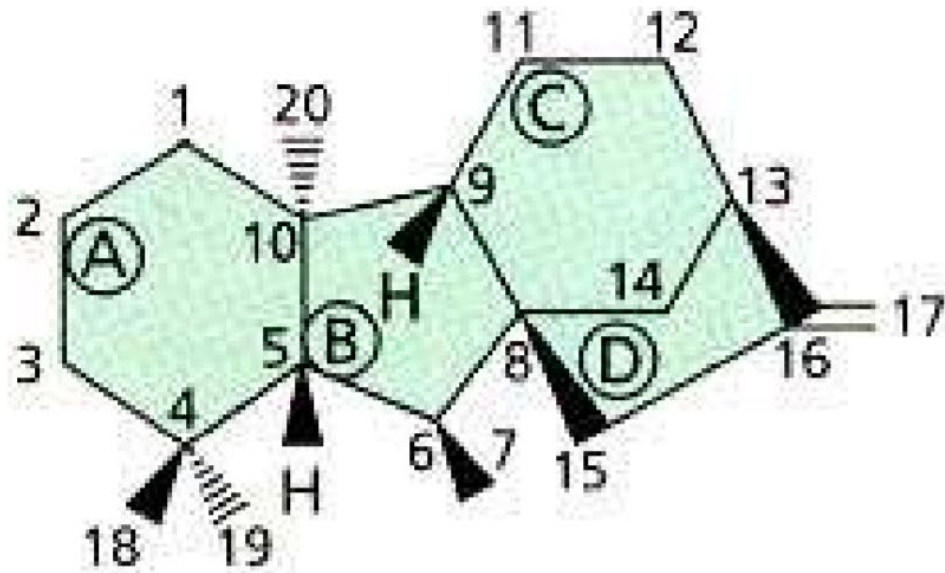
Nei cereali le GA inducono la produzione di α -amilasi per la degradazione dell'amido dell'endosperma



Le GA controllano la crescita durante l'intero ciclo vitale della pianta

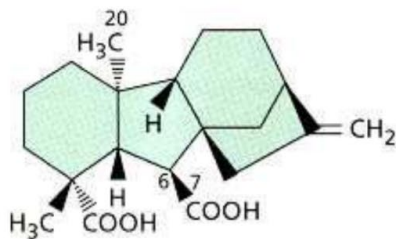


STRUTTURA BASE DELLE GIBBERELLINE

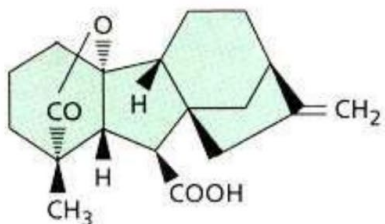


scheletro *ent*-gibberellanico

Le gibberelline contengono 19 o 20 atomi di carbonio

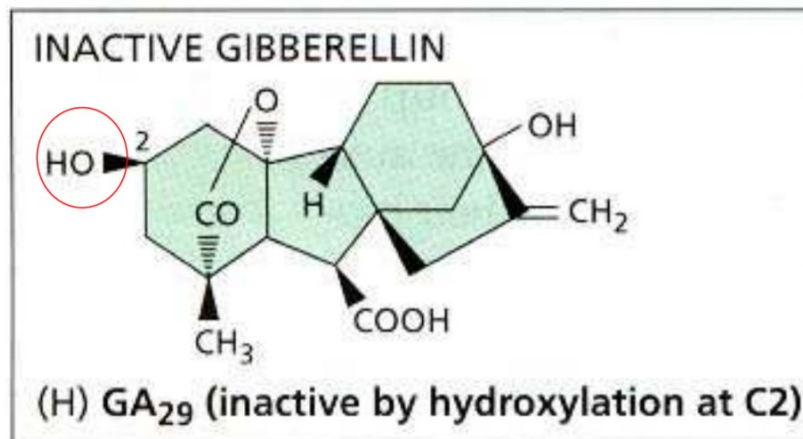


GA₁₂
(C₂₀)



GA₉
(C₁₉)

l'idrossilazione in 2 β abolisce l'attività biologica



Le gibberelline come tutti i terpeni vengono sintetizzate a partire dall'isopentenil pirofosfato (IPP)

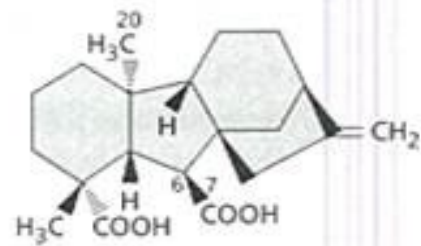
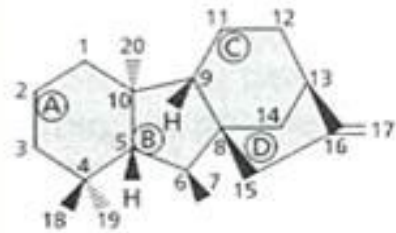
Esistono due vie per la formazione dell'IPP:

- attraverso l'acido mevalonico (citosol)
- attraverso la gliceraldeide 3-fosfato e il piruvato (plastidi)

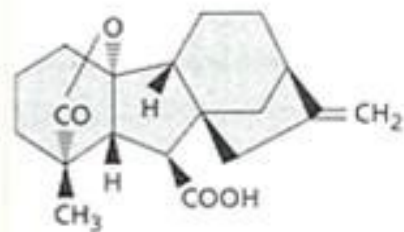
La via biosintetica delle GA dall'IPP può essere divisa in 3 stadi:

- 1) **PLASTIDI**: 4 IPP formano il precursore lineare a 20 C geranylgeranyl PP (GGPP) poi ciclizzato ad ent-kaurene
- 2) **ER**: ent-kaurene convertito nella prima gibberellina: la GA₁₂ aldeide
- 3) **CITOSOL**: GA₁₂ aldeide convertita in altre GA a 20 atomi e poi GA a 19 atomi fino alle GA bioattive (idrossilazioni)

STRUTTURE DI GIBBERELLINE RAPPRESENTATIVE

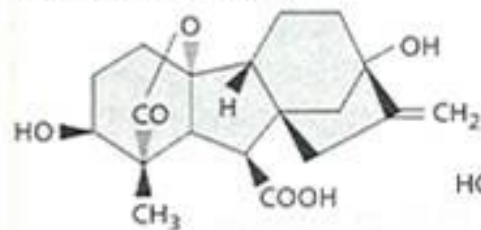


(A) Struttura *ent*-gibberellanica (B) GA₁₂ (una C₂₀-gibberellina)

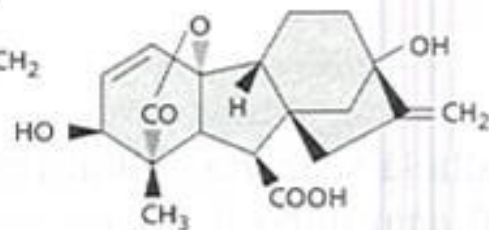


(C) GA₉ (una C₁₉-gibberellina) (D) *ent*-Kaurene

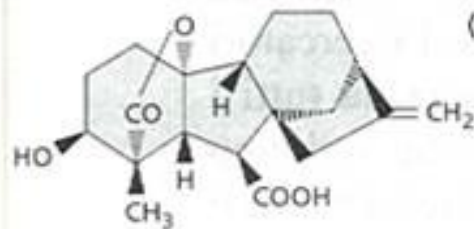
GIBBERELLINE ATTIVE



(E) Gibberellina A₁ (GA₁)



(F) Acido gibberellico (GA₃)



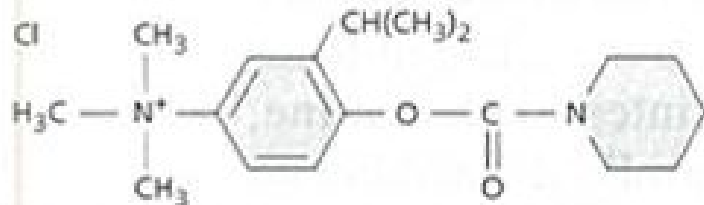
(G) Gibberellina A₄ (GA₄)

GIBBERELLINE INATTIVE

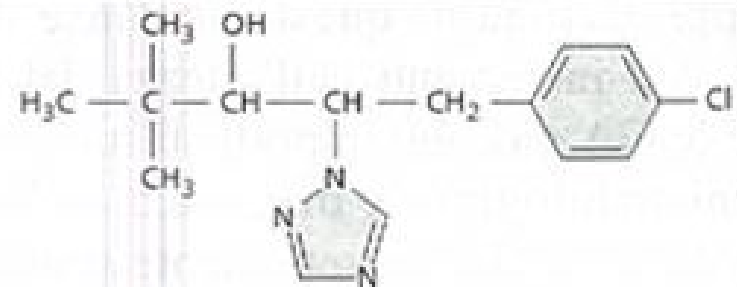


(H) GA₂₉ (inattiva tramite ossidrilazione del C2)

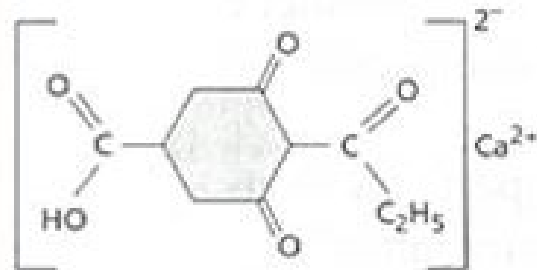
INIBITORI DELLA SINTESI DELLE GIBBERELLINE



(I) AMO-1618

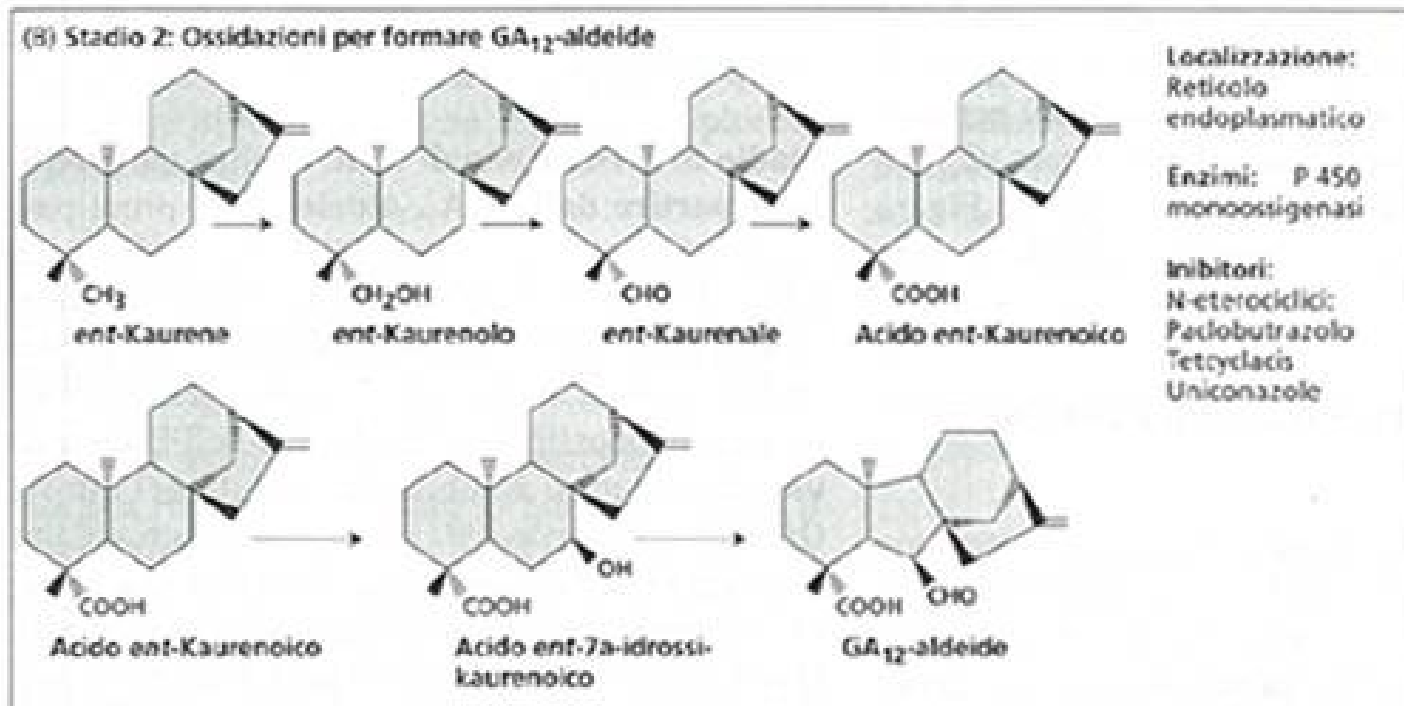
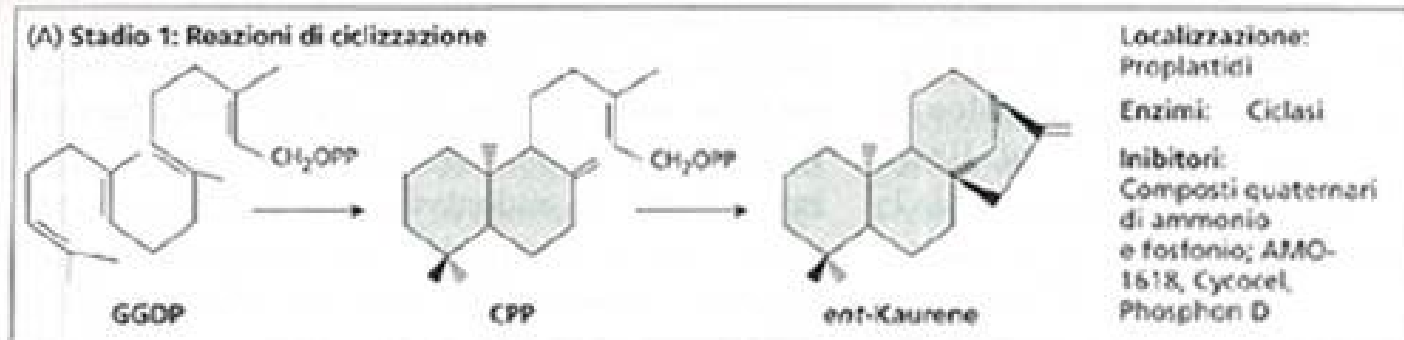


(J) Paclobutrazolo (Bonzi)

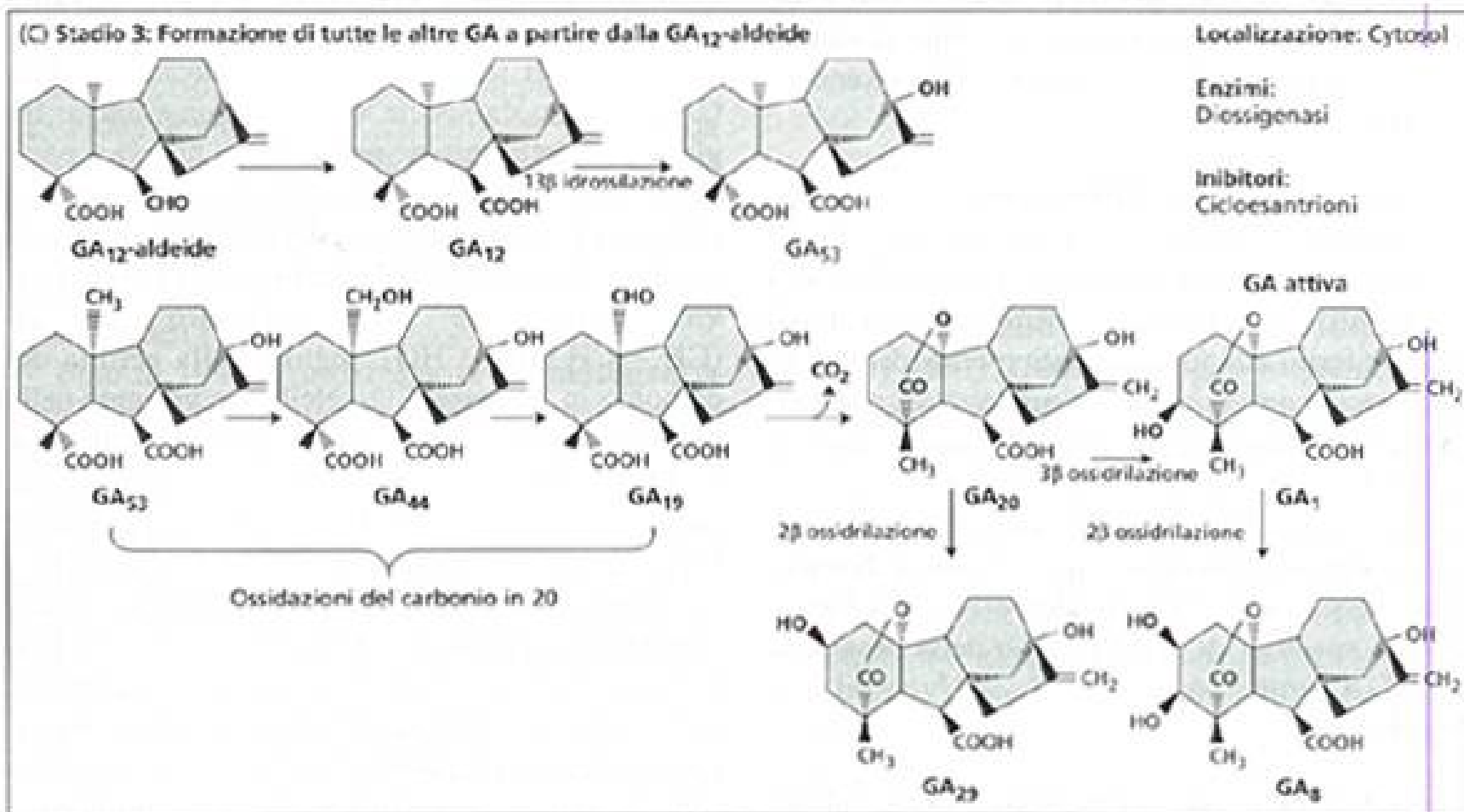


(K) BX-112 (proexadione-calcio)

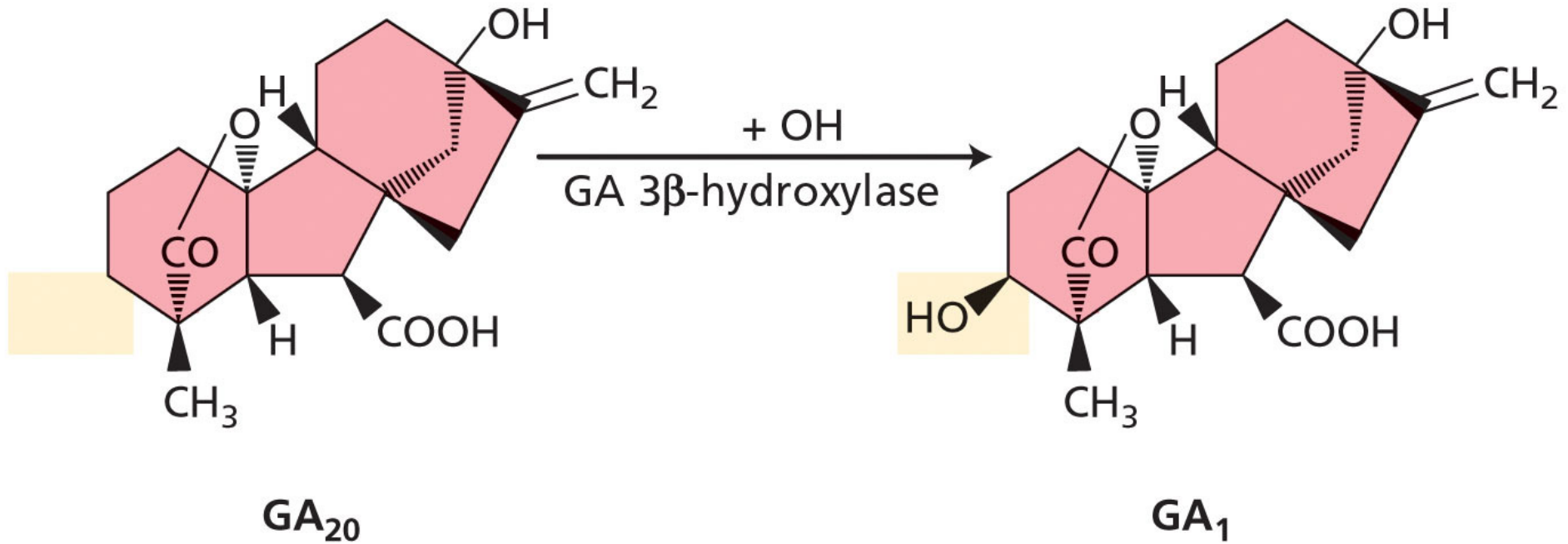
Biosintesi delle gibberelline (in tessuti in crescita)



Biosintesi delle gibberelline (in tessuti in crescita)



GA₁, THE BIOLOGICALLY ACTIVE GIBBERELLIN, IS SYNTHESIZED FROM GA₂₀



Phenotypes and genotypes of peas with different gibberellin levels



Ultradwarf:
no GAs
nana

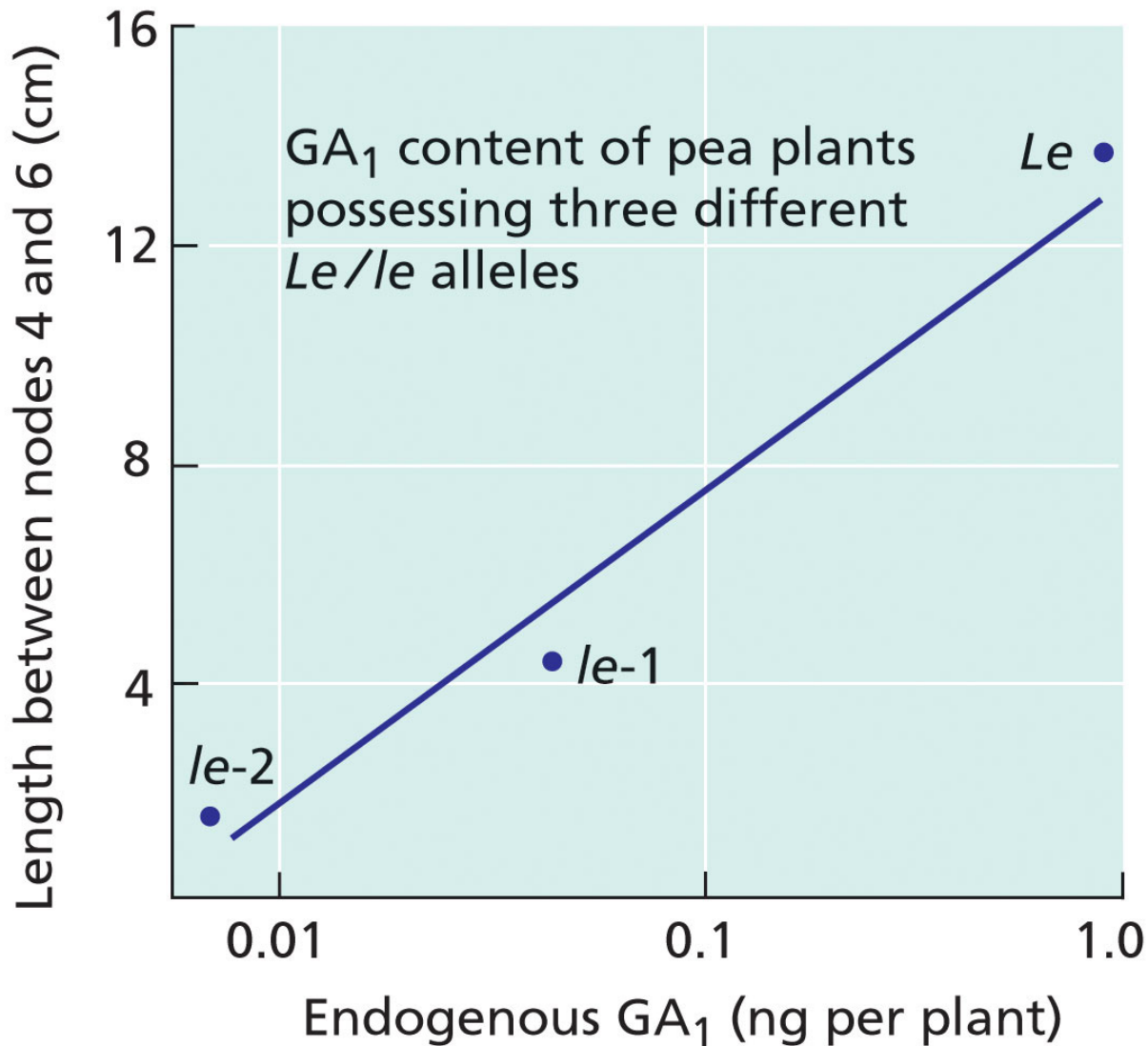


Dwarf:
contains
 GA_{20}
Na le

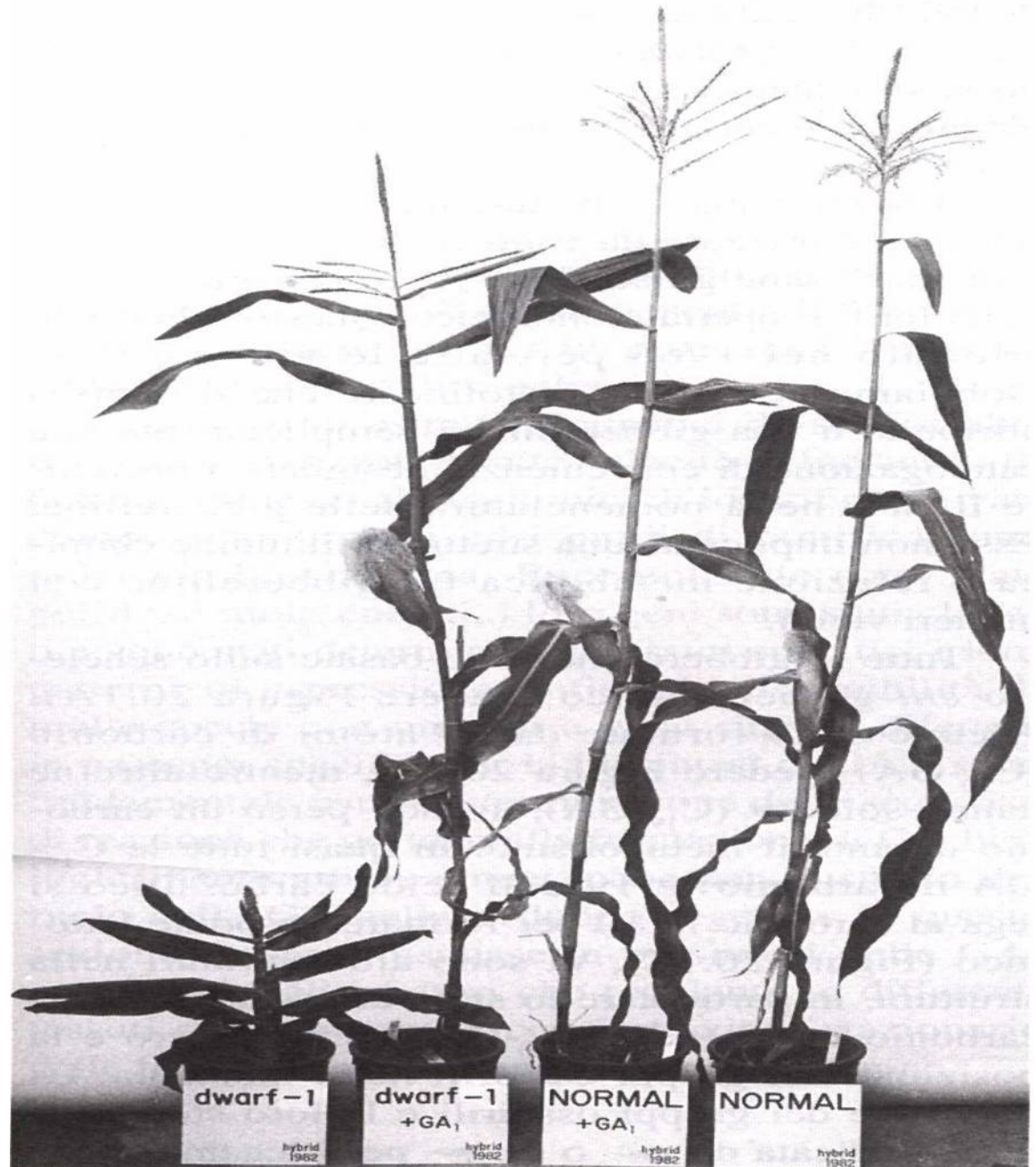


Tall:
contains
 GA_1
Na Le

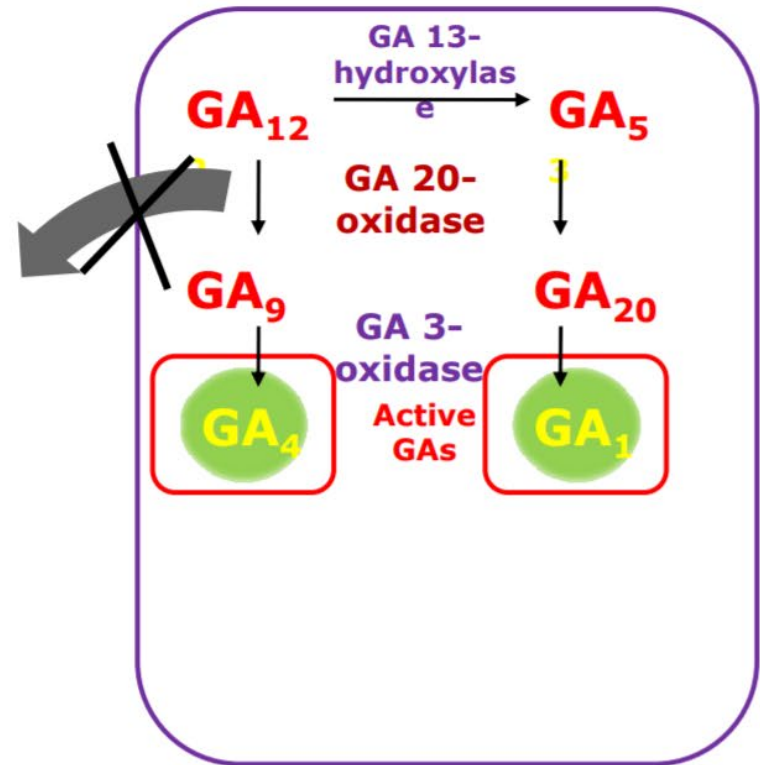
GA₁ LEVELS CORRELATE WITH INTERNODE LENGTH



L'aggiunta di gibberellina ripristina il fenotipo normale in mutanti nani di riso



la varietà di riso seminana *sd1* è mutata nel gene GA20ox espresso nei germogli ma non nei tessuti riproduttivi, determinando un aumento della produzione dei semi



Regolazione della biosintesi

1. Fotoperiodo (la concentrazione di GA_{20} aumenta con il fotoperiodo)

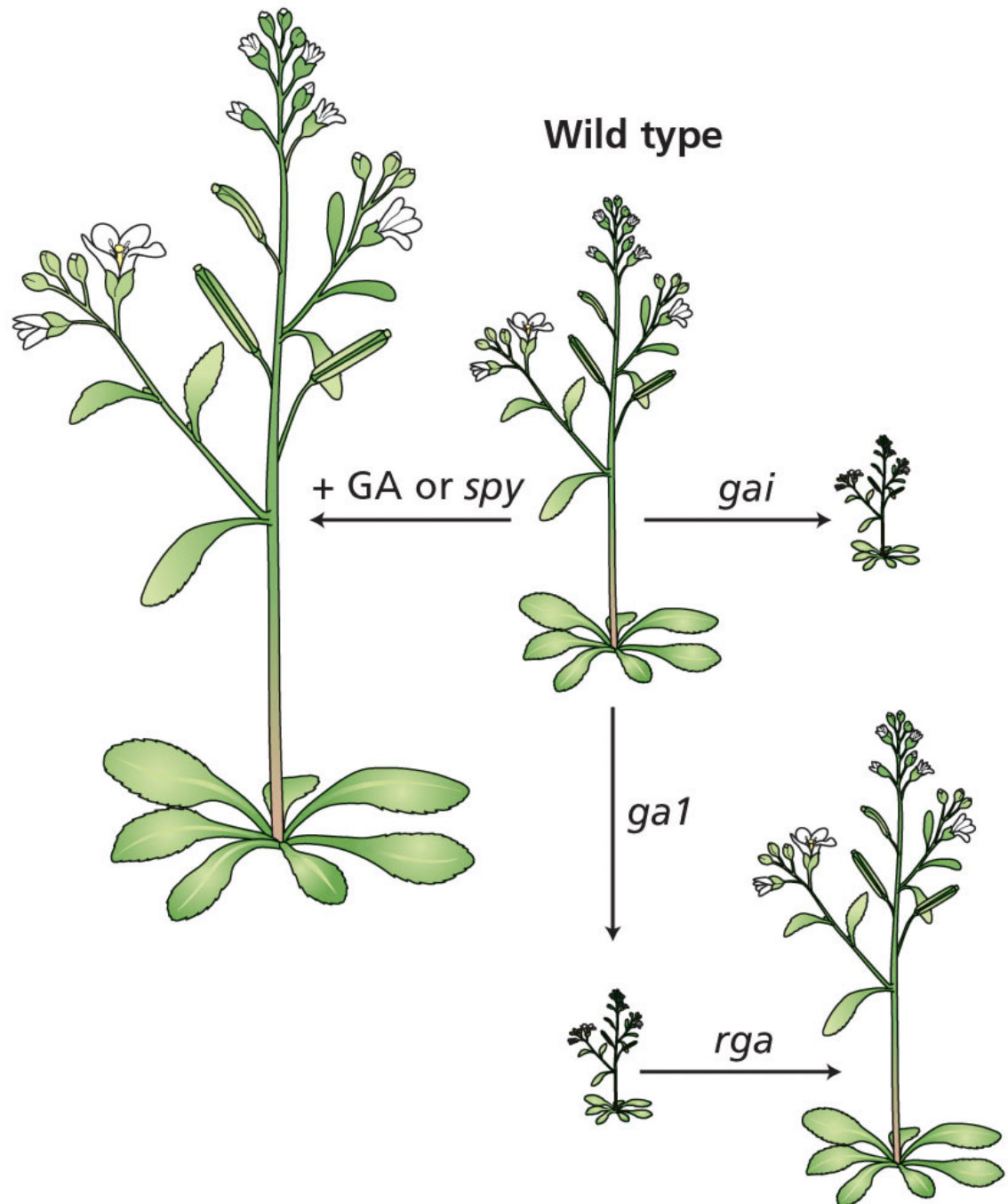
2. Temperatura (le GA possono sostituirsi al freddo nell'induzione della fioritura)

(apice) ac. *ent*-kaurenoico + freddo \rightarrow GA_9 (+attiva)

3. Controllo da GA: le GA sembrano in grado di reprimere la propria sintesi (repressore della trascrizione?) \rightarrow feedback negativo

Mutanti di *Arabidopsis* con difetti nella percezione/trasduzione delle gibberelline

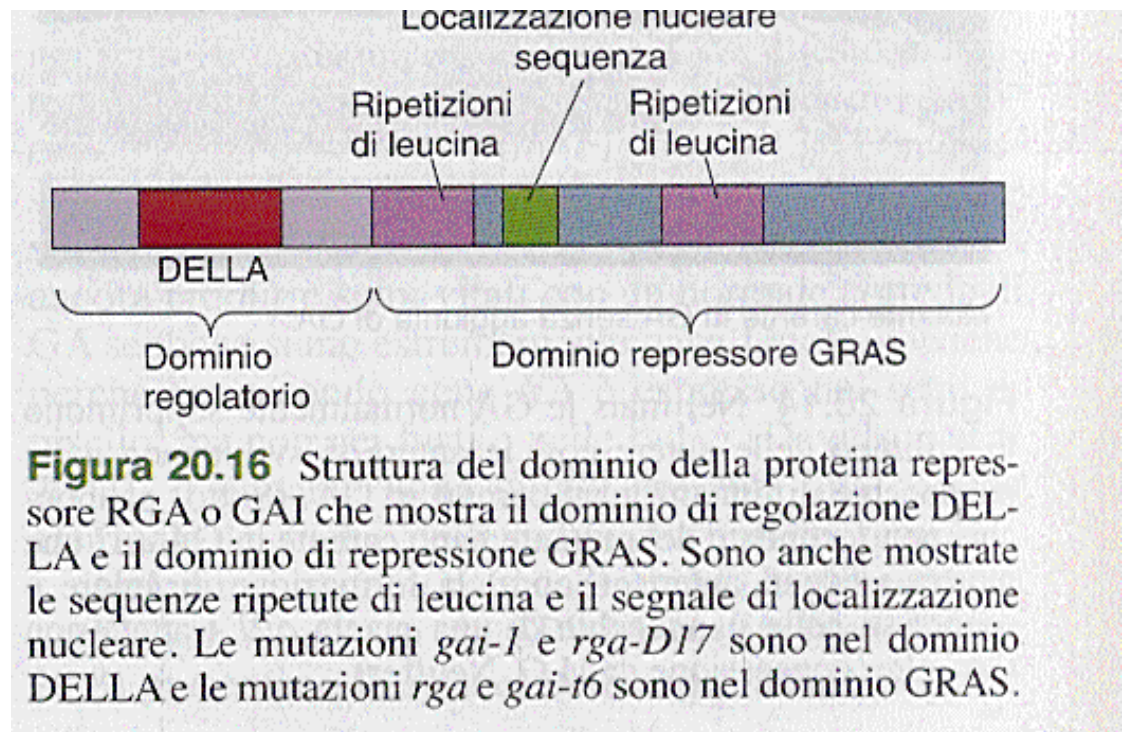
1. *Gibberellin-insensitive* (nani)
2. Soppressori di mutazioni nella sintesi delle gibberelline (doppi mutanti hanno aspetto WT)
3. Mutanti con risposte costitutive alle gibberelline ("*slender*" = allungati)



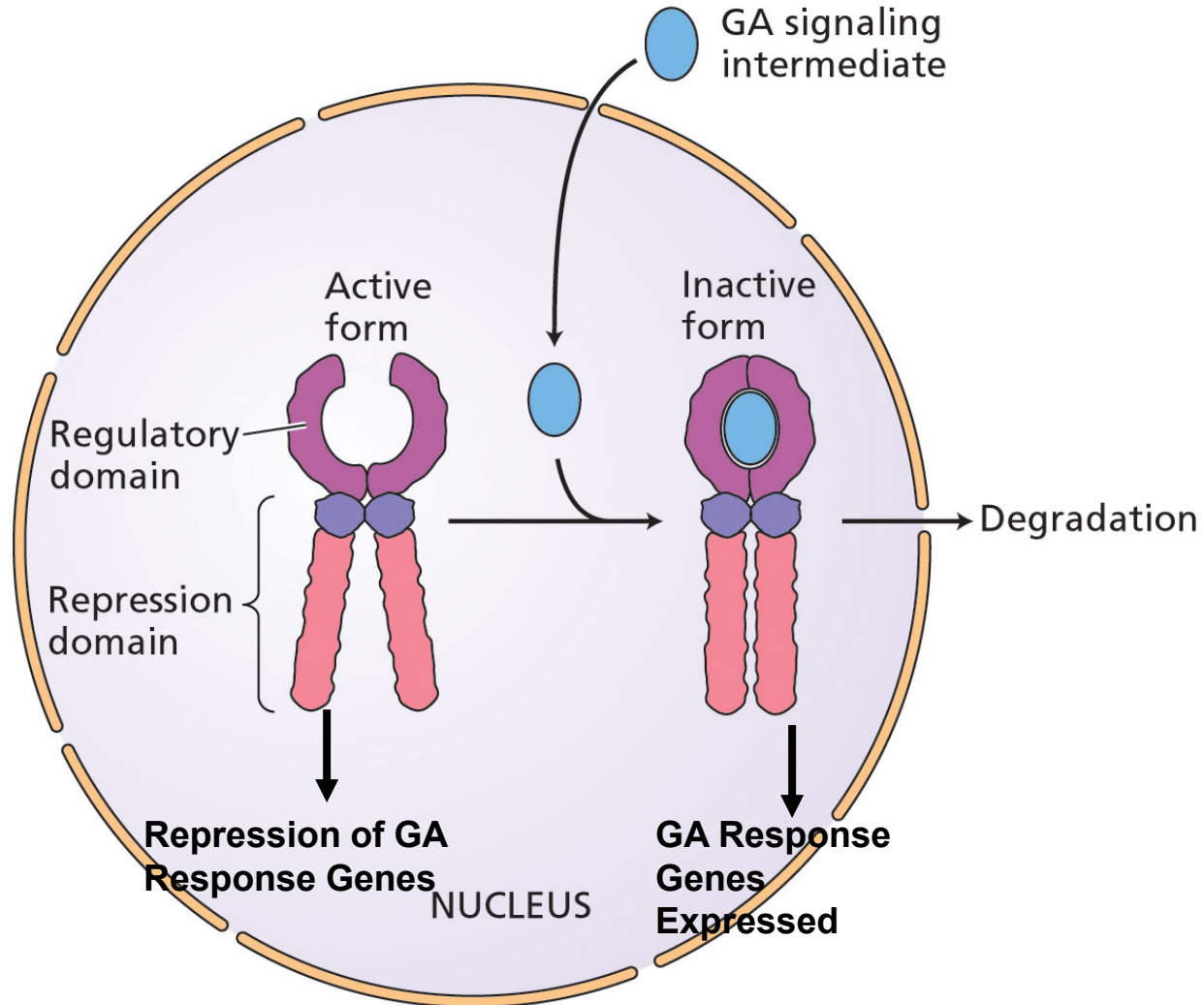
PLANT PHYSIOLOGY, Third Edition, Figure 20.26 © 2002 Sinauer Associates, Inc.

TRASDUZIONE DELLE GIBBERELLINE

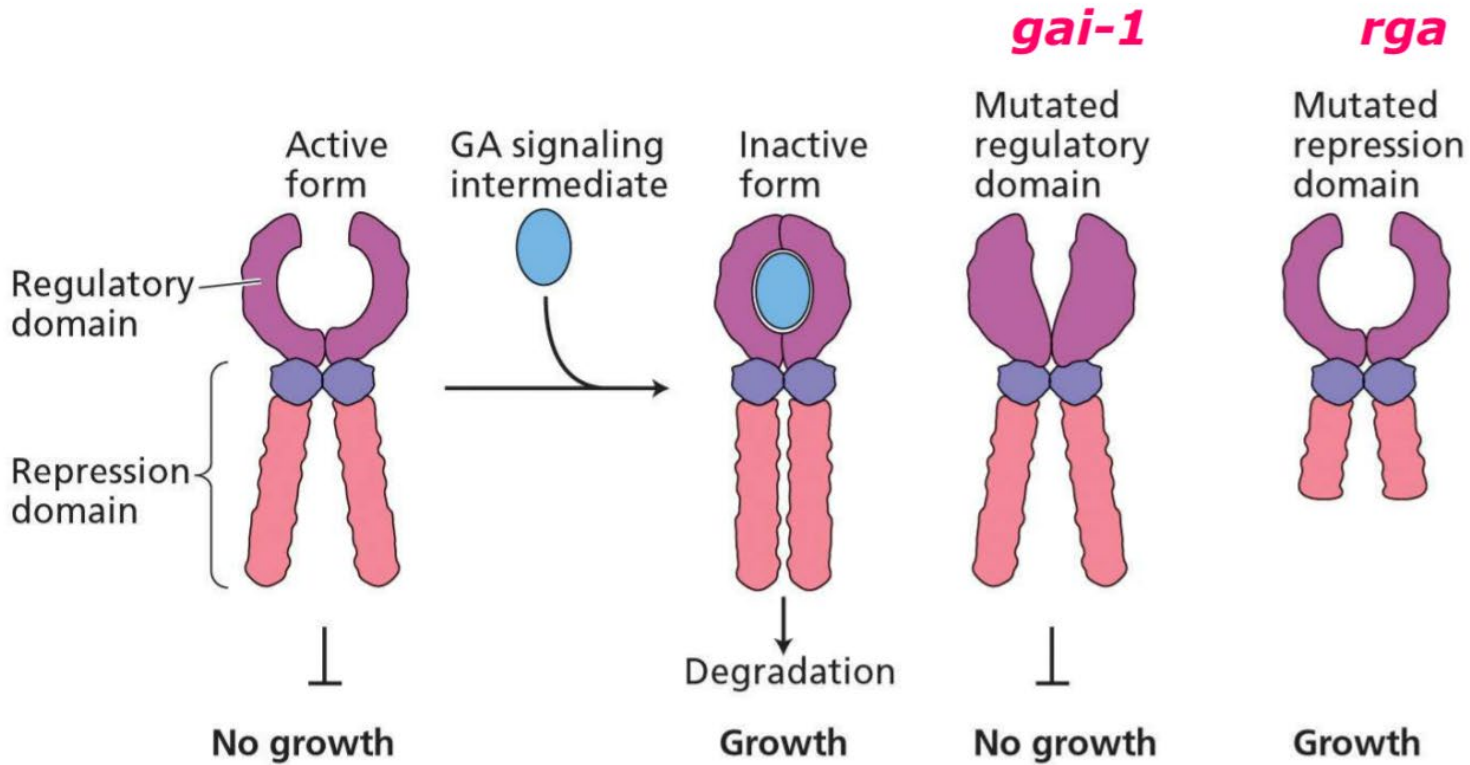
Proteine con dominio DELLA sono regolatori negativi di risposte alle GA



GAI and RGA are related repressor proteins



Mutazioni su domini diversi hanno effetti diversi



PLANT PHYSIOLOGY, Third Edition, Figure 20.28 © 2002 Sinauer Associates, Inc.

nano

alto

GID1 (possibile recettore) di riso interagisce con GA attive. Il complesso lega il repressore SLR1

GA-GID1-SLR1 interagisce con GID2 componente F-box del complesso SCF ubiquitina ligasi per la degradazione proteosomica di SLR1

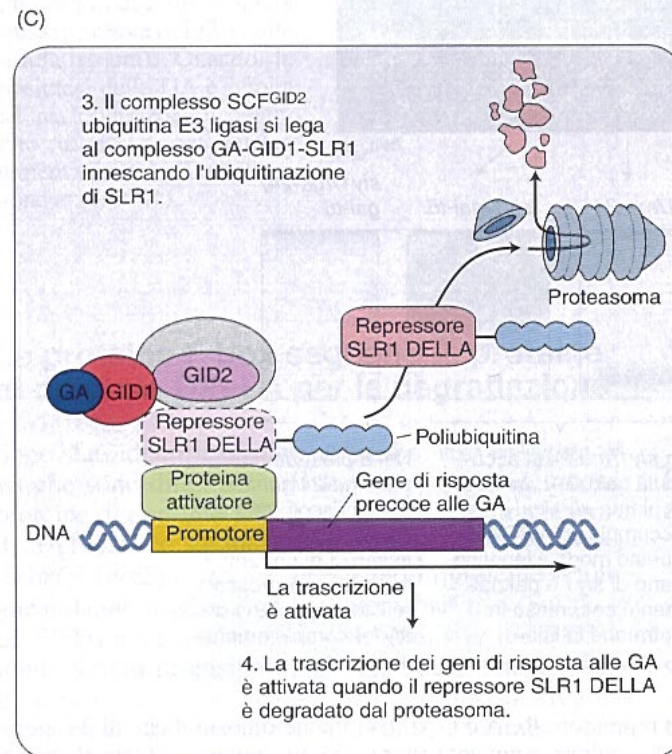
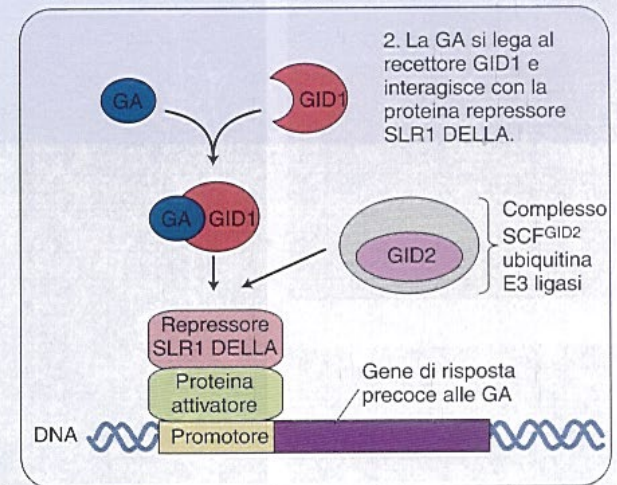
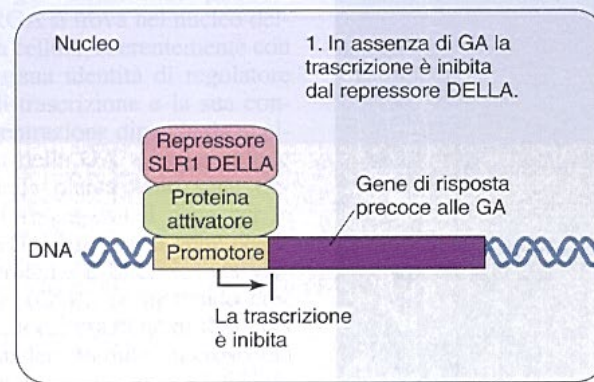


Figura 20.20 Modello per il legame di GA con il suo recettore e successiva attivazione dell'espressione genica che porta alla crescita del riso. (A) In assenza di GA il repressore di dominio DELLA SLR1 blocca la trascrizione dei geni inducibili dalle GA, probabilmente legando e bloccando l'attività di un attivatore di trascrizione (al momento solo ipotetico). (B) La GA bioattiva si lega ad un recettore solubile (GID1) nel nucleo e il complesso GA-GID1 si lega quindi al repressore SLR1. (C) Il complesso GA-GID1-SLR1 si associa con la proteina F-box GID2 dell'ubiquitina ligasi SCF^{GID2}, attivandola. SCF^{GID2} attacca molecole di ubiquitina a SLR1, segnandole per la degradazione da parte del proteasoma. La degradazione della proteina repressore di dominio DELLA "sblocca" l'attivatore di trascrizione, permettendo alla trascrizione di procedere. L'accrescimento avviene come risultato dell'espressione dei geni indotti dalla GA.

Regolazione dell'accrescimento in varie condizioni

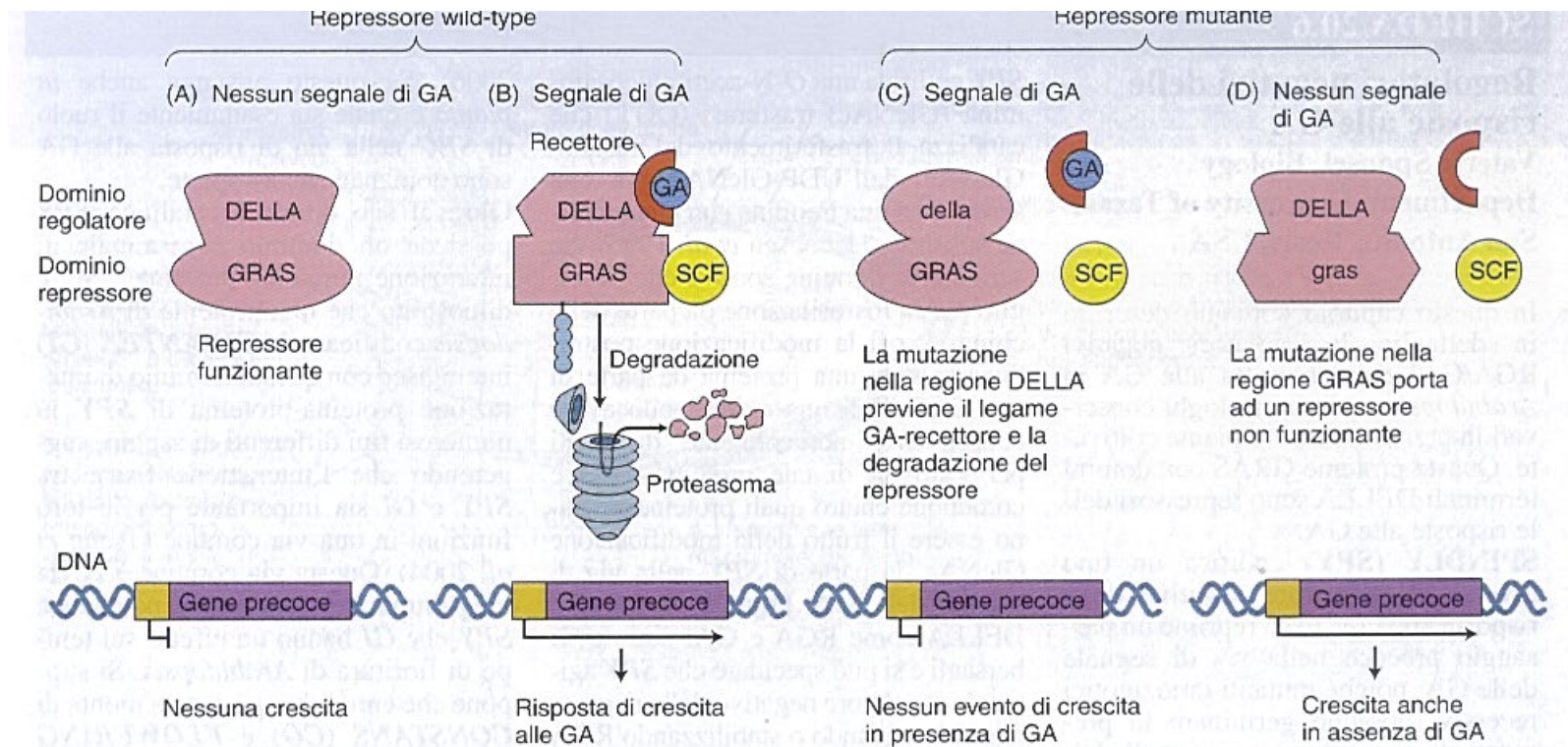
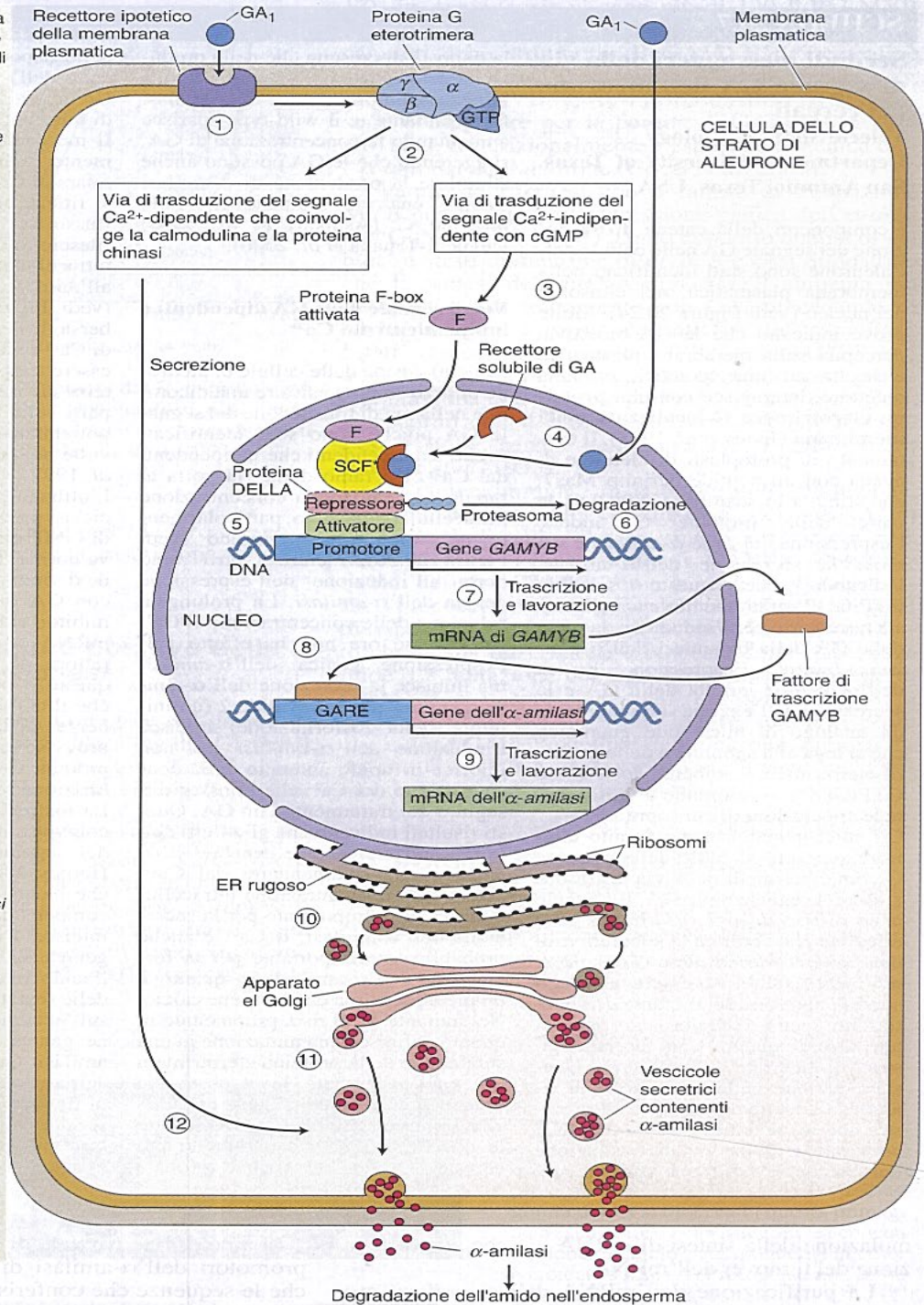


Figura 20.21 Il modello ricorrente della via di segnale delle GA durante l'accrescimento implica le interazioni fra il recettore della GA, un complesso ubiquitina ligasi SCF e una proteina repressore di dominio DELLA. Le proteine di repressione di GA (GAI/RGA/SRL1/SLN1) contengono due domini: il dominio regolatore (DELLA) e il dominio repressore (GRAS). (A) Il dominio GRAS della proteina repressore è attivo in assenza di GA, esso blocca l'espressione di geni precoci indotti dalle GA e porta a pianticelle nane. (B) La GA legata al suo recettore si lega alla proteina repressore e ne facilita l'associazione con il complesso dell'ubiquitina ligasi SCF. La proteina repressore è così segnata per l'ubiquitinazione e la degradazione da parte del proteasoma 26S. La distruzione della proteina repressore permette l'espressione dei geni precoci indotti dalle GA e la crescita della pianticella. (C) Una mutazione nel dominio regolatore DELLA previene il suo legame con il complesso recettore-GA. Di conseguenza il repressore non può essere degradato e il mutante è un nano insensibile alla GA. (D) La mutazione nel dominio GRAS porta ad un repressore che non funziona, così le pianticelle crescono

Modello per induzione di sintesi dell'alfa amilasi da GA in orzo

1. La GA₁ dell'embrione si lega prima ad un ipotetico recettore di membrana sulla superficie di una cellula dell'aleurone.
2. Il complesso cellula-GA di superficie-recettore interagisce con una proteina eterotrimerica G, dando inizio a due catene separate di trasduzione del segnale.
3. Una via calcio-indipendente che coinvolge cGMP e molte altre componenti porta alla attivazione di una proteina F-box, che è parte di un complesso SCF-ubiquitina ligasi.
4. La GA₁ può anche entrare direttamente nella cellula e legarsi ad una proteina recettore alternativa, localizzata principalmente nel nucleo.
5. La proteina F-box attivata si lega ad un dominio repressore DELLA che blocca la trascrizione di un gene *GAMYB*. Il dominio repressore DELLA può bloccare l'attività di un attivatore di trascrizione.
6. Il repressore è degradato dal complesso SCF-ubiquitina ligasi.
7. La degradazione del repressore permette l'espressione di *GAMYB* e di altri geni precoci di risposta.
8. La proteina *GAMYB* neo-sintetizzata entra nel nucleo e si lega ai promotori di α -amilasi e di geni che codificano altri enzimi idrolitici.
9. E' attivata la trascrizione di questi geni
- 10- L' α -amilasi e le altre idrolasi sono sintetizzate nell'ER rugoso.
11. Le proteine sono secrete dal Golgi.
12. La via di secrezione richiede la stimolazione da parte delle GA di una via calcio-calmodulina dipendente.



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

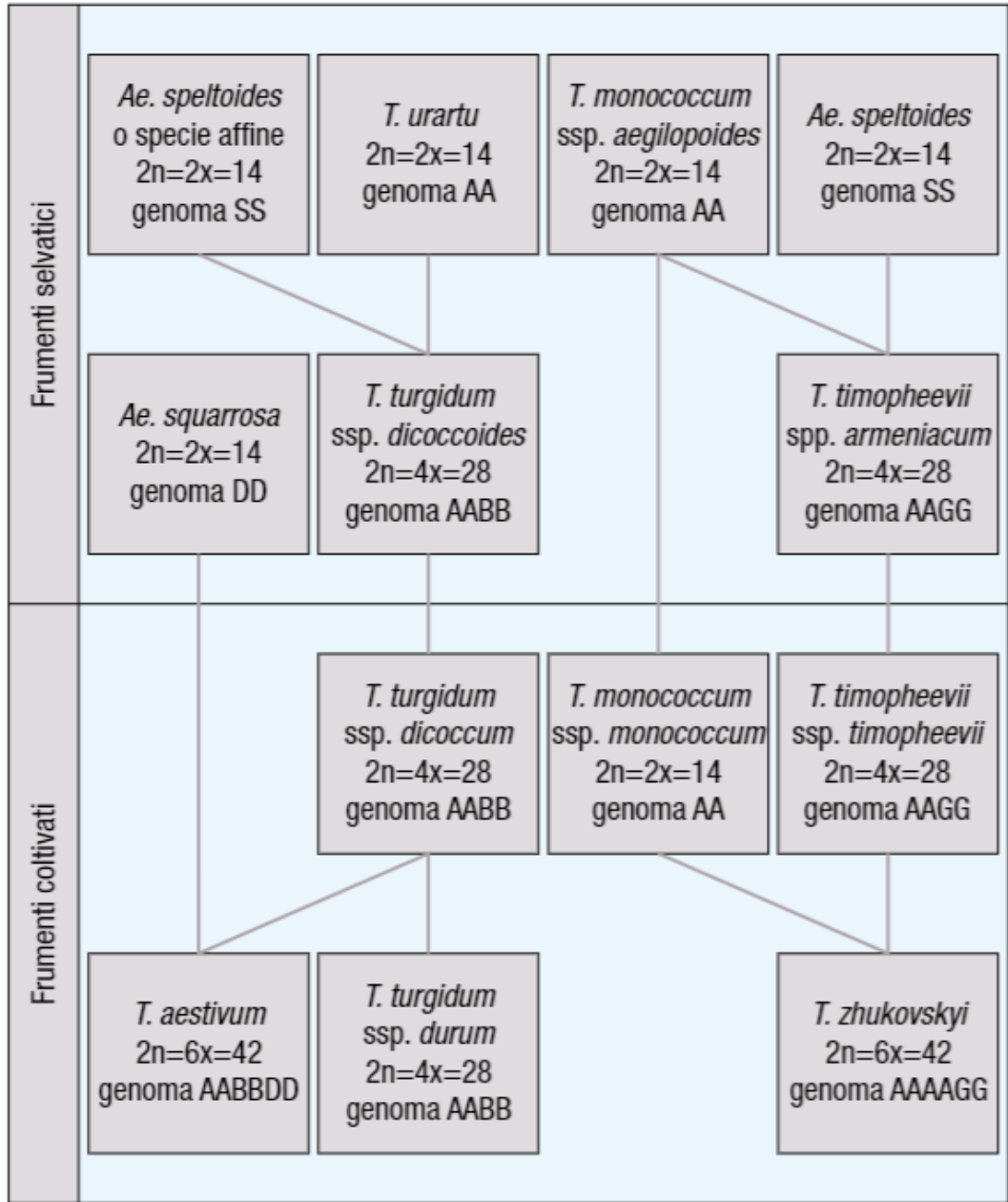
Controllo genetico semplice: pochi geni sono in grado di spiegare le profonde differenze fenotipiche che si osservano tra specie selvatiche e coltivate

1 Orzo: rachide fragile

2 Frumento: bassa taglia

Nome scientifico dei frumenti coltivati e dei progenitori selvatici

Specie e sottospecie	Numero cromosomico	Formola genomica
<i>Triticum monococcum</i>		
ssp. <i>aegilopoides</i>	14	AA
ssp. <i>monococcum</i>	14	AA
<i>Triticum urartu</i>	14	AA
<i>Triticum timopheevii</i>		
ssp. <i>armeniacum</i>	28	AAGG
ssp. <i>timopheevii</i>	28	AAGG
<i>Triticum turgidum</i>		
ssp. <i>dicoccoides</i>	28	AABB
ssp. <i>dicoccon</i>	28	AABB
ssp. <i>paleocolchicum</i>	28	AABB
ssp. <i>parvicoccum</i>	28	AABB
ssp. <i>durum</i>	28	AABB
ssp. <i>turgidum</i>	28	AABB
ssp. <i>polonicum</i>	28	AABB
ssp. <i>turanicum</i>	28	AABB
ssp. <i>carthlicum</i>	28	AABB
<i>Triticum zhukovskiyi</i>	42	AAAAGG
<i>Triticum aestivum</i>		
ssp. <i>spelta</i>	42	AABBDD
ssp. <i>macha</i>	42	AABBDD
ssp. <i>aestivum</i>	42	AABBDD
ssp. <i>compactum</i>	42	AABBDD
ssp. <i>sphaerococcum</i>	42	AABBDD



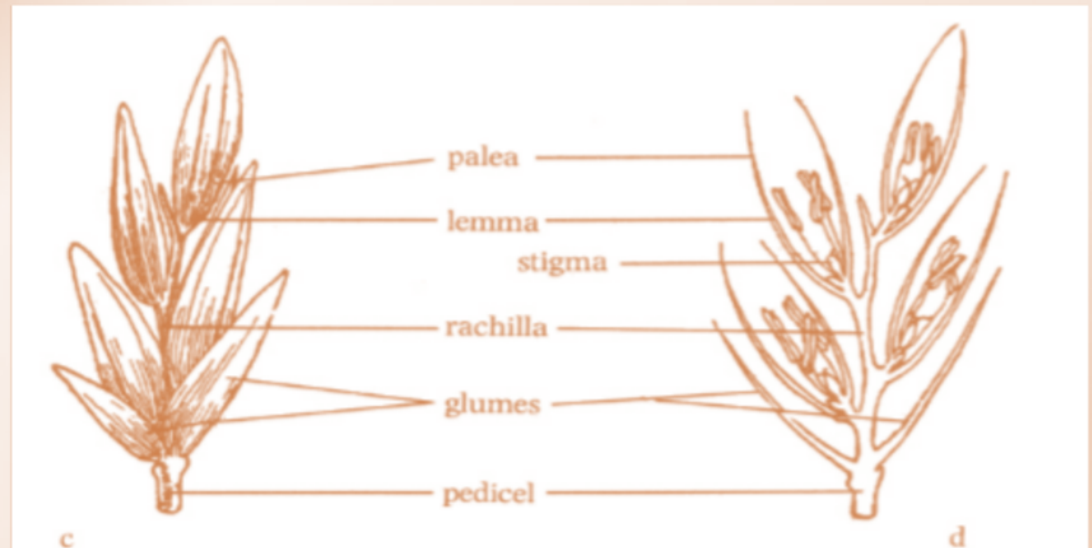
Origine dei frumenti coltivati

Modificazioni sopravvenute nei frumenti durante le tre fasi della coltivazione

Fasi della coltivazione	Modificazioni
Durante il passaggio dallo stato selvatico ai campi coltivati	<ul style="list-style-type: none"> • Spighe non fragili • Cariossidi nude • Semi non dormienti • Germinazione rapida e uniforme • Piante erette • Cariossidi più grandi • Numero maggiore di spighe per spiga
Durante 10.000 anni di coltivazione in ambienti diversificati	<ul style="list-style-type: none"> • Adattamento a nuovi ambienti, talvolta con condizioni pedo-climatiche estreme • Maggiore accestimento • Alta taglia • Foglie a portamento orizzontale • Maggiore competitività con altri genotipi di frumento o con piante infestanti • Variazioni nei processi che controllano la durata delle varie fasi sviluppo • Numero più elevato di cariossidi per spigetta • Migliorate proprietà della granella
Durante la coltivazione in campi monovarietali a seguito delle moderne procedure di miglioramento genetico dell'ultimo secolo	<ul style="list-style-type: none"> • Maggiore produttività in campi con elevata densità di piante; ridotta competizione intergenotipica • Foglie a portamento verticale • Altezza ridotta • Maggiore risposta a fertilizzanti e fitofarmaci • Maggiore resistenza a malattie e insetti • Resistenza all'allettamento • Migliorate qualità panificatorie e pastificatorie

Le piante domestiche si differenziano dai loro progenitori selvatici per via della selezione di alcuni tratti di interesse. Uno di questi è rappresentato dalla resistenza del rachide delle spighe alla maturità, carattere controllato dal locus Br (brittle rachis), presente sul cromosoma 3A e 3B (Nalam et al. 2006). Un altro tratto selezionato durante la domesticazione fu lo sviluppo di semi nudi (free-treshing), in cui le glumette non aderiscono più alla cariosside. Questo carattere è controllato da una mutazione recessiva nel locus Tg (tenacious glume) e nel locus Q (Simmonds et al. 2016) (Fig. 1.4). Altri caratteri selezionati nel frumento riguardarono la grandezza dei semi e la ridotta dormienza

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 orti coltivati sono omozigoti recessivi (bt1, bt2) per uno o per entrambi i loci.

L'orzo e il frumento selvatici a quel tempo coltivati avevano la caratteristica di disperdere i semi: la spiga a maturazione si disarticolava ad ogni nodo del rachide, lasciando cadere i singoli chicchi in posizioni diverse sul terreno, così favorendo la crescita e maturazione delle nuove piante, avvantaggiate in ecosistemi naturali nella competizione con altre specie. Se dal punto di vista evolutivo questa strategia sviluppata dalla pianta rappresentava una valvola di sicurezza per la sopravvivenza della specie, dal punto di vista della produzione di cibo costituiva un punto debole, portando alla perdita totale del raccolto per effetto di improvvise calamità naturali (vento, pioggia). Il più grande salto scientifico-tecnologico si ebbe quando tra le piante di orzo selvatico si scoprì una spiga non fragile. Fu la prima trasformazione genetica utile registrata nella storia.

In orzo, i due geni responsabili del carattere “spiga non fragile” sono Btr1 and Btr2, strettamente associati sul cromosoma 3H, mentre in frumento svolgono un ruolo maggiore brittle rachis 2 (Br-A1) e brittle rachis 3 (Br-B1), rispettivamente posizionati sul braccio corto dei cromosomi 3A e 3B. Nell’insieme, sembra che in tutte le Triticeae siano presenti questi geni come gruppo di ortologi che controllano la disarticolazione in diversi punti della spiga. Un altro esempio è il gene sh4 di riso, che codifica per un fattore trascrizionale responsabile della formazione del tessuto di abscissione alla base del peduncolo che regge il granello sulla pannocchia di riso. Nel riso coltivato la mutazione di un singolo nucleotide, che determina la sostituzione di una Lisina con una Asparagina, è sufficiente per ridurre lo sviluppo del tessuto di abscissione in modo tale da impedire la caduta spontanea dei semi, consentendo tuttavia il distacco dei semi a seguito di sollecitazione meccanica (trebbiatura).

Bassa taglia

fertilizzazione



aumento della biomassa
totale

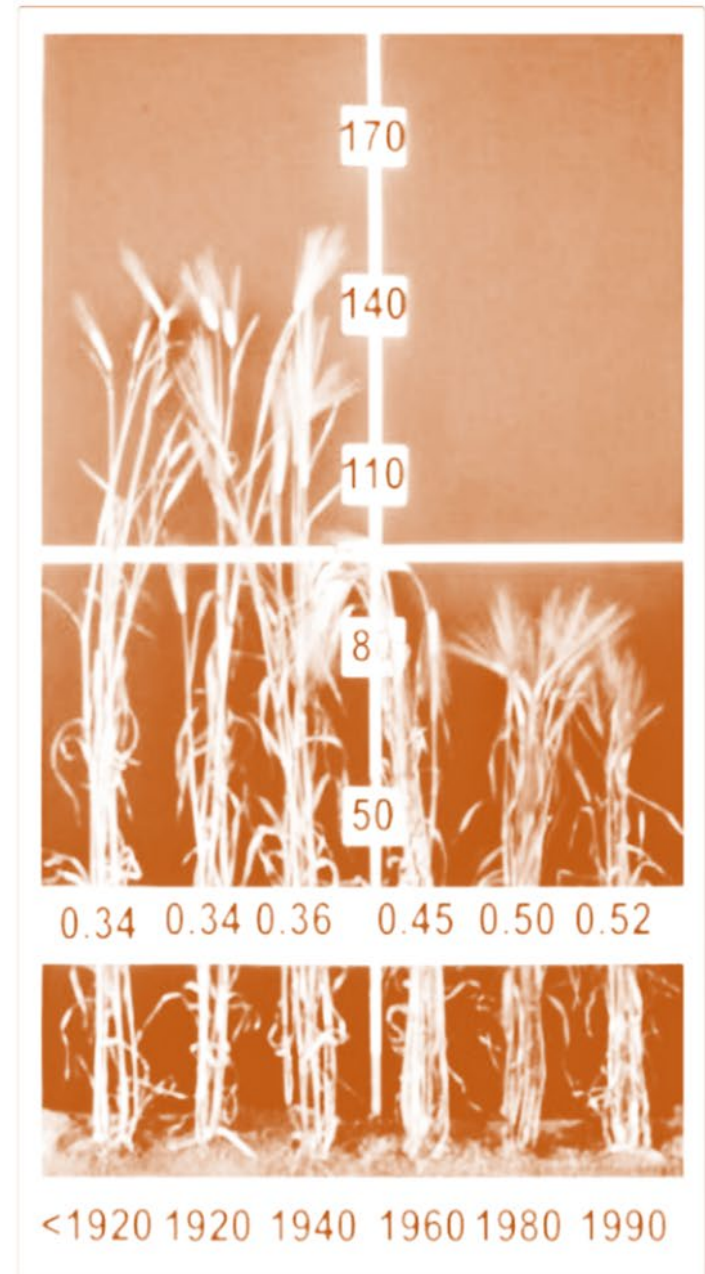


miglior resa
produttiva

l'incremento altezza della
pianta



Allettamento e difficoltà nella
raccolta
meccanica



Nel 1911 Nazareno Strampelli per primo introdusse il carattere bassa taglia nei frumenti usando nei suoi incroci il genotipo giapponese AKAGOMUKI, portatore del gene Rht8 sensibile alle gibberelline. Lo sviluppo di nuovi genotipi a bassa taglia rappresenta il grande successo italiano nel mondo. Le varietà di Strampelli sono state impiegate in quasi tutti i programmi di breeding in tutto il mondo sino a pochi anni or sono. Anche Cesare Orlandi utilizzò un'altra varietà a taglia bassa – SAITAMA 27 – portatrice del gene Rht-B1d insensibile alle gibberelline. Successivamente un'altra varietà giapponese, NORIN 10(6x), portatrice di un altro gene di bassa taglia Rht-B1b insensibile alle gibberelline, isolata per la prima volta nel 1932, fu introdotta nel 1946 da Orville Vogel nella Washington State University, e nel 1948 fu eseguito il primo incrocio. Norman Borlaug utilizza Norin 10 nel 1955 per gli incroci, e nel 1964 avvia il nuovo programma di miglioramento genetico presso il CIMMYT (Messico), dal quale origina e si realizza la “Rivoluzione Verde”, che gli porterà nel 1970 il premio Nobel per la pace.

la presenza di Rht-B1b permette alla pianta di aumentare l'apparato fotosintetico, migliorare la fertilità della spighetta, il numero di spighette per spiga, il numero di spighe/m² e la dimensione della cariosside. Tutto ciò ha portato a un aumento della produzione pari a 4-5 volte il potenziale delle varietà pre-Strampelli (fino a 10-12 t/ha). Il gene Rht-B1b è stato battezzato "a very lucky gene". Perché? Dal punto di vista genetico e molecolare, il gruppo di Mike Gale a Cambridge ha spiegato il fenomeno in questo modo: Rht-B1b è un gene nato da una mutazione a un singolo nucleotide, verificatasi a una tripletta STOP codon. Ma subito dopo questa tripletta di STOP si è assortita una tripletta di START che codifica per Metionina, quindi il gene ha continuato a essere trascritto, producendo una proteina leggermente diversa dal wild type. Il gene R (wild type) codifica per una proteina con tre funzioni: la più importante è quella di riconoscere la gibberellina e dirigerla verso i siti d'azione – le pareti delle cellule dell'internodo. Nel mutante, cioè Rht-B1b, questa funzione si perde per il segnale di STOP e START a livello molecolare, e quindi la gibberellina continua a essere prodotta dalla pianta, ma non viene veicolata per distendere le pareti cellulari dell'internodo (piante nane) e in più va a colpire organi importanti della riproduzione, come descritto in precedenza.

Risultato finale: piante nane con una superiore potenzialità produttiva, sino a oggi ancora in crescita. Nel mondo l'incremento produttivo è stato notevole e si prevedono ancora progressi sostanziali sia in ambienti fertili che in ambienti stressati. L'evidenza di questo fenomeno fu messa in luce con un semplice esperimento, somministrando una soluzione contenente gibberelline a plantule di frumento wild type e mutate: ci si aspettava una crescita maggiore del mutante dwarf e nessuna crescita del wild type. Il risultato fu l'opposto: la varietà a taglia alta continuò a crescere mentre il mutante restò nano, e per questo fu battezzato "insensibile".

Rivoluzione verde : anni 70'

Mutazione nei cereali del gene *rht* (reduced height)



mutazione *gai*

Mutazioni sullo stesso gene possono produrre fenotipi opposti

La mutazione ***gai*** riguarda la delezione della regione **DELLA** nel dominio regolativo del gene ***GAI***: il repressore non viene degradato



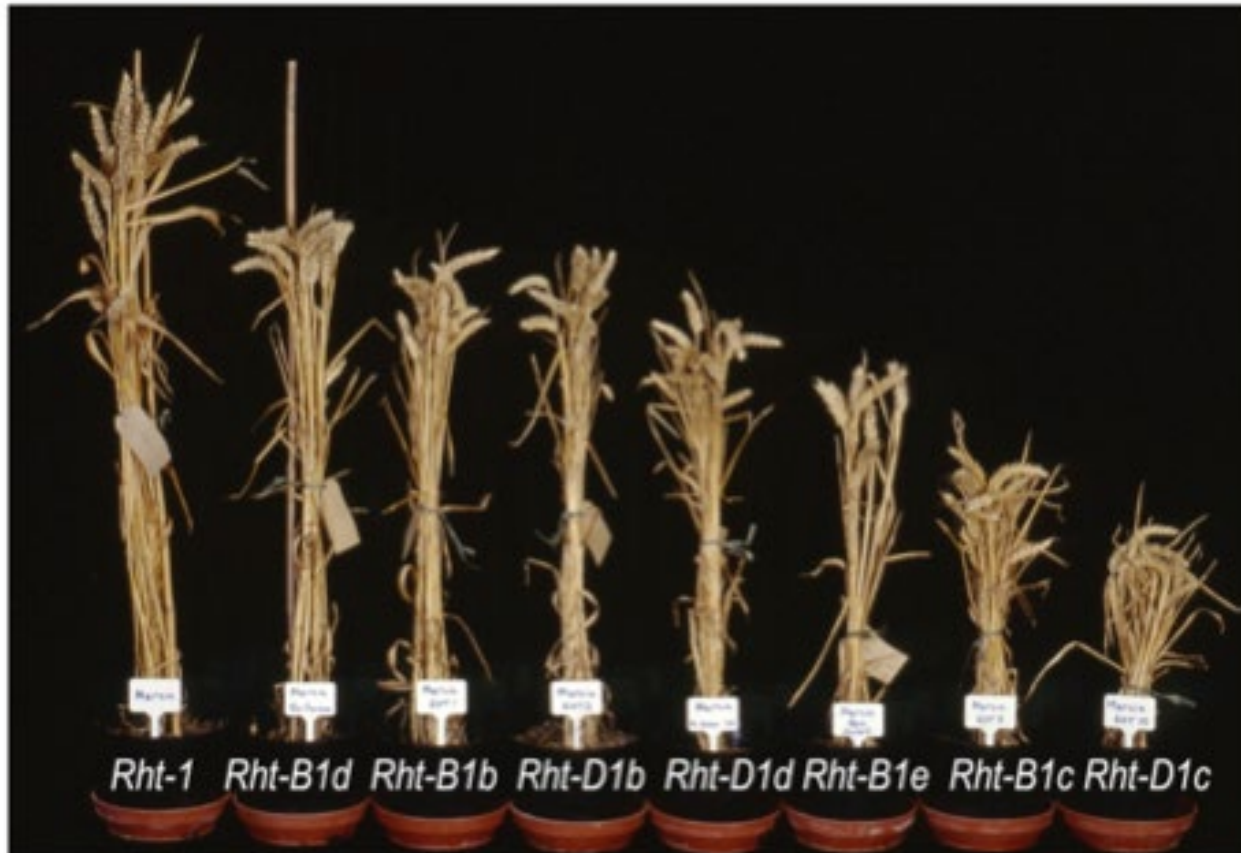
Fenotipo nano

La mutazione ***rga*** riguarda il dominio funzionale del repressore: il repressore non funziona



Fenotipo alto

Dwarf Wheat



99% of wheat grown worldwide

Varietà semi-nane

nel 1999

nel grano *Rht-B1* *Rht-D1*
(nel mais *d8*)

ortologi del gene *GAI* in *Arabidopsis*
insensibilità alle gibberelline

GAI è un repressore della risposta

varietà seminane perché
INSENSIBILI ALLE
GIBBERELLINE



Linee quasi-isogeniche di frumento



Rht-B1b e *D1b*:
semi-dominanti

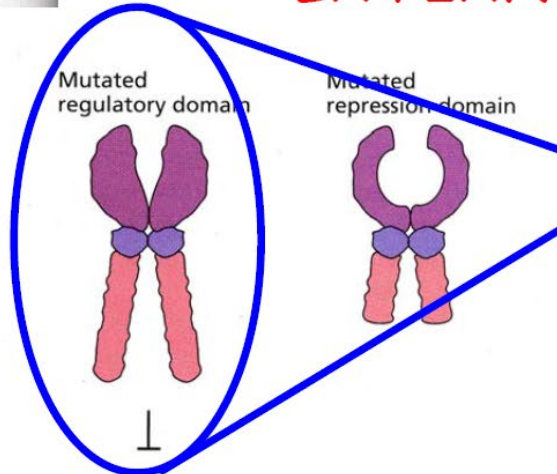
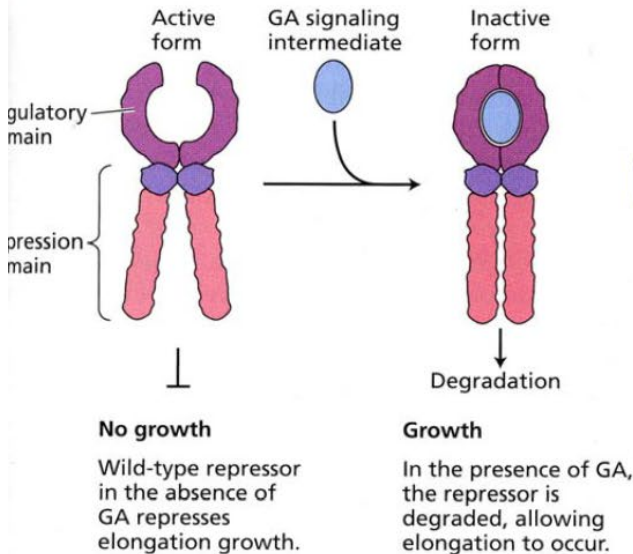
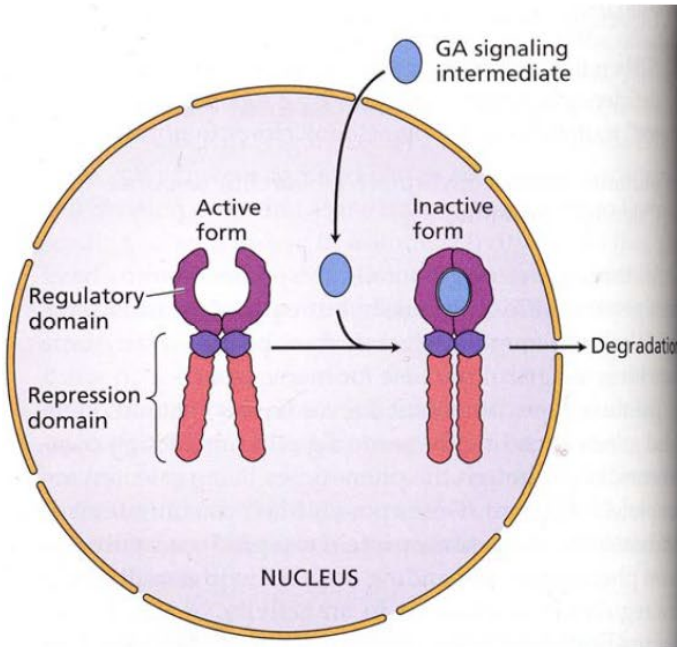
Control *Rht-B1b* *Rht-D1b*
(var. Mercia) (semi-nano) (semi-nano)

GAI è un repressore della trascrizione

Il legame delle GAs al dominio regolatore inattiva il repressore



LA PIANTA CRESCE



mutante *gai*

la mutazione nel dominio regolatore determina insensibilità alle GAs

il repressore rimane attivo anche in presenza di GAs

la pianta rimane nana

Un gene omologo a *GAI* mappa al locus *Rht-1*

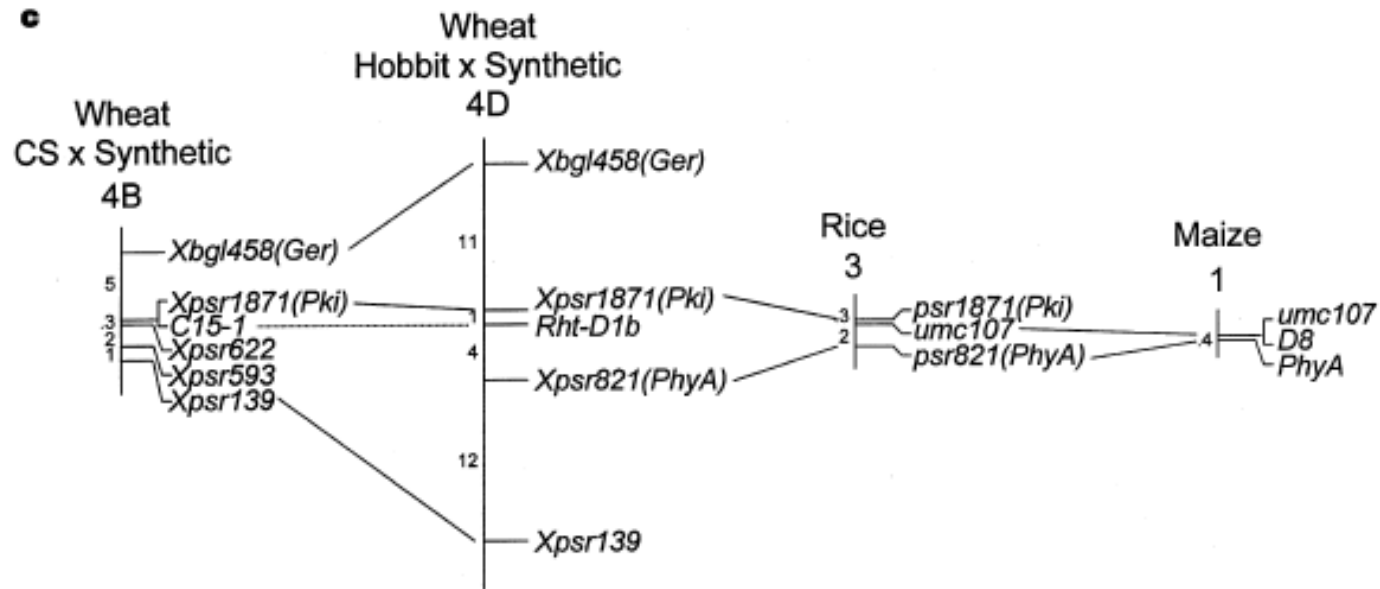


Figure 1 cDNA C15-1 maps to the *Rht-1* locus. **a**, Near-isogenic dwarf wheat lines: left, tall control (var. Mercia); centre, semi-dwarf *Rht-B1b*; right, semi-dwarf *Rht-D1b*. **b**, Gel-blot hybridization of C15-1 with *Dra1*-digested DNA from wheat lines lacking individual group 4 chromosomes (nullisomic 4A-tetrasomic 4D, N4AT4D; nullisomic 4B-tetrasomic 4D, N4BT4D; nullisomic 4D-tetrasomic 4B, N4DT4B), and euploid control (all var. Chinese Spring). Hybridizing fragments were assigned to chromosomes (4A, 4B and 4D) as shown. **c**, Partial linkage maps of wheat chromosomes 4B (ref. 26) and 4D, rice chromosome 3 (ref. 28), and maize

chromosome 1 (ref. 29) showing the colinearity between regions containing C15-1, *Rht-D1b* and *D8-1*. A putative maize *d8* genomic fragment (see text) also displayed tight linkage with *umc107* (not shown). Wheat 4B data are from the F₂ of a Chinese Spring (CS) × Synthetic cross. Wheat 4D data are from the F₂ of a Hobbit (contains *Rht-D1b*) × Synthetic cross; segregation for *Rht-D1b* was assayed by seedling responses to gibberellin²². Map distances are in centiMorgans (cM).

2

Rht-D1a d8 MKPRVQDAGUSGCGGGMHG E VSAAAG E GEEV DELLAALGKYEVMADHRE ADVAQKLEQLLEHMAHGMCGV GAGAAFDSP 82
 GAI MKIDHMHHS GDMG K AAAAGACRQE EEDV DELLAALGKYEVMADHRE ADVAQKLEQLLEHMAHGMCGV GAGATADDGFP 83
 RGA MKEDHHQFCRLSNHTSS SSSI KDLYMYKKEEDGGG NMD DELLAVLGYEVMSEAEVALKLEQLLEHMAHGMCGV SNVQERDL 81

I

Rht-D1a d8 A HEATDTVHYRST EDDYSV RREIKRLA PLLPAPOL N ATSSTVT GSGGY FDLPRVDSSS IAR RPI SPGATAP D 166
 GAI HLATDTVHYRST EDDYSV RREIKRLA PLLPATPA PRLA TSSTVTSGAAAAGAGY FDLPAVDSSS IAR RPI SPVAA PSAD 172
 RGA HLAATDTVHYRST EDDYSV RREIKRLA PLLPATPA DN TSSTVTSGAAAAGAGY FDLPAVDSSS IAR RPI SPVAA PSAD 115
 HLAATDTVHYRST EDDYSV RREIKRLA PLLPATPA PVLP TSSTVTSGAAAAGAGY FDLPAVDSSS IAR RPI SPVAA PSAD 152

II

Rht-D1a d8 L ADYKDF K MRTGGG TTSS SSSS SLG GANSS VEAAPPY AAA NTFPAL VVVD TS AG IIRL VHALLACNEA 244
 GAI ADYKDF K MRTGGG TTSS SSSS SLG GANSS VEAAPPY AAA NTFPAL VVVD TS AG IIRL VHALLACNEA 253
 RGA ADYKDF K MRTGGG TTSS SSSS SLG GANSS VEAAPPY AAA NTFPAL VVVD TS AG IIRL VHALLACNEA 178
 ADYKDF K MRTGGG TTSS SSSS SLG GANSS VEAAPPY AAA NTFPAL VVVD TS AG IIRL VHALLACNEA 231

III

Rht-D1a d8 VQENLSA ACALVKQ PLPA AS IG AREKVA A AG ALAS VY FR QFDS LL AA FA LA HA HFTS CPYL RF AF FTA QA LE AF AG 334
 GAI VQENLSA ACALVKQ PLPA AS IG AREKVA A AG ALAS VY FR QFDS LL AA FA LA HA HFTS CPYL RF AF FTA QA LE AF AG 343
 RGA VQENLSA ACALVKQ PLPA AS IG AREKVA A AG ALAS VY FR QFDS LL AA FA LA HA HFTS CPYL RF AF FTA QA LE AF AG 266
 VQENLSA ACALVKQ PLPA AS IG AREKVA A AG ALAS VY FR QFDS LL AA FA LA HA HFTS CPYL RF AF FTA QA LE AF AG 319

IV

Rht-D1a d8 CR RVHV DI GIK K H Q PA L Q A L R P Q P S R L I V V P Q P L E T A L Q Q V G N L A P H T T R V D F Q V R G L V A A T L A D L E P F H I Q P E G 424
 GAI CR RVHV DI GIK K H Q PA L Q A L R P Q P S R L I V V P Q P L E T A L Q Q V G N L A P H T T R V D F Q V R G L V A A T L A D L E P F H I Q P E G 433
 RGA CR RVHV DI GIK K H Q PA L Q A L R P Q P S R L I V V P Q P L E T A L Q Q V G N L A P H T T R V D F Q V R G L V A A T L A D L E P F H I Q P E G 352
 CR RVHV DI GIK K H Q PA L Q A L R P Q P S R L I V V P Q P L E T A L Q Q V G N L A P H T T R V D F Q V R G L V A A T L A D L E P F H I Q P E G 405

V

Rht-D1a d8 DPNE PF VI AVNSV FELH R L A Q P A L E K V L C T R A V R R I V V E Q E A H H S C T F L D R F T E S L H Y S T H E D S L E G C S S G Q P S E V S S 514
 GAI DDTDD PF VI AVNSV FELH R L A Q P A L E K V L C T R A V R R I V V E Q E A H H S C T F L D R F T E S L H Y S T H E D S L E G C S S G Q P S E V S S 522
 RGA DLRPS DT AV AVNSV FELH R L A Q P A L E K V L C T R A V R R I V V E Q E A H H S C T F L D R F T E S L H Y S T H E D S L E G C S S G Q P S E V S S 434
 DLRPS DT AV AVNSV FELH R L A Q P A L E K V L C T R A V R R I V V E Q E A H H S C T F L D R F T E S L H Y S T H E D S L E G C S S G Q P S E V S S 487

VI

VII

Rht-D1a d8 GAAAA PAAAGT H Q V H S E V L R O I C N V A C E A E T T R H E T L G N R M L L G E T V H L G E N A Y K O A S T L L A L A G C C D V K V E R K E C C T 604
 GAI AAAA PAAAGT H Q V H S E V L R O I C N V A C E A E T T R H E T L G N R M L L G E T V H L G E N A Y K O A S T L L A L A G C C D V K V E R K E C C T 608
 RGA AAAA PAAAGT H Q V H S E V L R O I C N V A C E A E T T R H E T L G N R M L L G E T V H L G E N A Y K O A S T L L A L A G C C D V K V E R K E C C T 513
 AAAA PAAAGT H Q V H S E V L R O I C N V A C E A E T T R H E T L G N R M L L G E T V H L G E N A Y K O A S T L L A L A G C C D V K V E R K E C C T 566



Rht-D1a d8 LGWHTRPLIATSAR R AGP 623
 GAI LGWHTRPLIATSAR R Y AAAA A P 630
 RGA LGWHTRPLIATSAR R K STN 532
 LGWHTRPLIATSAR R K STAA Y 587

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

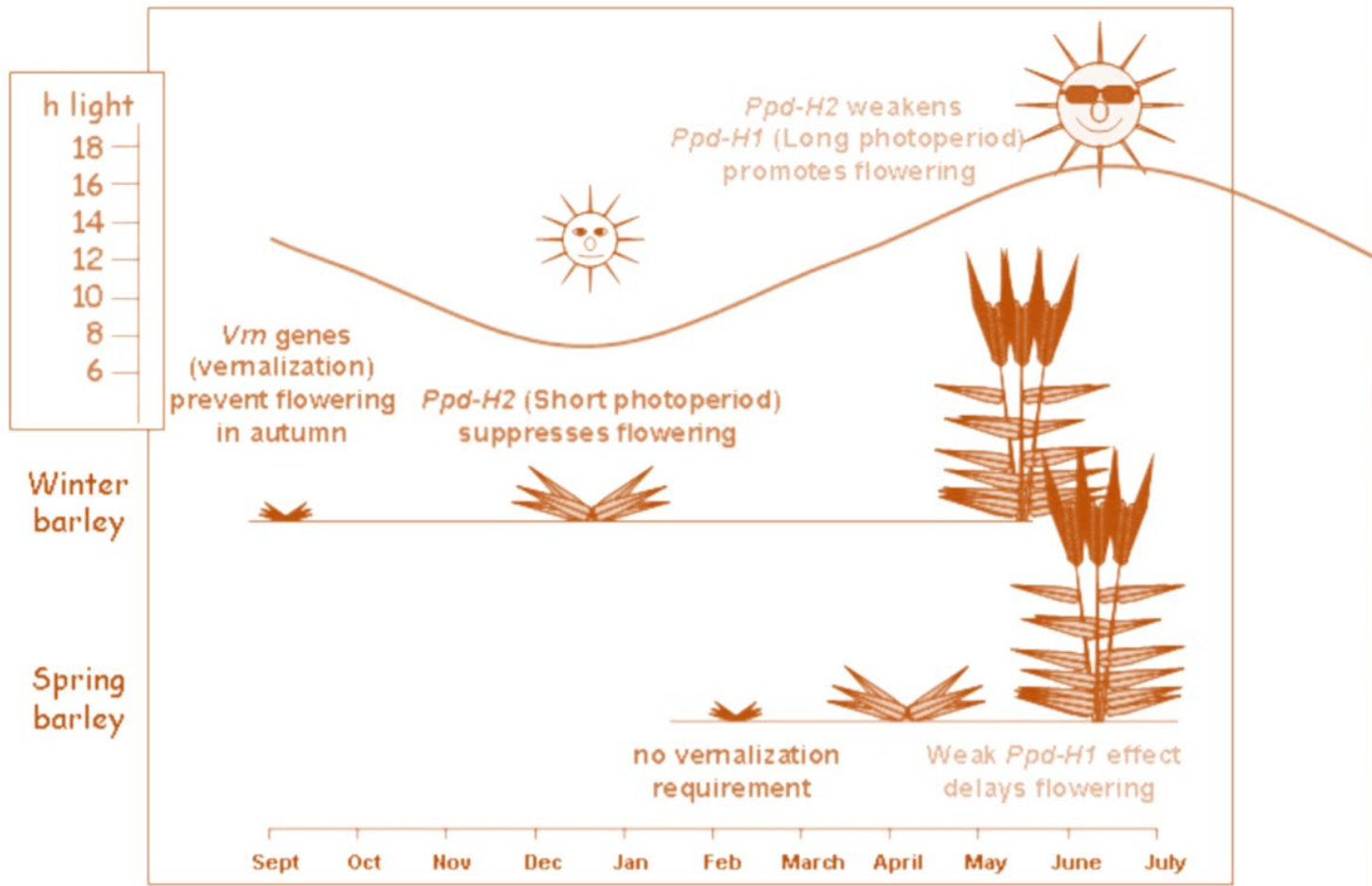
sono presenti nei frumenti moderni

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

Con il gene Rht-B1b fu possibile descrivere un nuovo ideotipo di pianta, basato sull'Harvest Index ($HI = \text{biomassa utile} / \text{biomassa totale}$). Di fatto la potenzialità di biomassa totale non è cambiata tra i genotipi non dwarf e dwarf. È solo cambiato l'HI e ciò dimostra che tutta la genetica dei dwarf ha migliorato la relazione source sink ed ha equilibrato il rapporto assorbimento/fotosintesi e trasporto/accumulo nei siti definitivi dei fotosintati.

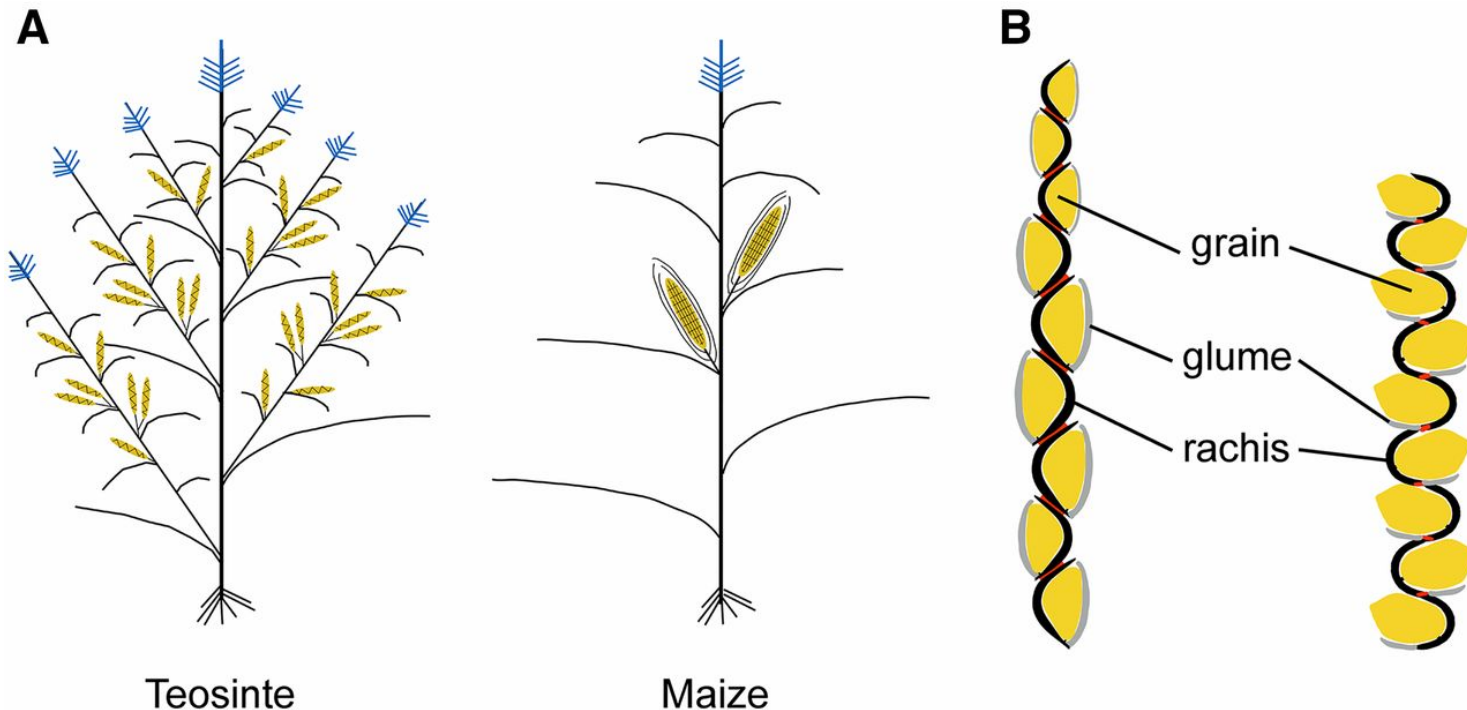
nel riso il gene GS3 limita la proliferazione cellulare (Fan et al. 2006), mentre GS5 e GW8 hanno un effetto positivo sulla larghezza delle cariossidi (Yan et al. 2011; Huang et al. 2012)

ruolo di regolatore negativo della divisione cellulare svolto dal gene *TaGW2* in *Triticum aestivum*

Differenza nelle dimensioni dei semi di cinque varietà di frumento (SC Sichuandali, LK Lankaodali, Wm Wanmai 38, CS Chinese Spring, MX Mingxian 169) (Yang *et al.* 2012).



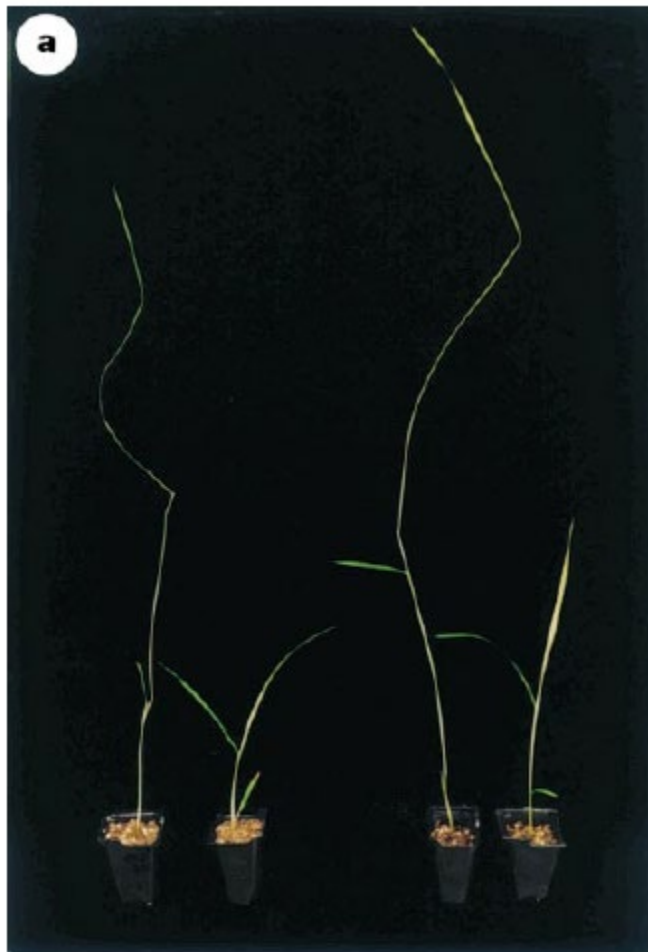
Una profonda modifica dell'architettura della pianta e della morfologia della spiga del mais è stata causata dal gene Teosinte branch1 (Tb1) che controlla lo sviluppo delle gemme laterali, determinando nel progenitore selvatico del mais (il teosinte) lunghe ramificazioni laterali terminanti con una infiorescenza maschile e numerosi germogli basali, caratteristiche assenti nel mais coltivato . Tb1 codifica per un fattore trascrizionale che agisce da repressore dello sviluppo dei germogli laterali, imponendo una dominanza apicale.



Meccanismo di azione delle gibberelline

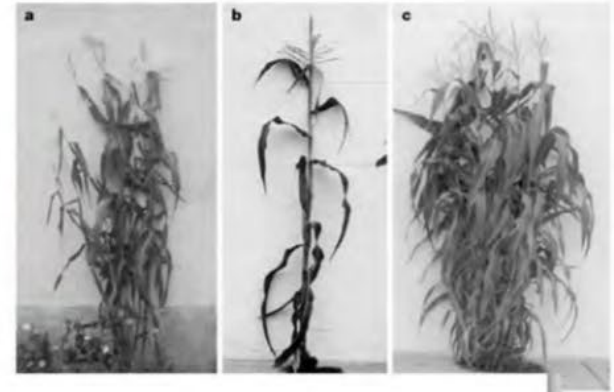
- Promozione della crescita del fusto
(meristema intercalare del riso di acqua profonda)
- Degradazione dell'amido nell'endosperma
(germinazione dei cereali)

Piante di riso che esprimono il gene *GAI* di *Arabidopsis* sono nane



Tomato - Fewer and larger fruits

Corn – reduced fruitcase, softer glume, more kernels per cob, no dispersal, reduced branching, apical dominance



Domestication genes in plants

Gene(s)	Crop	Molecular and Phenotypic Function	Controls Phenotype ²	Selection Evidence ³	Causative Change
Genes Identified as Controlling Domestication Traits					
tb1	Maize	Transcriptional regulator (TCP); plant and inflorescence structure	Yes	Yes	regulatory change
tga1	Maize	Transcriptional regulator (SBP); seed casing	Yes	Yes	amino acid change
qSH1	Rice	Transcriptional regulator (homeodomain); abscission layer formation, shattering	Yes	N.T.	regulatory change
Rc	Rice	Transcriptional regulator (bHLH); seed color	Yes	N.T.	disrupted coding sequence
sh4	Rice	Transcriptional regulator (Myb3); abscission layer formation, shattering	Yes	N.T.	regulatory/amino acid change
fw2.2	Tomato	Cell signaling; fruit weight	Yes	N.T.	regulatory change
Q	Wheat	Transcriptional regulator (AP2); inflorescence structure	Yes	N.T.	regulatory/amino acid change

Alcuni tipi di riso



Conventional plant type

**high-yielding
high-tillering**

'Super Rice'

Semidwarf (*sd-1*), “green revolution” rice, contains a defective gibberellin 20-oxidase gene

Wolfgang Spielmeier^{*†}, Marc H. Ellis^{*}, and Peter M. Chandler

Division of Plant Industry, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, GPO Box 1600, Canberra ACT 2601, Australia

PNAS 2002, 99:9043

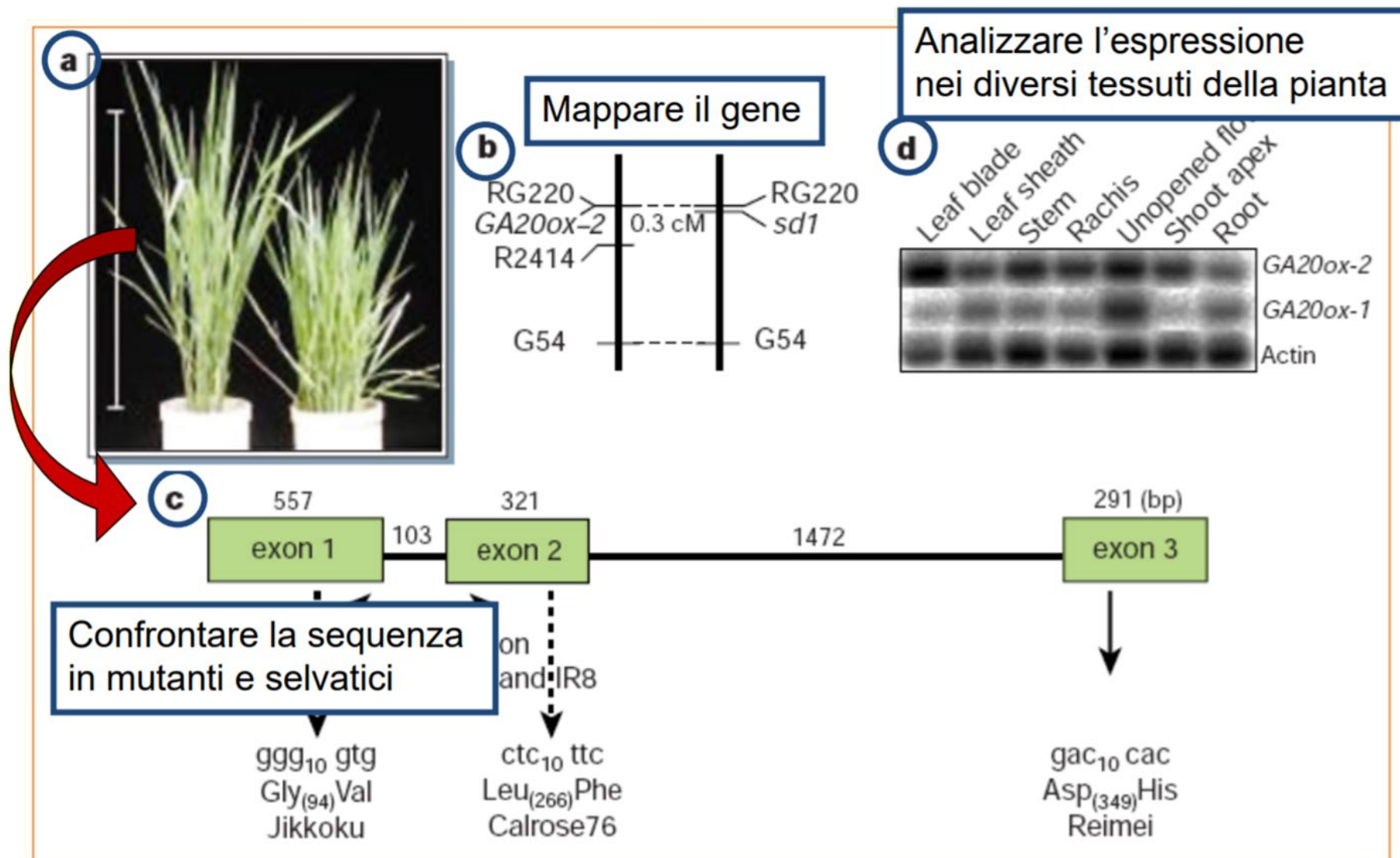
A mutant gibberellin-synthesis gene in rice

New insight into the rice variant that helped to avert famine over thirty years ago.

Sasaki et al., Nature 2002, 416:701

- Piante *sd1* recuperano statura normale se trattate con GA
- Accumulano l'intermedio GA53, ma hanno bassi livelli di GA20
- La conversione di GA53 in GA20 è catalizzata dall'enzima GA20 ossidasi (GA20ox)...

Sd1 codifica per GA20ox-2?



Mutanti semi-dwarf (sd-1)

Mutazioni indipendenti:

delezione di 280 bp all'interno della regione codificante (codifica per una proteina non funzionale) in *O. indica*

sostituzione di un a.a.determina la perdita di funzione in *O. japonica*

I geni della rivoluzione verde

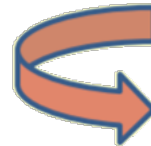
GAI

Repressore trascrizionale

(regola negativamente la risposta alle GA)

Wild-type **GA** → media la fosforilazione e degradazione del prodotto genico di GAI

mutante dwarf **GA** → Non avviene la degradazione di GAI (la GA non riconosce GAI) ed i geni inducibili da GA sono repressi



è una **gain of function** mutation

GAI mutato non risponde al segnale delle GA e reprime i geni responsabili dell'altezza

In frumento, mais e orzo mutanti nani con mutazioni puntiformi o piccole delezioni in GAI

Non rispondono alla GA (endogena o esogena)

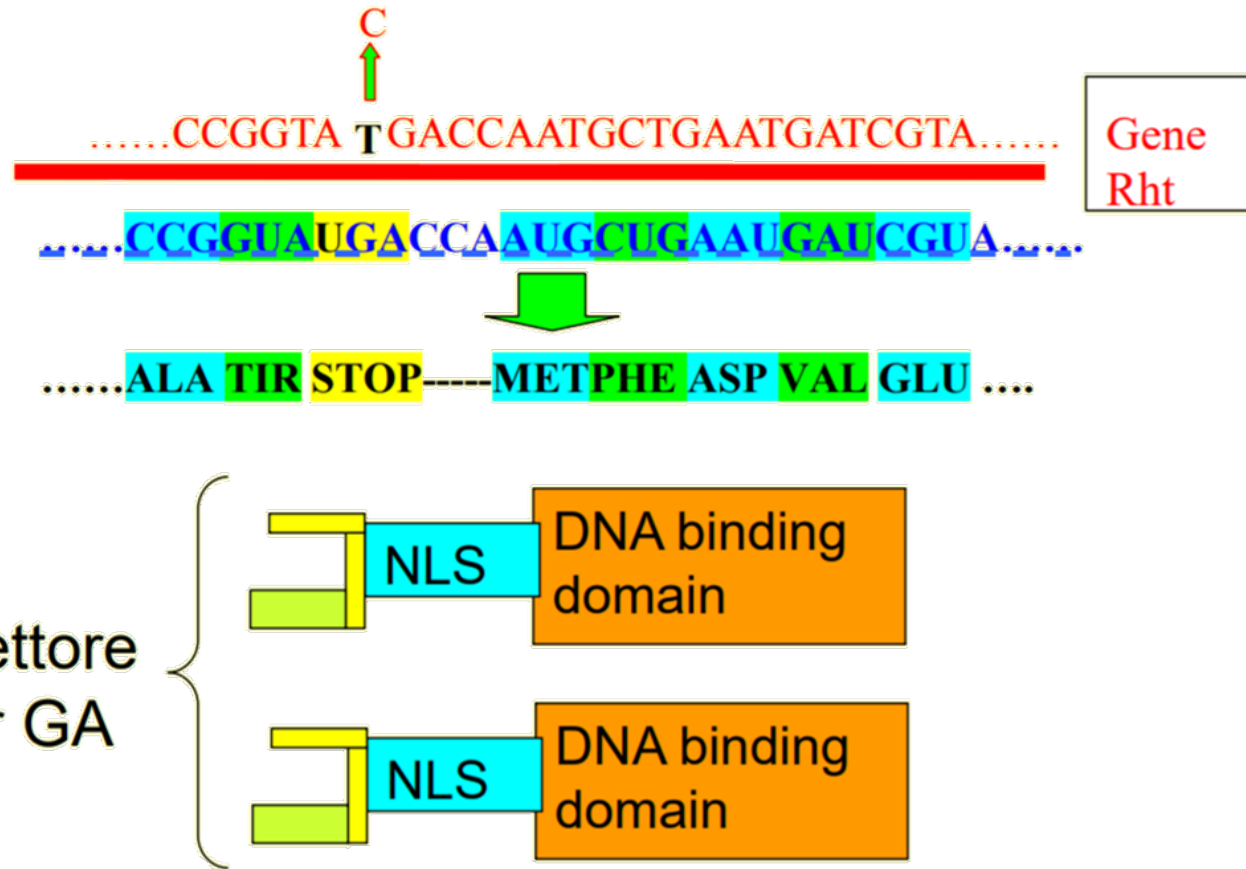
Mutanti simili a gai:

<i>rht-B1b</i>	(frumento nano)	★
<i>rht-D1b</i>	(frumento nano)	★
<i>slr1-1</i>	(riso nano)	★
Sln	(in orzo)	★
d8	(in mais)	★

★ Mutanti della green revolution

★ Geni e mutanti di possibile valore

Esempio di mutazione nel gene Rht di frumento



La mutazione porta alla mancata traduzione della regione N-terminale della proteina che funziona da recettore per la GA. ➡

le piante sono insensibili alla GA e sono ridotte in altezza (Rht: reduced height)

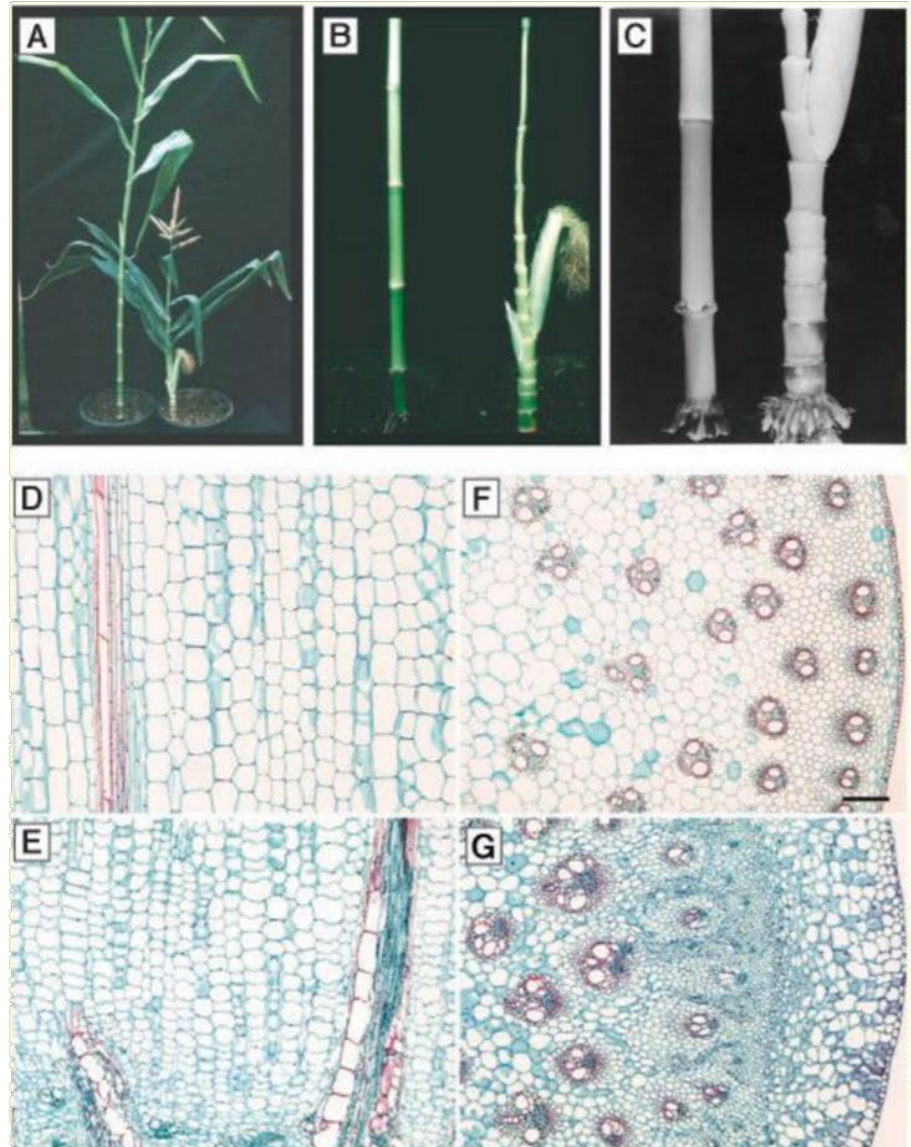
Un altro esempio

La mutazione Brachytic2 (br2) in
mais e sorgo

È alterato il trasporto polare delle
auxine

MDR transporter

P-GP modulano il trasporto dell'auxina





Un altro esempio

Dw3 in sorgo

Sorgo simile al mais

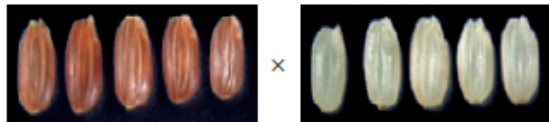
Ormoni e architettura della pianta

necessità di conoscere la funzione genica e le interazioni dei prodotti genici per migliorare le varietà

- ◇ Approfondire l'apparato radicale
- ◇ Migliorare la distribuzione degli assimilati
- ◇ Aumentare l'efficienza fotosintetica

IDENTIFICAZIONE DI GENI COINVOLTI NELL'ADDOMESTICAMENTO

a Discovery of domestication mutations that alter rice bran colour through fine mapping



Genetic mapping of the red bran trait provides a general location of the *Rc* locus

Fine mapping localizes *Rc* to a bHLH gene

Sequence analyses of 440 individual cultivars identify distinct *Rc* haplotypes, including a predominant 14-bp deletion

b Candidate domestication-related genes discovered through resequencing

Whole-genome resequencing of many domesticated rice cultivars and *Oryza rufipogon* plants

Selective-sweep mapping

Identify regions with significantly reduced diversity or high F_{ST} in domesticated rice but not in wild rice

Identify alleles that are fixed in cultivars

Near-complete fixation found in an unannotated gene, *09G0547100*

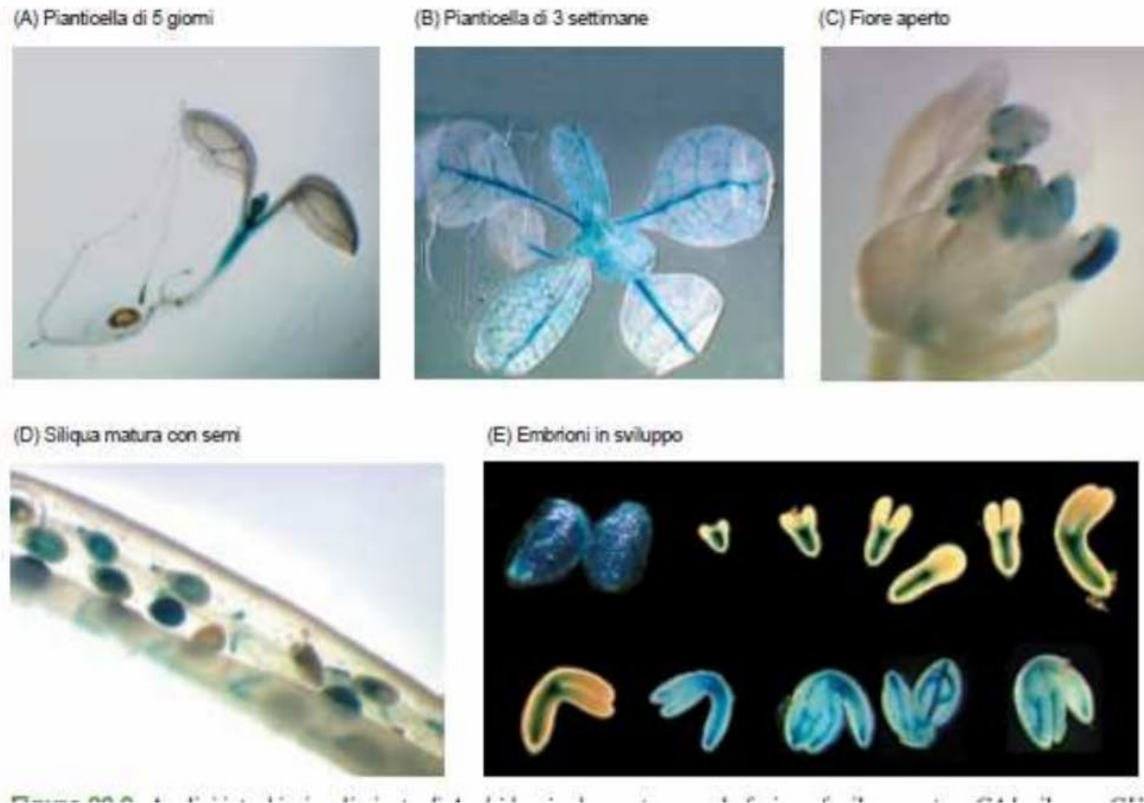
GWASs

Generate a SNP map and phenotype data

Identify SNPs that are associated with grain width in a mixed linear model

High minor allele frequencies found in two SNPs: one in a known grain width locus and one in an unknown gene

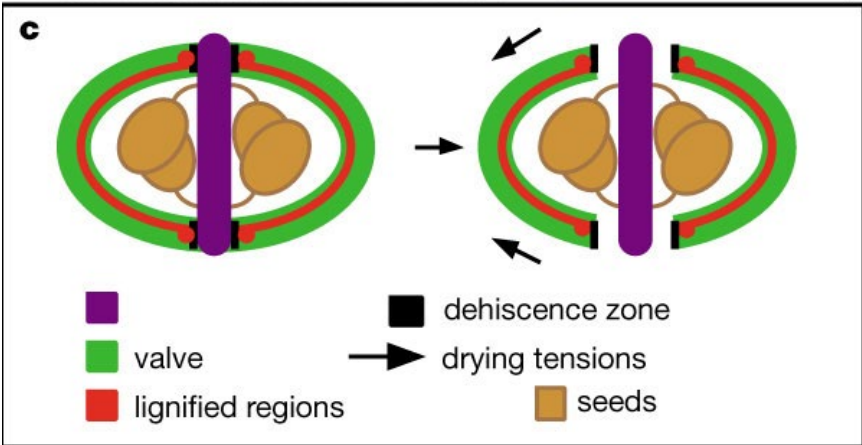
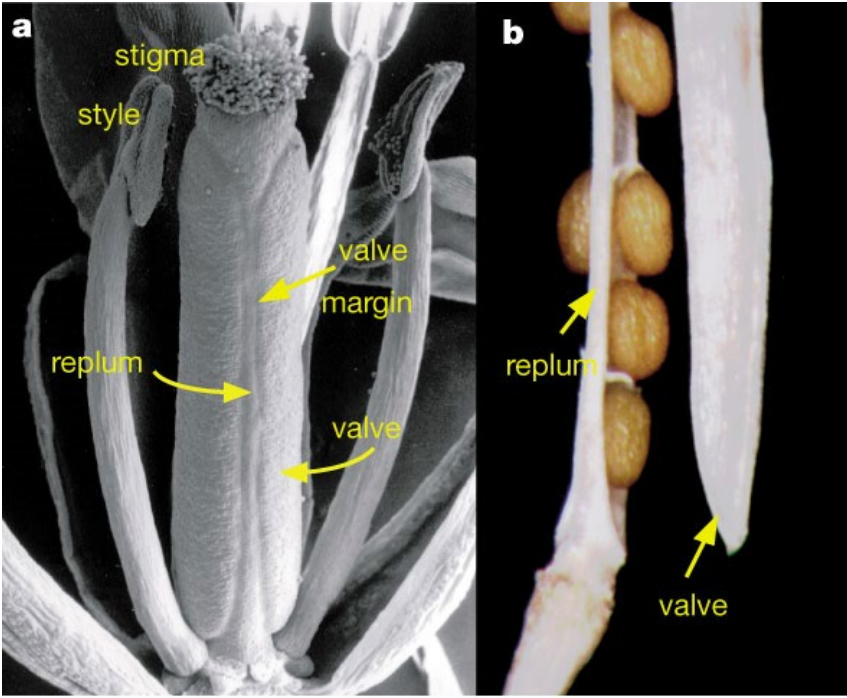
La biosintesi di GA avviene in molti tessuti e in tutti gli stadi di vita della pianta



Gene reporter: GA1::GUS

GA1 codifica per il promotore di CPS il primo enzima nella biosintesi delle GA

Deiscenza del frutto in *Arabidopsis thaliana*



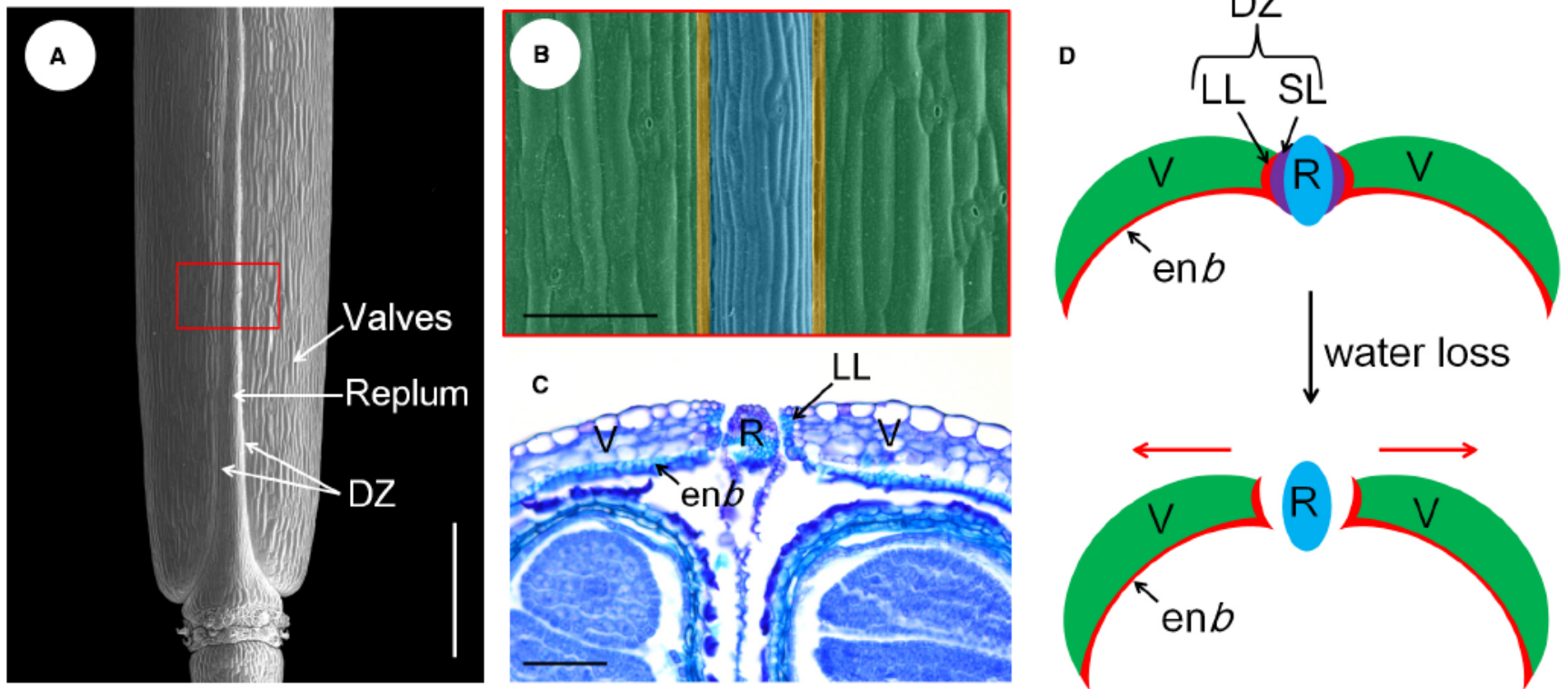
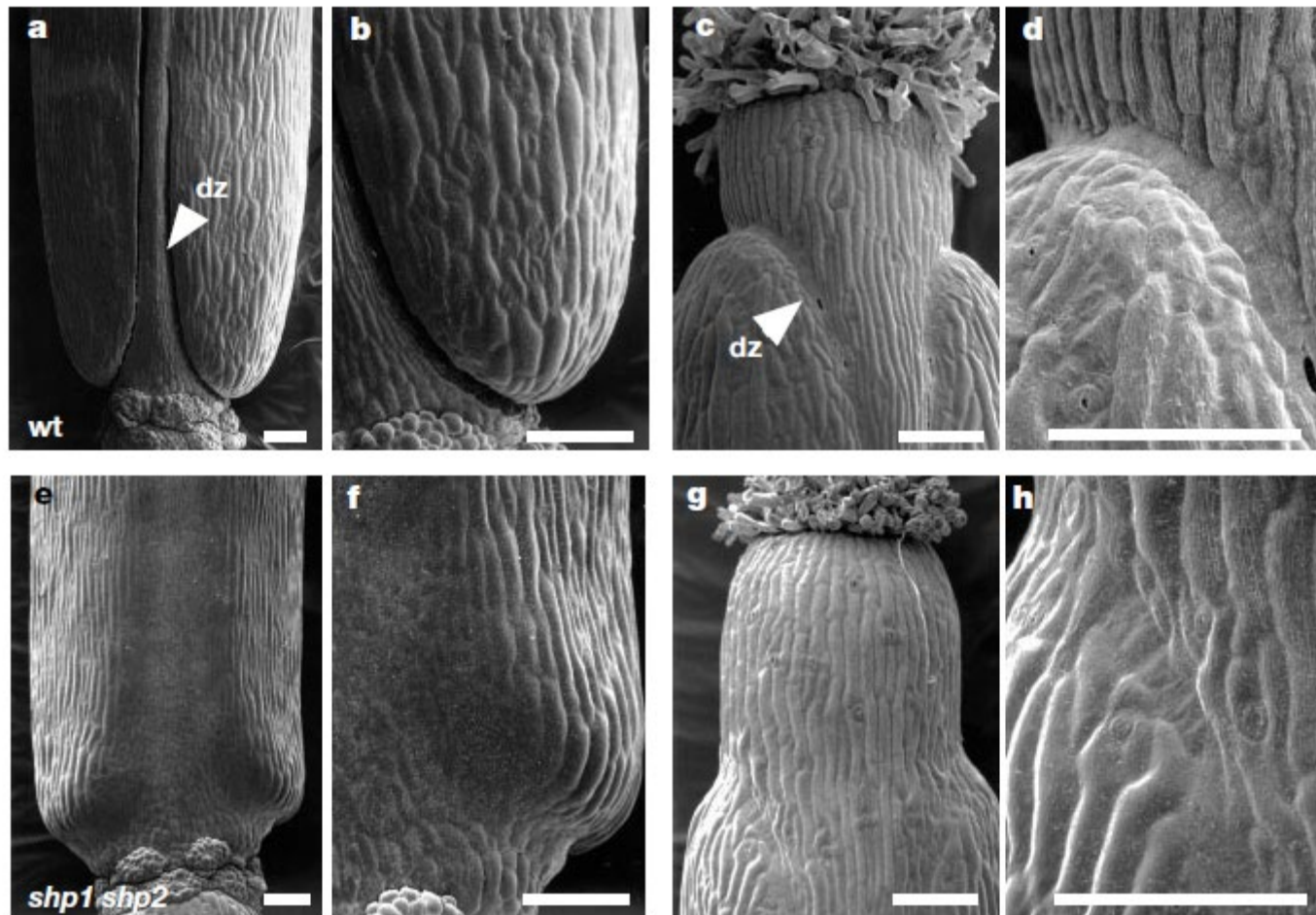
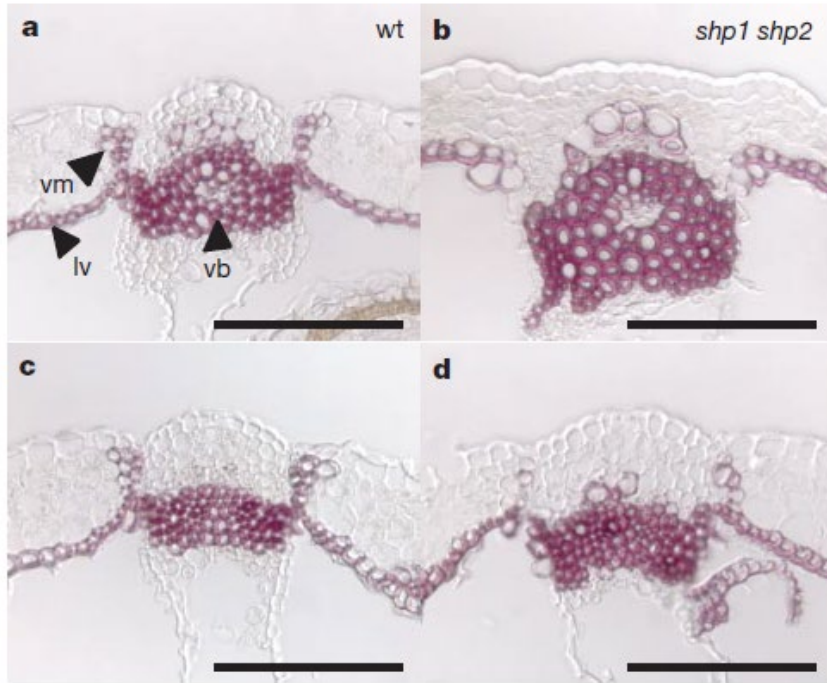


FIGURE 1 | Tissue organization and pod dehiscence process of the *Arabidopsis* fruit. (A) Scanning electron microscopic (SEM) micrograph of a mature silique, the different parts are indicated. **(B)** A close-up view of the red boxed area shown in **(A)**, the valve, DZ, and replum are shaded with green, yellow, and blue color, respectively. **(C)** transversal section of the ovary region of a mature silique showing the

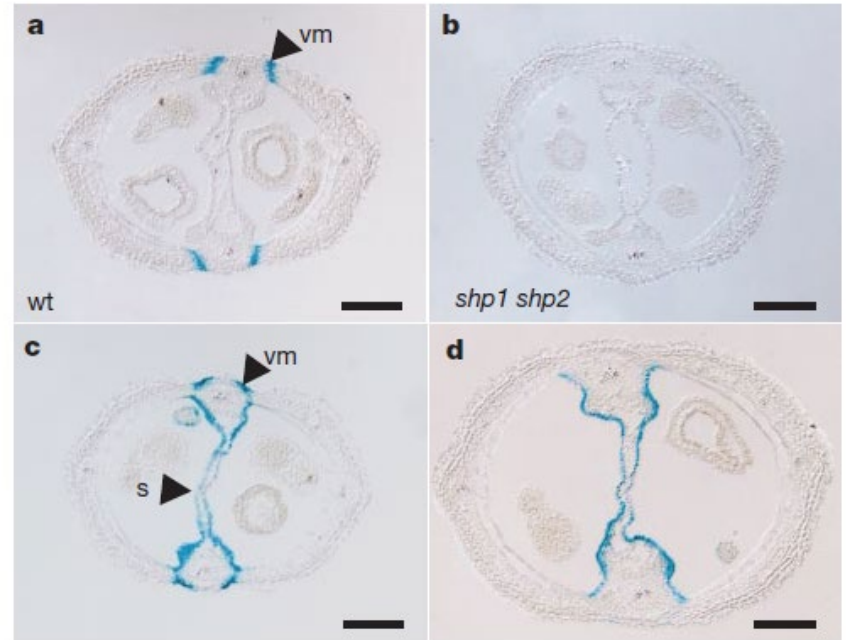
SL has already been disintegrated and the silique opens from the replum. **(D)** Models for the pod dehiscence process of *Arabidopsis*, not to scale. The red arrows indicate the mechanical force generated in the valves. DZ, dehiscence zone; *enb*, endocarp *b* layer; LL, lignified layer; R, replum; SL, separation layer; V, valves. Scale bars in **(A)**, 1.5 mm; **(B,C)**, 80 μ m.



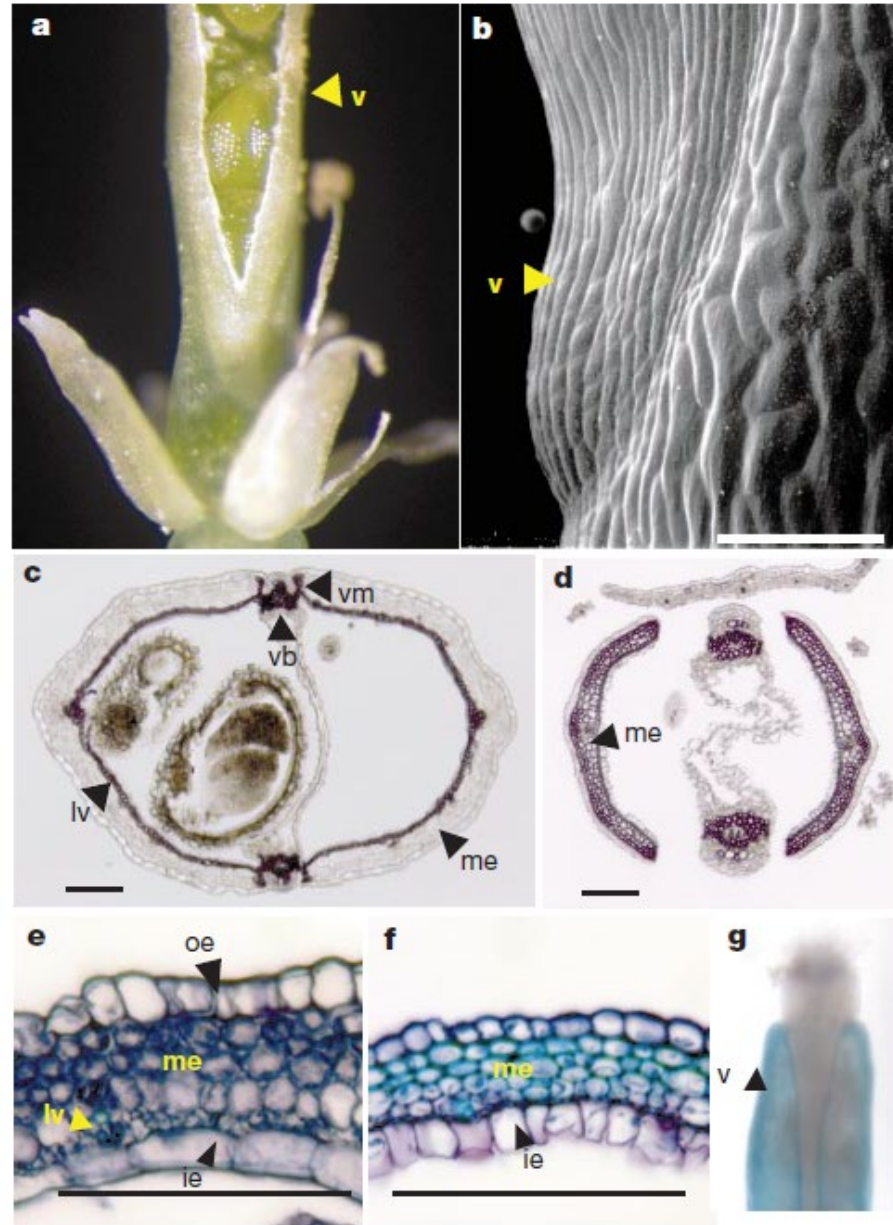
Lignificazione della zona di deiscenza



Espressione di geni marcatori



Sovraespressione ectopica di SHP1 ed SHP2



ARTICLE

Received 15 Jul 2013 | Accepted 30 Jan 2014 | Published 19 Feb 2014

DOI: [10.1038/ncomms4352](https://doi.org/10.1038/ncomms4352)

Pod shattering resistance associated with domestication is mediated by a NAC gene in soybean

Yang Dong^{1,2}, Xia Yang¹, Jing Liu^{1,2}, Bo-Han Wang^{1,2}, Bo-Ling Liu¹ & Yin-Zheng Wang¹

Table 1 | Summary of nucleotide diversity of the candidate gene in *G. max* and *G. soja*.

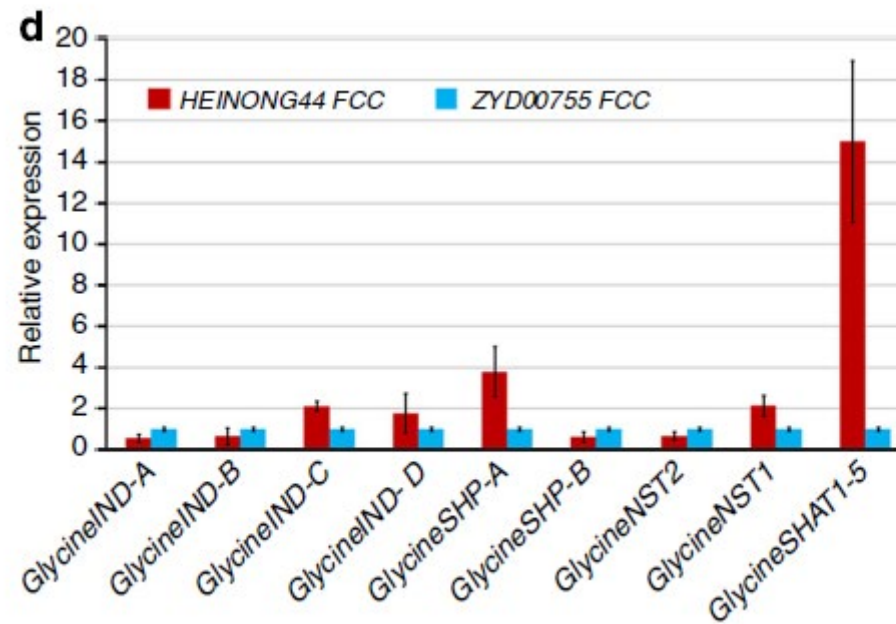
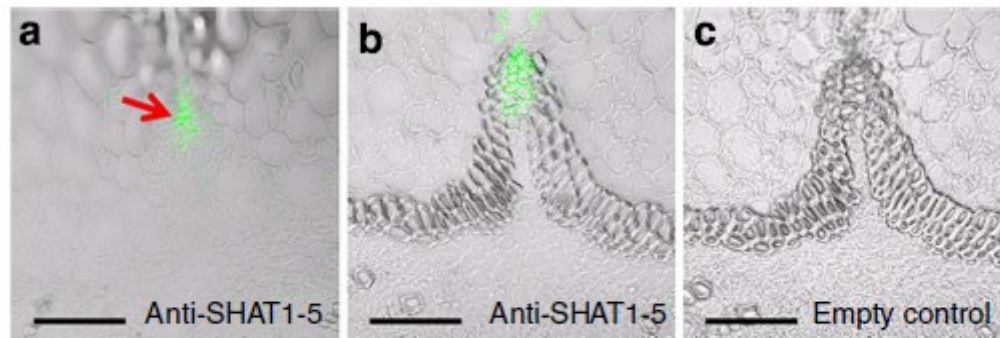
Gene loci	<i>Arabidopsis thaliana</i> homologous	Sequence used for analysis	Length (bp)	<i>Glycine max</i>				<i>Glycine soja</i>				$\pi_{Gm}/\pi_{Gs}^{ }$
				n^*	N^\dagger	θ^\ddagger	π^\S	n^*	N^\dagger	θ^\ddagger	π^\S	
<i>Glyma05g32410</i> (<i>GlycineIND-A</i>)	INDEHISCENT	5' promoter	689	22	1	0.40	0.70	15	3	1.34	0.88	80%
<i>Glyma08g16570</i> (<i>GlycineIND-B</i>)	INDEHISCENT	5' promoter	1,051	9	4	1.40	1.20	11	5	1.63	1.45	83%
<i>Glyma04g39210</i> (<i>GlycineIND-C</i>)	INDEHISCENT	3' flanking sequence	709	23	0	0.00	0.00	13	3	1.36	1.27	0%
<i>Glyma06g15730</i> (<i>GlycineIND-D</i>)	INDEHISCENT	3' flanking sequence	916	23	5	1.48	1.38	16	7	2.30	1.85	75%
<i>Glyma08g42300</i> (<i>GlycineSHP-A</i>)	SHATTERPROOF1/2	Intron 1	901	21	5	1.56	1.01	15	5	1.73	2.46	41%
<i>Glyma18g12590</i> (<i>GlycineSHP-B</i>)	SHATTERPROOF1/2	Intron 1	611	18	7	3.34	1.92	13	11	6.34	3.64	53%
<i>Glyma14g09230</i> (<i>GlycineALC-A</i>)	ALCATRAZ	Intron 3	1,034	24	3	0.78	0.59	17	6	1.72	1.49	40%
<i>Glyma17g35950</i> (<i>GlycineALC-B</i>)	ALCATRAZ	Intron 3	882	20	15	5.12	4.44	15	15	5.23	4.92	90%
<i>Glyma19g44910</i> (<i>GlycineNST2</i>)	NST1/2	3' flanking sequence	825	11	2	0.83	1.33	13	5	1.96	2.15	62%
<i>Glyma07g05660</i> (<i>GlycineNST1</i>)	NST1/2	3' flanking sequence	1,148	20	9	2.21	1.33	17	13	3.35	3.74	35%
<i>Glyma16g02200</i> (<i>GlycineSHAT1-5</i>)	NST1/2	3' flanking sequence	1,207	23	0	0.00	0.00	17	13	3.19	1.94	0%
<i>Glyma10g17550</i> (<i>GlycineEndo-PG</i>)	Endopolygalacturonases	5' promoter	1,084	7	2	0.75	1.05	14	6	1.74	1.15	91%
<i>Glyma13g07220</i> (<i>neutral gene</i>)	Beta-glucan-elicitor receptor	5' promoter	1,000	21	2	0.56	0.42	17	6	1.14	0.94	45%
<i>Glyma13g17830</i> (<i>neutral gene</i>)	SUB1-2 gene for ubiquitin	5' promoter + 5' UTR	793	23	6	2.03	1.76	17	13	4.94	3.29	53%
<i>Glyma19g33520</i> (<i>neutral gene</i>)	Exoribonuclease complex 4	3' flanking sequence	698	24	5	1.72	1.65	16	11	4.75	3.47	48%

*Total number of sequences.

†Total number of SNPs.

‡Watterson's estimator of θ per site was calculated based on the total number of segregating sites, values are $\theta \times 10^3$.§Average pairwise differences per site between sequences, values are $\pi \times 10^3$.

||The relative genetic diversity between cultivated soybean (Gm) and wild soybean (Gs), values are manifested by percentage.



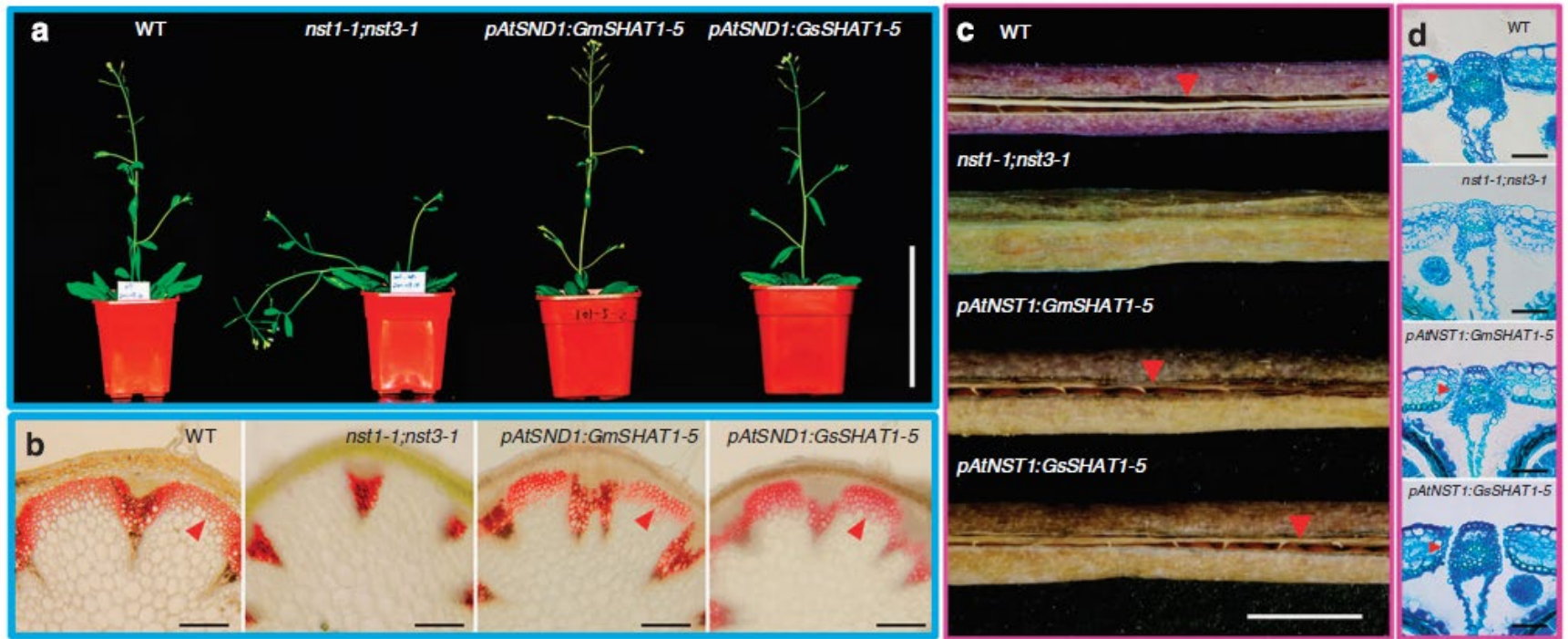
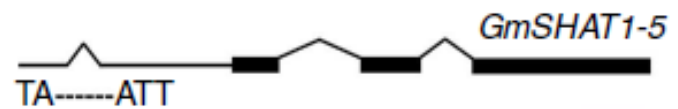
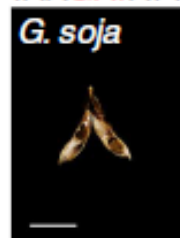
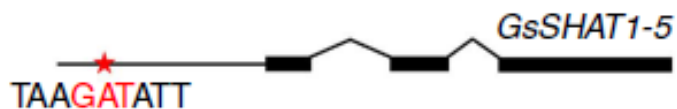
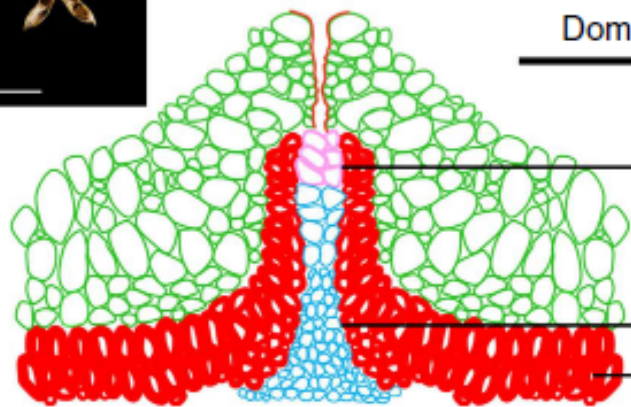


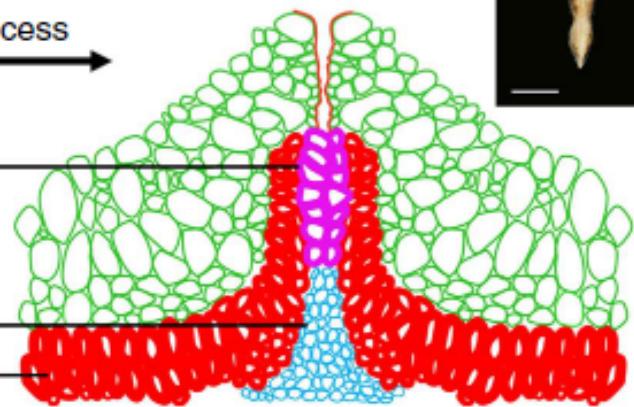
Figure 3 | Functional analysis of *GlycineSHAT1-5* in *Arabidopsis nst1-1;nst3-1* mutant. (a) Expression of *GmSHAT1-5*/*GsSHAT1-5* under control of *AtSND1* promoter effectively restores mutants to erect stem. (b) Anatomical analysis reveals that the specific expression of *GmSHAT1-5*/*GsSHAT1-5* under control of *AtSND1* promoter can activate secondary cell wall deposition in the stem interfascicular fibres (red triangles) of *nst1-1;nst3-1* mutant. (c) Expression of *GmSHAT1-5*/*GsSHAT1-5* under control of *AtNST1* promoter effectively restores the indehiscent fruit phenotype of *nst1-1;nst3-1* mutant (red triangles). (d) Anatomical analysis reveals that the specific expression of *GmSHAT1-5*/*GsSHAT1-5* under control of *AtNST1* promoter rescues the indehiscent fruit by activating secondary wall thickening in the valve margins and endocarps (red triangles) of *nst1-1;nst3-1* mutant. Scale bars in (a), 10 cm; (b), 70 μ m; (c), 500 μ m; (d), 40 μ m.



Domestication process
 ~5,000 years



Glycine soja



Glycine max

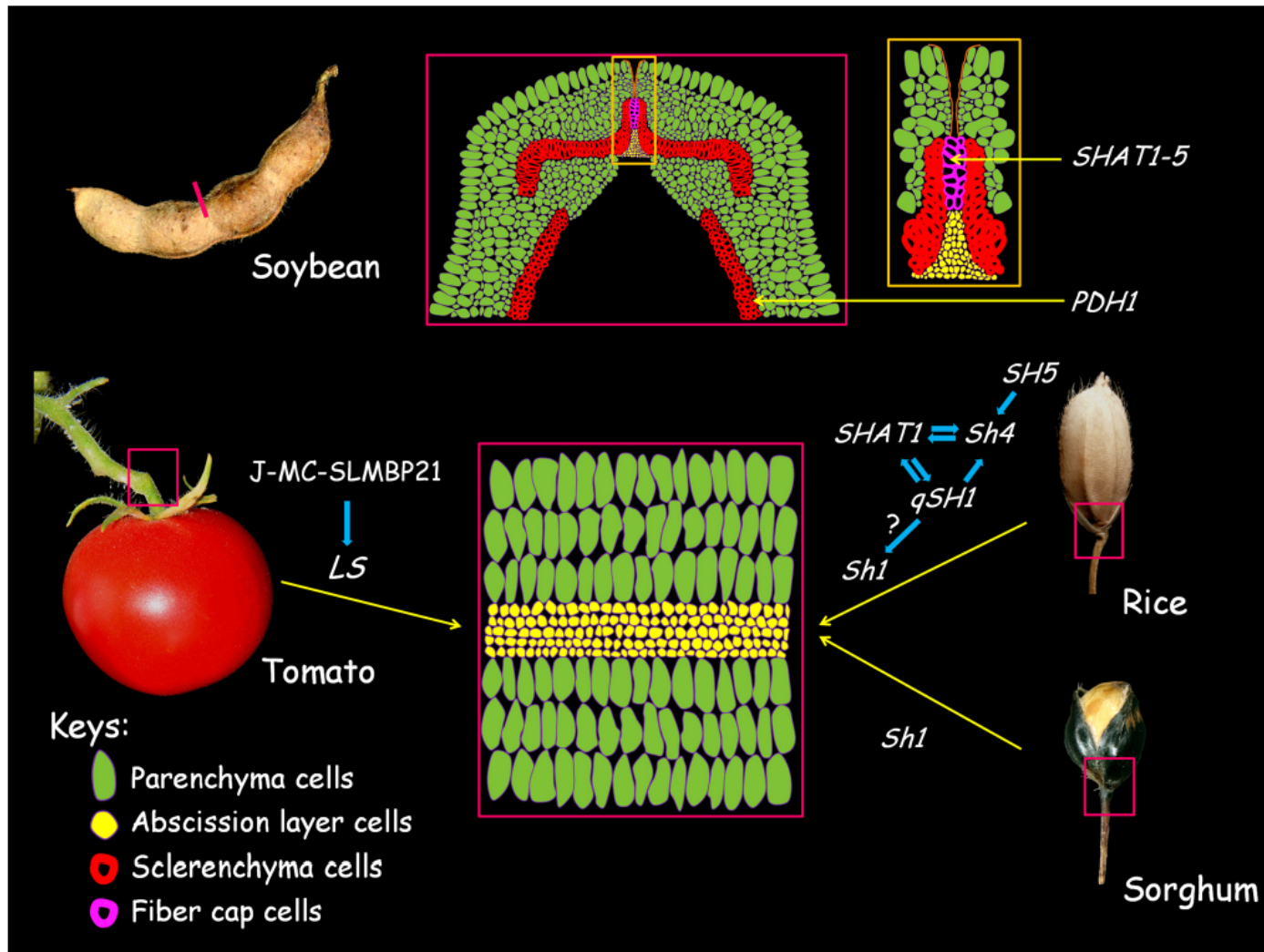
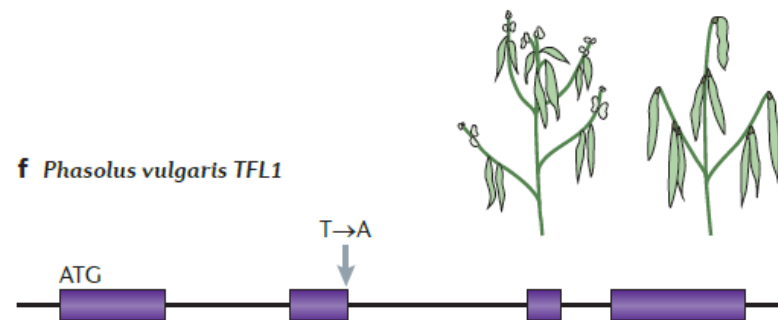
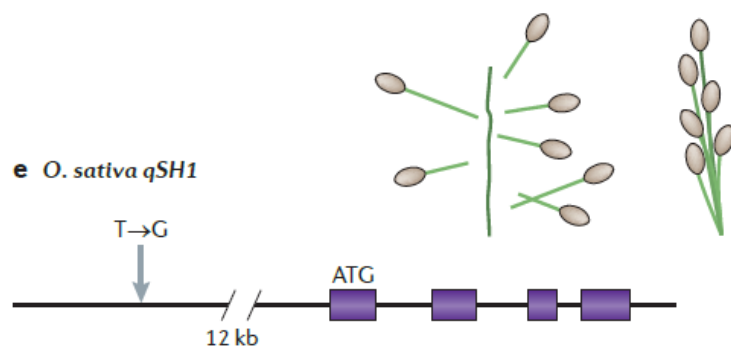
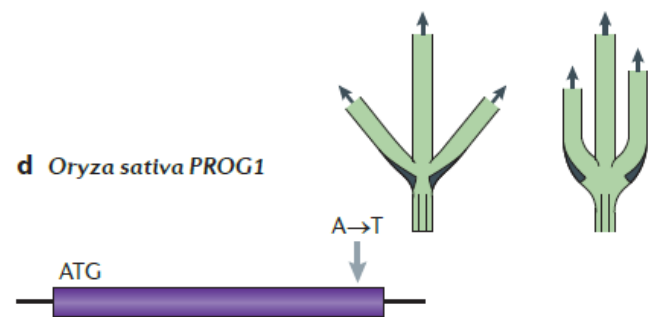
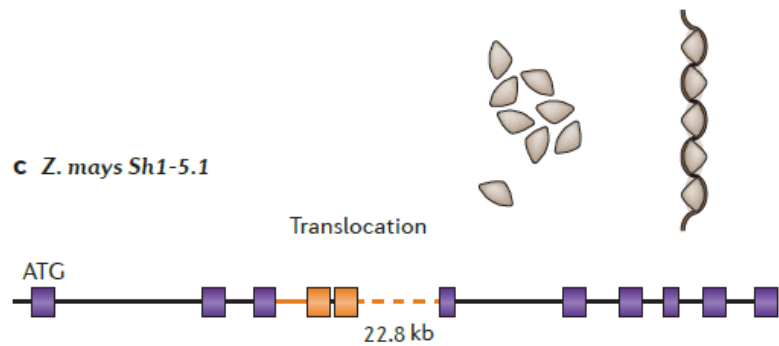
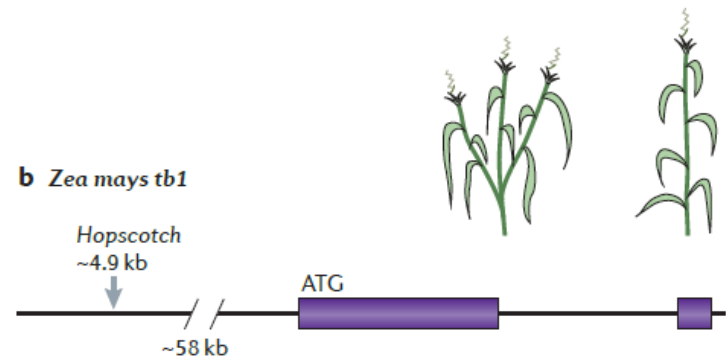
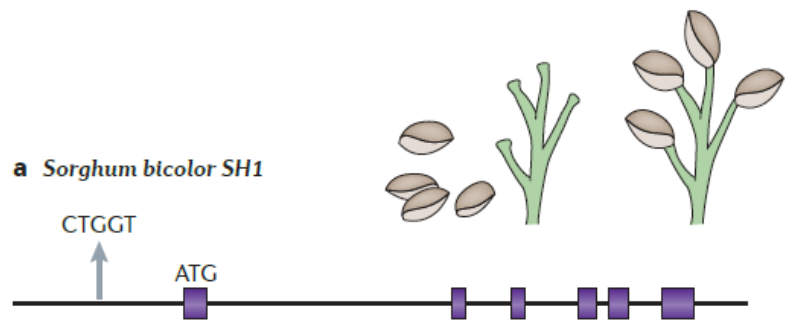


FIGURE 3 | Cellular basis of seed shattering in crops. In soybeans, the loss of pod dehiscence is caused by the excessive lignification of the fiber cap cells (FCCs) and cell wall modification of the inner sclerenchyma cells in the pod valves (upper panel). The middle cartoon of the upper panel shows the transverse section of the pod ventral sutures with the yellow box shows the enlarged photo of the FCC and abscission layer. The loss of fruit shedding and seed shattering

are due to the malfunction of the abscission zone (AZ) development of the pedicles (lower panel). The cartoon in the middle represents a transversal section of the AZ region as boxed in tomato, sorghum, and rice; genes with possible functional relationships that are involved in the AZ development in respective species are shown. The positive relationships between genes were shown by blue arrows. The figures and cartoons are not to scale.



Il pomodoro



La domesticazione del pomodoro è avvenuta nell'area messicana dell'America tropicale nella quale esisteva un'ampia variabilità di forme e colori della bacca, conseguenza di un alto grado di eterozigosi per la presenza di numerosi insetti impollinatori e variabile estrusione dello stigma. Pertanto le popolazioni precolombiane hanno potuto scegliere e riprodurre piante con mutazioni a carico della forma, delle dimensioni, della pigmentazione e della commestibilità (perdita di alcaloidi) della bacca, nonché di una maggiore autofertilità dovuta a una più idonea struttura fiorale. Per questo motivo il Messico è considerato, oltre che il probabile centro di domesticazione, anche il centro di diversificazione primario del pomodoro coltivato. In Messico si è realizzata la prima epoca del miglioramento del pomodoro, che ha interessato essenzialmente la forma e le dimensioni del frutto. L'aumento delle dimensioni dei loculi ha portato a bacche di forma allungata, mentre l'aumento del loro numero ha determinato forme sferiche e appiattite, di dimensioni anche notevoli, dotate o meno di costolature.

Anche in specie orticole è stato molto evidente l'effetto delle mutazioni su caratteristiche fondamentali dell'architettura della pianta e qualità dei frutti. In pomodoro, significativi sono stati gli effetti di alcuni geni, tra cui self proning, che trasforma lo sviluppo della pianta da indeterminato (ininterrotta crescita dell'apice vegetativo) a determinato (la crescita dell'apice vegetativo viene bloccata, ottenendo piante a sviluppo contenuto) e jointless, che controlla il sistema di disarticolazione della bacca dal peduncolo.

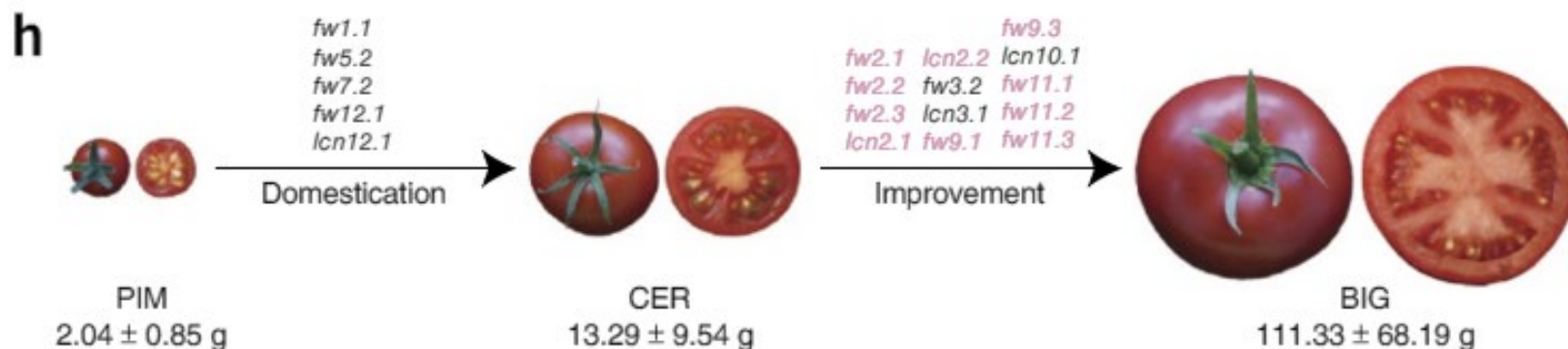
Il gene *sp*, è comparso spontaneamente in Florida nel 1914, determina un arresto spontaneo della crescita durante il ciclo, che porta all'ottenimento di piante con internodi raccorciati e con un numero maggiore di infiorescenze a maturazione contemporanea. La possibilità, poi, di avere una facile abscissione delle bacche dal peduncolo (carattere jointless) (Rick e Sawant, 1955) ha permesso di accorciare i tempi di raccolta, con conseguente riduzione dei costi/ettaro

La bacca di pomodoro può assumere una varietà di colorazioni, che vanno dal giallo pallido al viola intenso, sino alla più recente scoperta dei mutanti a bacca nera: responsabili di questo fenomeno sono mutazioni in geni singoli, quali yellow flesh (giallo), dark green (rosso intenso), green flesh (viola), u (uniformemente verde).



Il pomodoro (*Solanum lycopersicum*) ha una distribuzione mondiale ed è considerato la principale coltura vegetale, con un rendimento globale di 162 milioni di tonnellate nel 2012 (statistiche dell'Organizzazione delle Nazioni Unite per l'alimentazione e l'agricoltura (FAO)) e un valore netto di oltre \$ 55 miliardi . Il pomodoro è anche un importante sistema modello. Rappresenta la pietra angolare della ricerca biologica e del miglioramento genetico di tutte le solanacee. Il pomodoro e i suoi parenti selvatici provengono dalla regione andina del Sud America. Il pomodoro ciliegia (*S. lycopersicum* var. *Cerasiforme*) è considerato il probabile antenato del pomodoro a frutto grosso ed è stato probabilmente addomesticato dalla specie selvatica a frutto rosso *Solanum pimpinellifolium* . I pomodori furono portati in Europa dai conquistatori nel XVI secolo, e la successiva migrazione e la continua selezione ridussero la diversità genetica di questa coltura. Per migliorare ulteriormente le prestazioni delle moderne cultivar di pomodoro, i genomi del pomodoro selvatico sono stati deliberatamente introdotti nelle cultivar d'élite. Tuttavia, come la selezione umana abbia cambiato il genoma del pomodoro rimane in gran parte sconosciuta.

Evoluzione in due fasi della grandezza del frutto. È noto che gli indigeni delle Ande hanno addomesticato la quinoa, il fagiolo di Lima, l'arachide, la patata, la patata dolce e la zucca. Probabilmente hanno anche conservato e diffuso semi di piante di pomodori selvatici con frutti più grandi e gustosi. La grandezza del frutto è il tratto chiave della selezione umana nel pomodoro, poiché influenza sia la resa che la qualità. I frutti tipici delle linee PIM sono piccoli e hanno una buccia spessa, un pericarpo sottile e un alto contenuto di semi. Studi precedenti sulla separazione delle popolazioni dagli incroci tra accessioni PIM e BIG hanno identificato più QTL per la grandezza dei frutti, inclusi diversi geni clonati. Tuttavia, se questi QTL e geni sono stati selezionati durante l'addomesticamento o il miglioramento rimane ancora non chiaro.



***fw2.2*: A Quantitative Trait Locus Key to the Evolution of Tomato Fruit Size**

**Anne Frary,^{1*} T. Clint Nesbitt,^{1*} Amy Frary,^{1†}
Silvana Grandillo,^{1‡} Esther van der Knaap,¹ Bin Cong,¹
Jiping Liu,¹ Jaroslaw Meller,² Ron Elber,² Kevin B. Alpert,¹
Steven D. Tanksley^{1§}**

Domestication of many plants has correlated with dramatic increases in fruit size. In tomato, one quantitative trait locus (QTL), *fw2.2*, was responsible for a large step in this process. When transformed into large-fruited cultivars, a cosmid derived from the *fw2.2* region of a small-fruited wild species reduced fruit size by the predicted amount and had the gene action expected for *fw2.2*. The cause of the QTL effect is a single gene, *ORFX*, that is expressed early in floral development, controls carpel cell number, and has a sequence suggesting structural similarity to the human oncogene *c-H-ras p21*. Alterations in fruit size, imparted by *fw2.2* alleles, are most likely due to changes in regulation rather than in the sequence and structure of the encoded protein.

Table 1. *Genes selected during domestication and varietal improvement of tomato and pepper*

Locus	Chromosome	Crop	Trait	Function/underlying gene	Reference
<i>fw2.2</i>	2	Tomato	Fruit weight	Regulation of cell division	Frary <i>et al.</i> , 2000
<i>ovate</i>	2	Tomato	Fruit shape	Negative regulation of plant growth	Liu <i>et al.</i> , 2002
<i>r</i>	3	Tomato	Fruit colour	Phytoene synthase1	Fray and Grierson, 1993
<i>Delta</i>	12	Tomato	Fruit colour	Lycopene δ -cyclase	Ronen <i>et al.</i> , 1999
<i>tangerine</i>	10	Tomato	Fruit colour	Carotenoid isomerase	Isaacson <i>et al.</i> , 2002
<i>Beta</i>	6	Tomato	Fruit colour	Chromoplast-specific lycopene β -cyclase	Ronen <i>et al.</i> , 2002
<i>old-gold</i>	6	Tomato	Fruit colour	Chromoplast-specific lycopene β -cyclase	Ronen <i>et al.</i> , 2002
<i>high pigment-1</i>	2	Tomato	Fruit colour	UV damaged DNA binding protein	Liu <i>et al.</i> , 2004
<i>high pigment-2</i>	1	Tomato	Fruit colour	Homologue of <i>deetiolated1</i>	Mustilli <i>et al.</i> , 1999
<i>c2</i>	4	Pepper	Fruit colour	Phytoene synthase	Thorup <i>et al.</i> , 2000
<i>y</i>	6	Pepper	Fruit colour	Capsanthin capsorubin synthase	Lefebvre <i>et al.</i> , 1998
<i>A</i>	10	Pepper	Fruit colour	Anthocyanin2	Borovsky <i>et al.</i> , 2004
<i>rin</i>	5	Tomato	Fruit ripening	MADS box protein	Vrebalov <i>et al.</i> , 2002
<i>Green-ripe</i>	1	Tomato	Fruit ripening	Unknown	Barry and Giovannoni, 2006
<i>Never ripe</i>	9	Tomato	Fruit ripening	Ethylene receptor	Wilkinson <i>et al.</i> , 1995
<i>Pun1</i>	2	Pepper	Pungency	AT3 acyltransferase	Stewart <i>et al.</i> , 2005
<i>S</i>	10	Pepper	Fruit ripening	Polygalacturonase	Rao and Paran, 2003
<i>self pruning</i>	6	Tomato	Plant architecture	Homologue of <i>terminal flower1</i>	Pnueli <i>et al.</i> , 1998
<i>jointless</i>	11	Tomato	Plant architecture	MADS box protein	Mao <i>et al.</i> , 2000



Esther van der Knaap, una genetista della facoltà di Scienze alimentari, agrarie e ambientali della Ohio State University, USA, ha guidato una squadra internazionale di ricercatori, meritevole di aver scoperto un gene che regola le dimensioni delle bacche nelle piante di pomodoro. Si tratta del secondo gene in assoluto coinvolto nella domesticazione della dimensione dei frutti mai clonato in qualsiasi coltura orticola o frutticola. Il gene, denominato SIKLUH, condiziona le dimensioni dei frutti aumentando gli strati cellulari e ritardando la maturazione dei frutti. Secondo Van der Knaap, questo gene promuove un aumento della divisione cellulare durante il processo di sviluppo del frutto, immediatamente dopo la fecondazione. Questa intensificazione della divisione cellulare porta all'ottenimento di frutti più grandi, mentre, probabilmente, il ritardo nella maturazione è il risultato di un'estensione della fase di divisione cellulare.

Il team di ricerca ha anche identificato un potenziale elemento regolatore presente nel promotore del gene SIKLUH, che si ipotizza controlli l'espressione genica.

La pesca nettarina e il carattere della tomentosità



L'origine delle nettarine nella mutazione di un singolo gene MYB

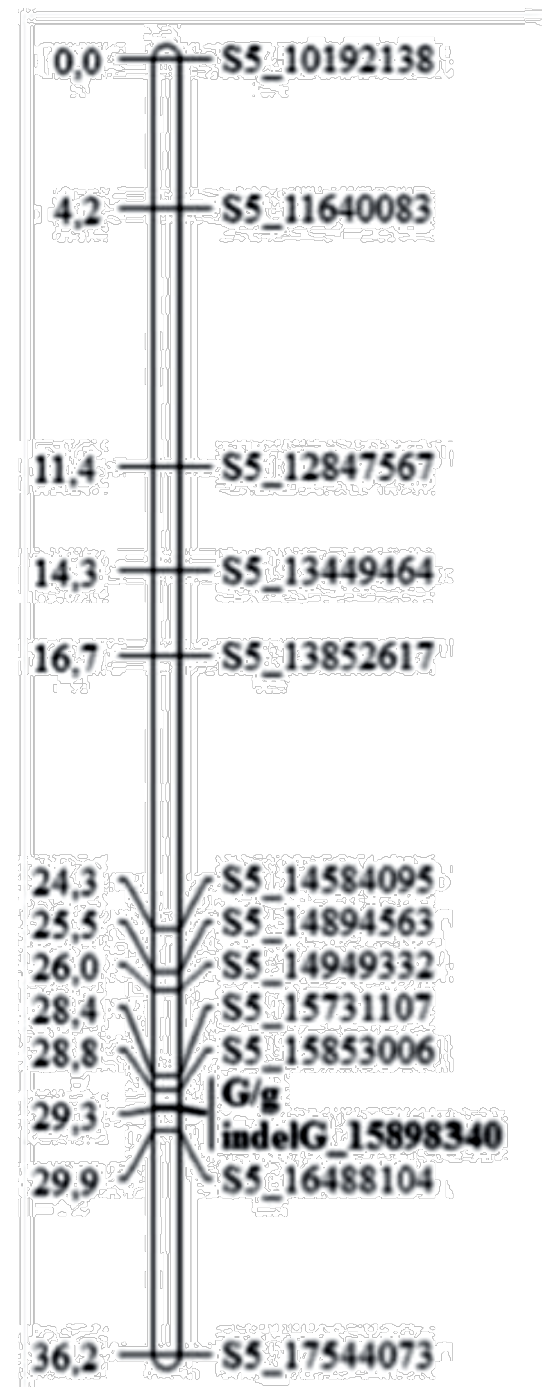
la sua domesticazione é iniziata circa 4-5.000 anni fa; successivamente raggiunse la Persia (da cui il nome scientifico *Prunus persica*) seguendo la Via della Seta e fu coltivato dai Romani in tutto l'impero sin dal primo secolo a.C. (Faust e Timon 1995). Le pesche glabre, corrispondenti alla tipologia delle nettarine, probabilmente sono comparse in Cina e la loro presenza è stata segnalata nelle oasi del bacino del Tarim. Successivamente, sempre attraverso la Via della Seta, sono arrivate in Asia centrale e nel Caucaso (Verde et al., 2013; Yoon et al., 2006). La loro comparsa in Europa non è ben documentata e probabilmente i Romani non conoscevano questo tipo di frutto. Bisogna aspettare il Rinascimento per avere la certezza della presenza di pesche glabre in Europa (Faust e Timon, 1995): fra le vecchie varietà bisogna ricordare Lord Napier, Precoce Di Croncels e Galopin. Si sa, inoltre, che nell'Italia del Sud sono state coltivate sin dal XVI secolo alcune pesche glabre bianche note come Sbergie o Merendelle (Venuto, 1516).

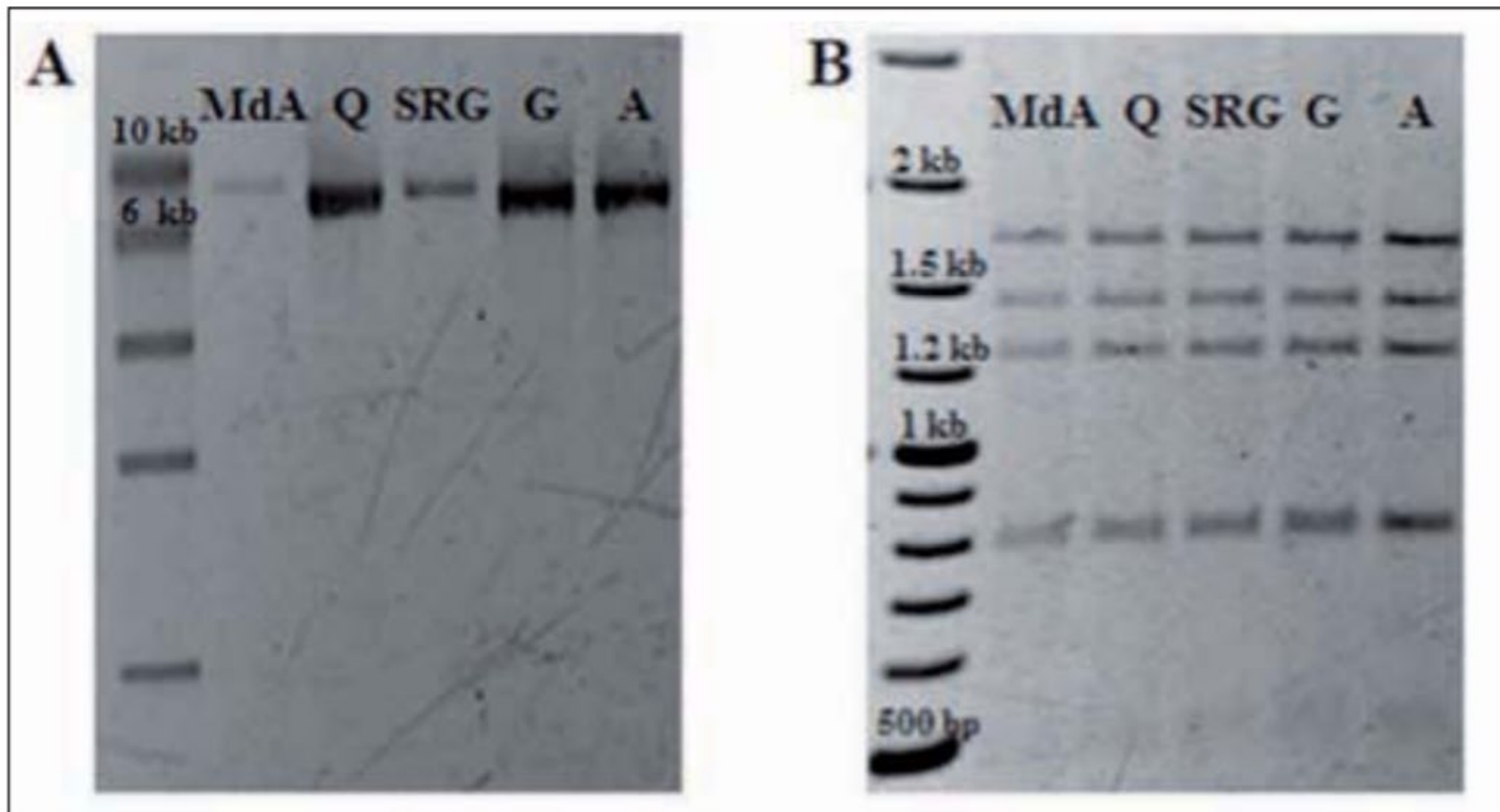
Dal punto di vista genetico, il carattere “nettarina” è regolato da un singolo gene la cui forma attiva è responsabile della formazione della buccia tomentosa delle pesche. Quindi, il fenotipo pesca è dominante sul fenotipo nettarina. La posizione di questo gene nel genoma del pesco sul cromosoma 5 (locus G) è nota da una decina di anni (Dirlewanger et al., 2006), ma fino ad oggi non si aveva nessuna indicazione sul nome del gene in grado di regolare questo carattere nel pesco.



Una serie di marcatori SNP (Polimorfismi del Singolo Nucleotide) sviluppati nella regione del locus G è stata mappata sui 305 individui della popolazione ContenderxAmbra. Il locus G è stato individuato tra i marcatori SNP S5_15853006 e S5_16488104, un intervallo di 1,1 cM (Fig. 1).

Parallelamente sono stati analizzati i genomi ri-sequenziati di alcune cultivar di pesco (sia con fenotipo pesca, sia con fenotipo nettarina) e sono state identificate diverse varianti strutturali di geni localizzati in questa regione. Una mutazione, in particolare, era ben evidente nelle sequenze della nettarina Quetta: una grande inserzione di un retrotrasposone in un gene codificante per un fattore di trascrizione della famiglia MYB (chiamato PpeMYB25). Questa inserzione è causa della sintesi di una versione incompleta e non funzionale della proteina codificata dal gene PpeMYB25.





▲ *Fig. 2 - Caratterizzazione della mutazione che inattiva il gene PpeMYB25. Cinque varietà di nettarina (Madonna di Agosto, MdA; Quetta, Q; Stark RedGold, SRG; Goldmine, G; Ambra, A) sono state analizzate via PCR per confermare la presenza del retrotrasposone nella forma inattiva del gene PpeMYB25. (A) Amplificazione di un prodotto di circa 7 kb corrispondente al gene inattivato. (B) Il risultato della doppia digestione enzimatica indica che tutti i 5 genotipi hanno lo stesso pattern di restrizione.*

Ricercatori australiani hanno identificato il gene corrispondente a Rht-B1b in *Vitis*, dove è responsabile della trasformazione dei cirri in organi fiorali e quindi grappoli. Infatti nella vite il gene omologo a Rht-1 determina la conversione dei viticci in infiorescenze, che si evolvono nella formazione di grappoli d'uva. Nel normale sviluppo, in presenza della forma wild type del gene, i viticci non possono svilupparsi in infiorescenze perché bloccati dall'azione delle gibberelline (Stanca et al 2014).

Oggi

Con i risultati fin qui raggiunti si può pensare di alimentare il pianeta nei prossimi 40 anni, quando la specie umana supererà i 9 miliardi di individui?

L'avvento dei marcatori molecolari ha consentito di definire la base genetica dei caratteri qualitativi e quantitativi (QTL), di stabilire le relazioni di sintenia tra i genomi, di verificare i meccanismi genetici che controllano l'eterosi in specie quali il mais. La selezione assistita con marcatori molecolari per caratteri qualitativi è una realtà ormai diffusa anche presso le grandi ditte sementiere private.

Lo sviluppo di una nuova classe di marcatori molecolari (Single Nucleotide Polymorphism SNP) consentirà di automatizzare ed estendere più di quanto sia stato fatto finora le applicazioni basate sui marcatori molecolari, ad esempio sviluppando approcci di Whole Genome Association Mapping (Tondelli et al 2013). Studi volti all'analisi dell'espressione genica in condizioni di stress e basati su svariate tecnologie di screening hanno permesso l'isolamento di numerosi stress-related genes, coinvolti nei processi metabolici più complessi del ciclo vitale delle piante (sviluppo e crescita, resistenza al freddo, al caldo, alla siccità, alle malattie, maturazione dei frutti ecc.). L'identificazione dei recettori dei segnali ambientali o ormonali, dei messaggeri secondari, dei fattori di trascrizione coinvolti nei processi cellulari complessi, nonché lo studio delle interazioni di questi elementi tra loro e con l'ambiente rappresenta la chiave per comprendere il funzionamento globale della cellula e quindi la base molecolare del fenotipo (Cattivelli 2008).

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 (con 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. Sulla base di tutto ciò è stata disegnata una nuova pianta di frumento tenero capace di raggiungere una potenzialità produttiva di 20t/ha nel 2020 partendo dalle attuali 14 t/ha. Non trascurabile è anche il tema che vede il sistema produttivo agrario non più basato sul trinomio Pianta-Atmosfera-Suolo ma piuttosto sul quadrinomio Pianta-Atmosfera-Suolo-Microrganismi che vivono intorno o dentro le radici.

Le nuove sfide della moderna Agricoltura per alimentare il Mondo si baseranno sempre più sulla Scienza e l'Innovazione tecnologica, in particolare quella derivata dalle discipline “omiche”, e sulla velocità con cui queste nuove tecniche raggiungeranno l'azienda agraria.

Genetica molecolare e miglioramento genetico

Marker Assisted Selection

The use of markers to follow the inheritance of genes, particularly those genes which cannot be readily identified from observation of the plant itself. Selection of a marker flanking a gene of interest, allows selection for the presence (or absence) of a gene in a new progeny.

Genome Sequencing

The genome is the complete set of genes within a cell. Genes are contained on strands of DNA called 'chromosomes' comprised of a series of four bases: adenine, cytosine, thymidine, and guanine. The DNA base sequence serves as a "recipe" for creating gene products (often proteins) that direct the development and appearance of an organism. While the sequence of a gene in and of itself is of limited value, incredible possibilities develop when it is combined with trait and inheritance information that collected from breeding and genetic studies.

Positional Cloning

A technique used to identify genes based on their location on a chromosome. A genetic map of the genome is used to make an educated guess as to the precise location of the gene of interest (e.g., near marker __ or __). Then those guessed genes are cloned, inserted into living organisms or cells, and tested to see if the guessed gene causes expression of the protein of interest.

Genetic Maps Show Linkage Between Markers and Genes

Functional Genomics

The study or discovery of what traits (gene functions) are conferred to an organism by given DNA sequences. Typically, such studies follow after the determination of gene sequences of unknown function, such as the DNA sequences determined by the international rice genome sequencing project. Expressed sequence tag sites (ESTs) are a common source of molecular markers. Their base sequence is known and they are known to be sections of expressed genes, but their gene function is generally not yet known.

Proteomics

Proteomics is the study of the way proteins work inside cells, and how they interact with each other. Genomics and proteomics are closely linked because proteins are molecules composed of amino acids that are linked together in a particular order as specified by a gene's DNA sequence.

Microarray Analysis

Microarray technology allows the study of how large numbers of genes interact with each other and how a cell's regulatory network simultaneously controls the expression of a multitude of genes. The microarray is a series of tiny droplets containing specific DNA sequences (either genes or molecular markers) precisely applied to glass slides. DNA from a cell to be studied is then attached to fluorescent chemicals and spread over the glass slide. The labeled DNA only sticks to droplets containing DNA of similar base sequence. The brightness of fluorescently "stained" dots indicates how active the associated gene is in the cell being studied.

Candidate Gene Analysis

A "candidate gene" is a gene that has been implicated in causing or contributing to the development of a particular trait. For example, a gene's protein product may suggest that it contributes to disease resistance. Alternatively, similarity of DNA base sequence and function suggests that a novel gene may have similar or related function, making it a candidate gene.