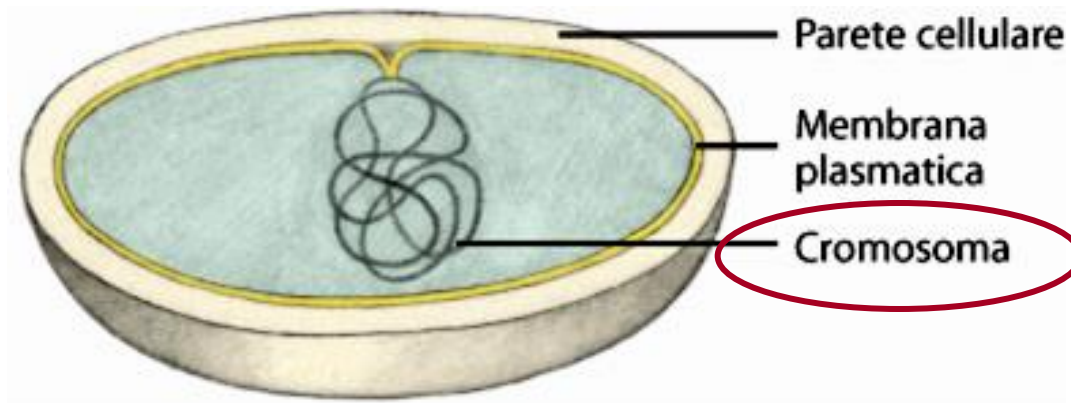


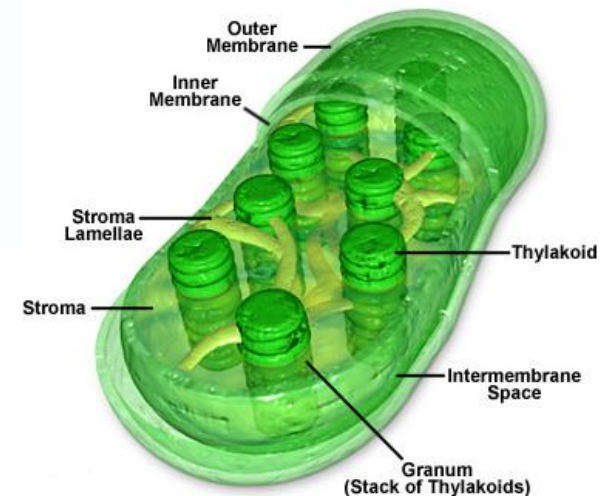
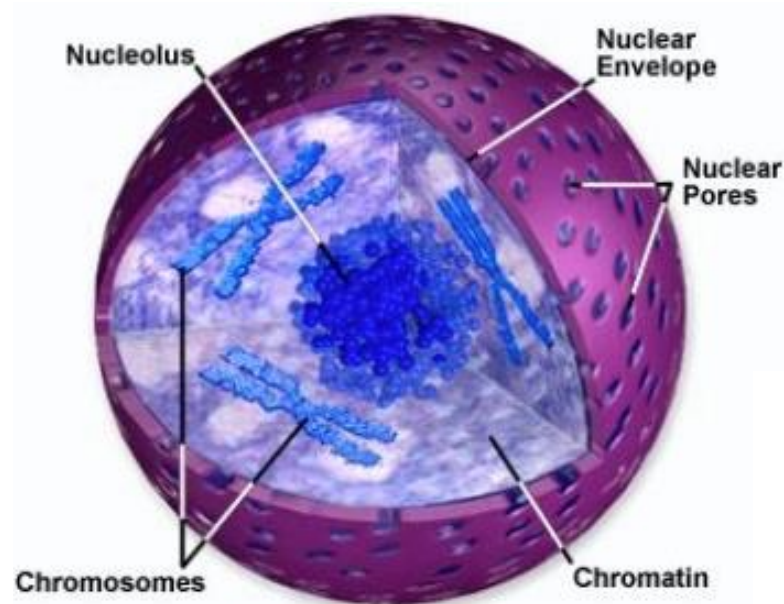
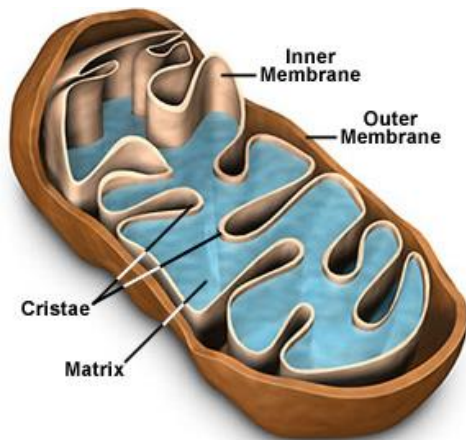
# IL NUCLEO È ESCLUSIVO DELLA CELLULA EUCARIOTICA

Nei procarioti il DNA è circolare, nudo, ed occupa una regione del citoplasma (nucleoide) non delimitata da membrana



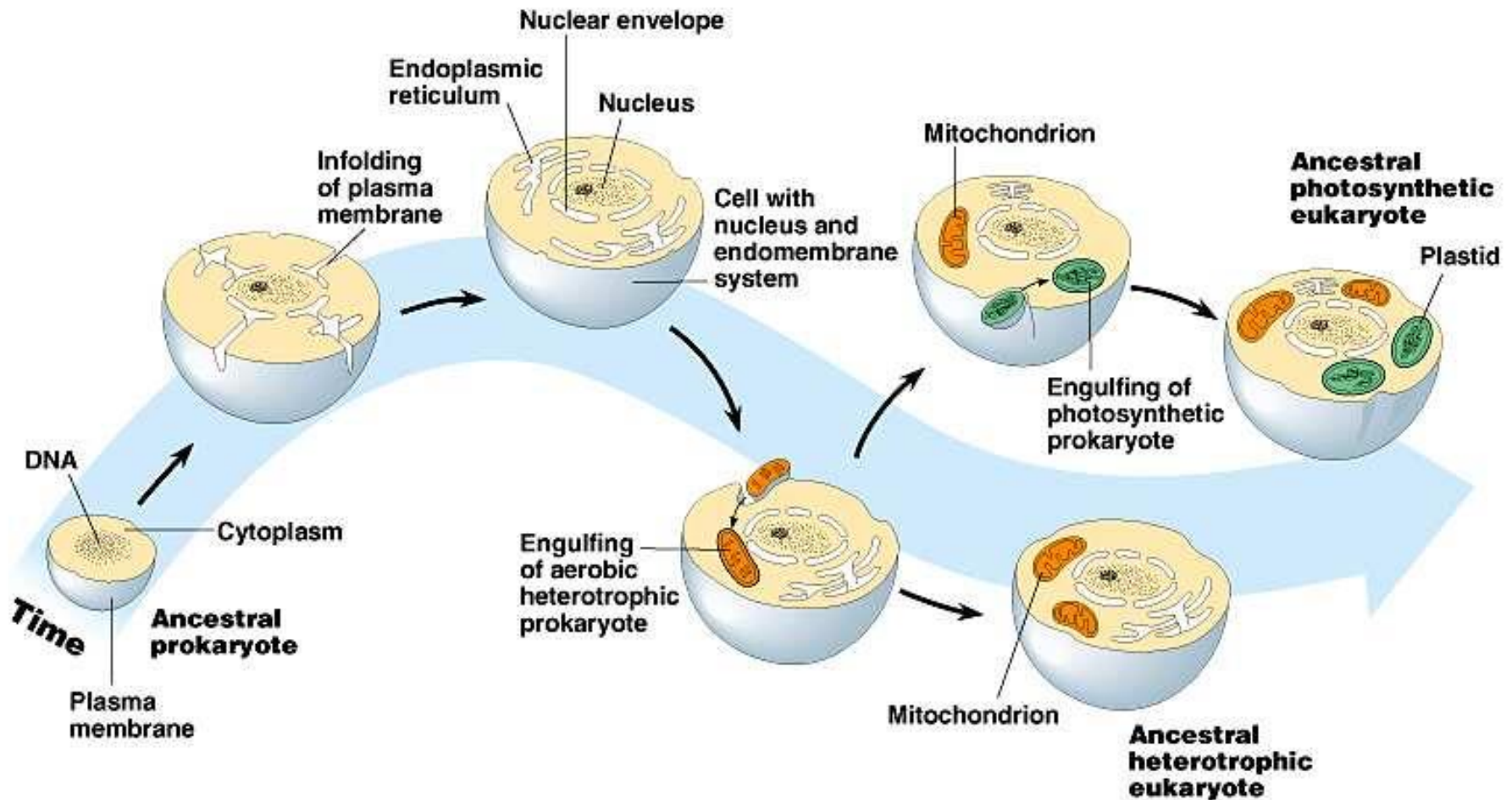
# NELLA CELLULA VEGETALE IL DNA È CONTENUTO PRINCIPALMENTE NEL NUCLEO

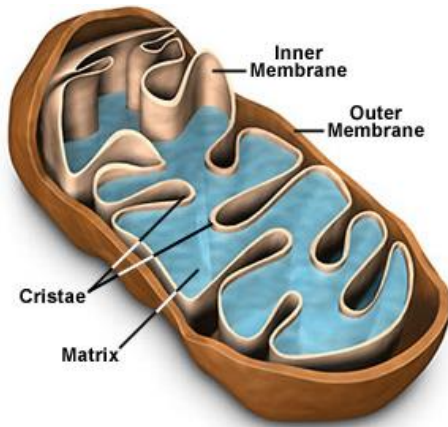
Una piccola parte del DNA è contenuta nei plastidi (DNA plastidiale) e nei mitocondri (DNA mitocondriale)



# EVOLUZIONE DEL NUCLEO

Il nucleo e il RE si sono, probabilmente, evoluti per invaginazione del plasmalemma (vescicole endocitotiche)





**ORIGINE DEI MITOCONDRI** Secondo Martin and Muller (1998) l'ipotesi più probabile è che l'origine dei mitocondri sia avvenuta contemporaneamente all'origine della cellula eucariotica. A supporto dell'origine **monofiletica**, l'informazione genetica contenuta nel mtDNA è fondamentalemente la stessa in tutti gli eucarioti. Sono presenti un certo numero di geni che codificano componenti della membrana interna coinvolti nella generazione di ATP attraverso la fosforilazione ossidativa accoppiata al trasporto di elettroni e un numero variabile di geni codificanti componenti del sistema della sintesi proteica (rRNA, tRNA e proteine ribosomali).

Il confronto dell'organizzazione e del contenuto genico di genomi mitocondriali completamente sequenziati, appartenenti ad organismi distanti dal punto di vista filogenetico, suggerisce che in tempi brevi rispetto all'evento di endosimbiosi si sia verificata una massiccia perdita di geni molti dei quali sono stati trasferiti al nucleo. MtDNA nelle piante è di dimensione molto variabile e, nelle piante terrestri, risulta molto più grande (200-2500 kb) rispetto a quanto riscontrato nei sistemi animali (16-20 kb).

## Caratteristiche di genomi mitocondriali di alcuni organismi vegetali.

Caratteristiche	Taxon							
	<i>Chara</i>	<i>Marchantia</i>	<i>Physcomitrella</i>	<i>Cycas</i>	<i>Arabidopsis</i>	<i>Nicotiana</i>	<i>Oryza</i>	<i>Zea</i>
Dimensione (nt)	67.737	186.609	105.340	414.903	366.924	430.597	490.520	454.528
Numero di geni RNA codificanti proteine	39	41	39	39	32	36	35	32
RNA transfer	26	27	24	22	17	21	18	17
RNA ribosomiali	3	3	3	3	3	3	3	3
Sequenze non codificanti (%)	9,3	79,7	73	89,9	89,4	90,1	88,9	93,8

Il mtDNA delle piante terrestri è caratterizzato da un tipo di organizzazione che può essere definita espansa attestandosi anche a 2500 kb in alcune Cucurbitacee; tuttavia, esso non codifica per una quantità proporzionalmente maggiore di geni rispetto al mtDNA ancestrale tipico delle alghe verdi. La dimensione del mtDNA non è infatti correlata alla quantità di informazione genetica ivi contenuta. La dimensione del mtDNA aumenta considerevolmente nelle angiosperme. Passando da alghe verdi e briofite alle piante a seme, si assiste ad una progressiva perdita di geni per proteine ribosomiali e tRNA ed un parallelo imponente aumento delle sequenze non codificanti.

# **Sterilità maschile**

**Circa 150 specie vegetali non sono in grado di formare polline funzionale. Il fenomeno è determinato dal genoma mitocondriale.**

**Lo sviluppo del polline richiede grande input di energia e quindi attività dei mitocondri.**

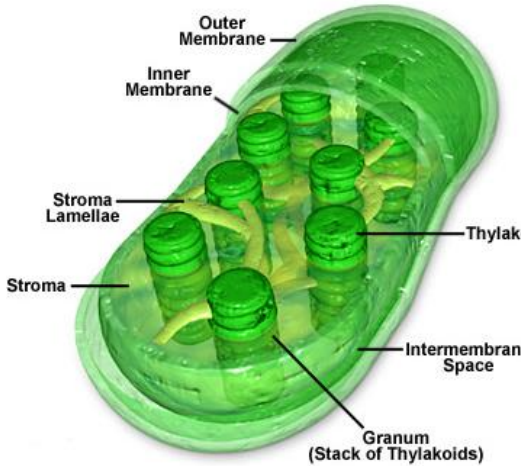
**I fenotipi di fiori che presentano sterilità maschile sono vari: stami convertiti in carpelli o in petali, degenerazione degli stami, formazione di polline non funzionale.**

**In alcuni casi come il girasole, la sterilità maschile è dovuta a morte cellulare dei tessuti dell'antera associata a morte dei mitocondri.**

**L'attività di molti geni mt che determinano la sterilità può essere soppressa da proteine codificati da geni nucleari detti Rf (restorer of fertility).**

Caratteristiche di genomi plastidiali di alcuni organismi vegetali. nt: nucleotidi

	Dimensione (nt)	N° proteine	N° di RNA strutturali
<b>Glaucofite</b> <i>Cyanophora paradoxa</i>	135.599	149	43
<b>Rodofite</b> <i>Cyanidioschyzon merolae</i> <i>Porphyra purpurea</i>	149.987 191.028	207 209	36 44
<b>Alge verdi e piante</b> <i>Arabidopsis thaliana</i> <i>Brachypodium distachyon</i> <i>Chara vulgaris</i> <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> <i>Epifagus virginiana</i> <i>Glycine max</i> <i>Nicotiana tabacum</i> <i>Physcomitrella patens</i> <i>Pinus thunbergii</i> <i>Populus trichocarpa</i> <i>Solanum lycopersicum</i> <i>Triticum aestivum</i> <i>Vitis vinifera</i> <i>Zea mays</i>	154.478 135.199 184.933 203.828 70.028 152.218 155.943 122.890 119.707 157.033 155.461 134.545 160.928 140.384	85 81 105 69 25 83 98 85 155 98 84 83 84 111	44 46 43 40 31 45 45 44 39 45 46 50 53 46



**Sono stati sequenziati 180 genomi plastidiali, 45 geni sono presenti in tutte le piante ed alghe. Essi codificano per i componenti del Fotosistema I e II, il citocromo b6/f, la ATP sintasi e la subunità grande della RUBISCO**

Gli scambi tra nucleo e citoplasma non sono unidirezionali.

Ad esempio l'mRNA viene esportato dal nucleo al citoplasma, mentre numerose proteine sono sintetizzate nel citoplasma ed importate nel nucleo, es quelle istoniche.

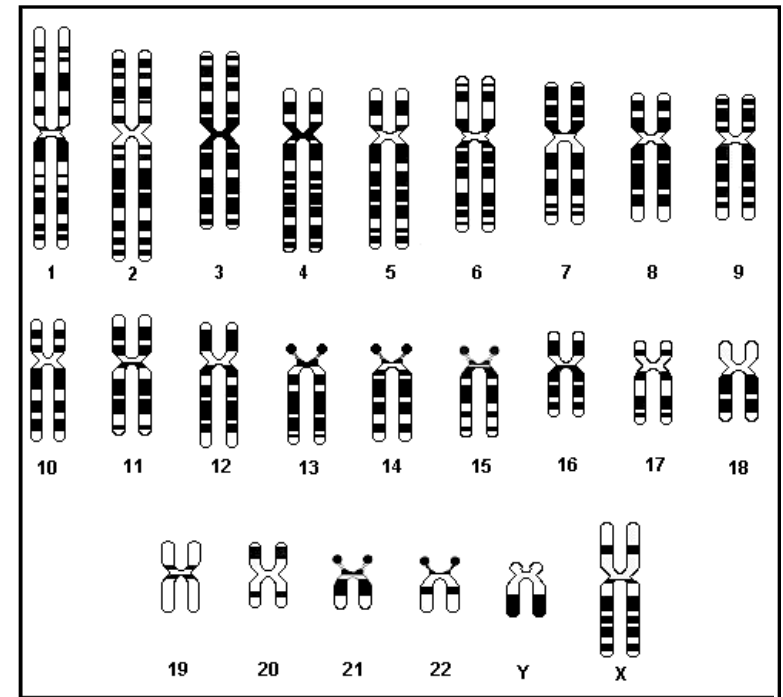
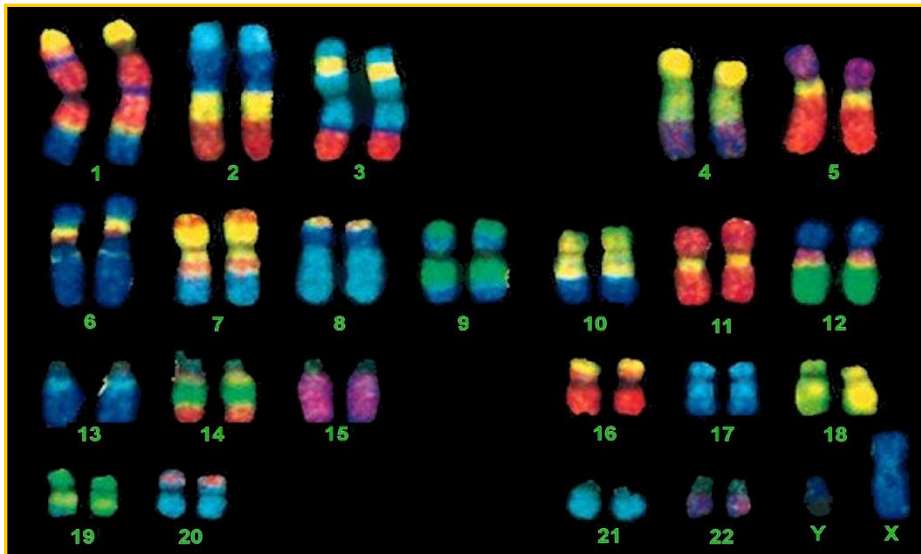
**L'involucro nucleare è in contatto con il citoplasma mediante i pori nucleari.** Le molecole idrosolubili di piccole dimensioni attraversano questi canali e si muovono liberamente tra nucleo e citoplasma, ma le grandi molecole sono solitamente importate nel nucleo mediante trasporto attivo molto selettivo.

Solo le proteine che posseggono uno specifico **segnale di accesso nucleare** saranno importate. Di solito tale **segnale è costituito da una breve sequenza peptidica ricca di aminoacidi con carica positiva come lisina e arginina**. Il segnale viene riconosciuto da un complesso di importazione nucleare che permette il trasporto attivo all'interno del nucleo. Il segnale viene riconosciuto dalla  $\alpha$ -importina, di cui esistono numerose isoforme, strettamente associate con l'involucro nucleare. Quando la proteina è importata tale segnale non viene rimosso quindi queste proteine possono rientrare nel nucleo dopo la ricostituzione dell'involucro nucleare che si dissolve durante la divisione cellulare.

# CROMOSOMI

Le molecole di DNA si organizzano in cromosomi

Il numero e la morfologia dei cromosomi sono caratteristici di ogni specie e costituiscono il cariotipo



Genoma: l'insieme dei cromosomi di un organismo

# CROMOSOMI

Né il numero di cromosomi né la quantità totale di DNA sono indicatori affidabili della complessità dell'organismo:

Contenuto in DNA di alcuni genomi batterici ed eucariotici		
Genoma	Numero approssimativo di coppie di basi (kb)*	Numero di cromosomi (aploide)
<b>Batteri (cromosomi circolari)</b>		
<i>Mycoplasma hominis</i>	760	
<i>Bacillus</i>	3 000	
<i>E. coli</i>	4 700	
<b>Eucarioti (cromosomi lineari)</b>		
<b>Funghi</b>		
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (lievito)	13 500	16
<b>Animali</b>		
<i>Drosophila melanogaster</i> (moscerino della frutta)	165 000	4
<i>Homo sapiens</i>	3 000 000	23
<i>Amphiuma</i> sp. (salamandra)	76 500 000	14
<b>Piante</b>		
<i>Arabidopsis thaliana</i>	100 000	10
<i>Zea mays</i> (mais)	4 500 000	10
<i>Pisum sativum</i> (pisello)	5 000 000	7
<i>Trillium</i>	100 000 000	5

**Tabella 7.1** Dimensioni approssimative del genoma di alcune specie vegetali (in milioni di paia di basi)

---

<b>Specie</b>	<b>Dimensioni genoma</b>
<i>Arabidopsis</i>	120
Riso	440
Trifoglio	550
Pioppo	550
Melo	770
Pomodoro	950
Sorgo	1.000
Cotone	2.110
Mais	2.500
Orzo	5.000
Grano	16.000
Cipolla	18.000
Felce	160.000

---

Hewson Swift nel 1950 introdusse il concetto di **valore C** in riferimento alla **quantità di DNA presente in un nucleo gametico** (aploide) che, in linea generale, può coincidere con la dimensione del genoma.

Ciascun genoma è caratterizzato da una dimensione che può essere definita in base alla massa (picogrammi -pg-) o al numero di basi (b) o nucleotidi (dove 1 pg = 987 Mb, milioni di basi).

Il confronto dei valori C di organismi anche distanti dal punto di vista filogenetico fece emergere una situazione a primo impatto curiosa che fu definita

### **Il paradosso del valore C**

**Non esiste una correlazione diretta tra contenuto in DNA e complessità biologica di un organismo (Thomas, 1971).**

Tale paradosso sembrava superato dalla scoperta che, in un genoma, la maggior parte di DNA risulta essere **DNA non codificante che quindi non contribuisce a fornire informazione**. Fu chiaro pertanto che una **maggior quantità di DNA non** dovesse necessariamente riflettere la presenza di un **maggior numero di geni**. Il genoma umano (3000 Mb) codifica per circa 30.000 geni mentre quello di riso (430 Mb) codifica per circa 40.000-60.000 geni.

**In che modo un numero così limitato di geni possono generare un organismo strutturalmente più complesso ed evolutivamente più avanzato come l'uomo?**

**L'ipotesi** che si avanza oggi è che nell'uomo ci sarebbero un maggior numero di **fenomeni di *splicing* alternativo** (eventi per cui da un singolo gene si generano trascritti diversi) e di **modificazioni post-traduzionali**.

# SEQUENZIAMENTO DEL GENOMA

E' in corso il sequenziamento dei genomi delle più importanti specie vegetali di interesse agronomico



***Arabidopsis thaliana***  
25.000 geni



***Oryza sativa***  
40.000-60.000 geni



***Vitis vinifera***  
43.000 geni

# SEQUENZIAMENTO DEL GENOMA

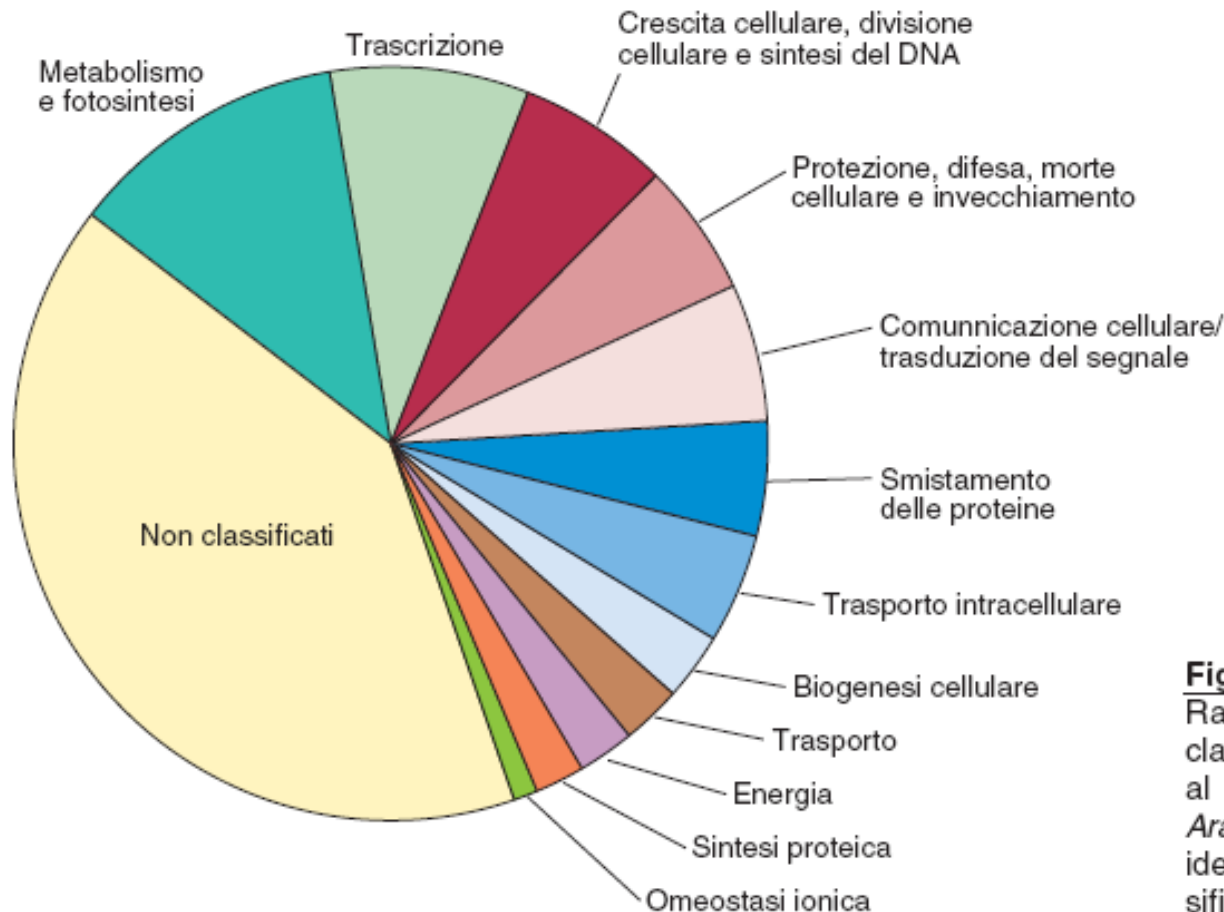
Non esiste una relazione lineare tra grandezza del genoma e numero di geni

Specie	Dimensioni del genoma (Mpb)	Numero di geni
<i>Arabidopsis thaliana</i>	120	25000
<i>Oryza sativa</i>	440	50000

Più che alla quantità di geni, la dimensione del genoma sembra dipendere dalla quantità di DNA non codificante

La sequenza del genoma di *Arabidopsis* ha evidenziato circa 25.000 geni. Nel genoma di *Oriza sativa* sono state identificate 40.000-60.000 sequenze codificanti, comprendenti la maggior parte dei geni di *Arabidopsis*. Ad oggi circa un terzo dei geni trovati in queste due piante non sono stati riscontrati in nessun genoma di fungo o animale. **La maggior parte di questi geni è coinvolto nella fotosintesi e nella fotomorfogenesi. I geni coinvolti nel metabolismo basale si sono rivelati molto simili.** Lunghi tratti del DNA non codificano alcuna proteina. Nel riso il 45% del genoma è costituito da sequenze di DNA non trascritto.

## Analisi funzionale: determinare la funzione dei geni



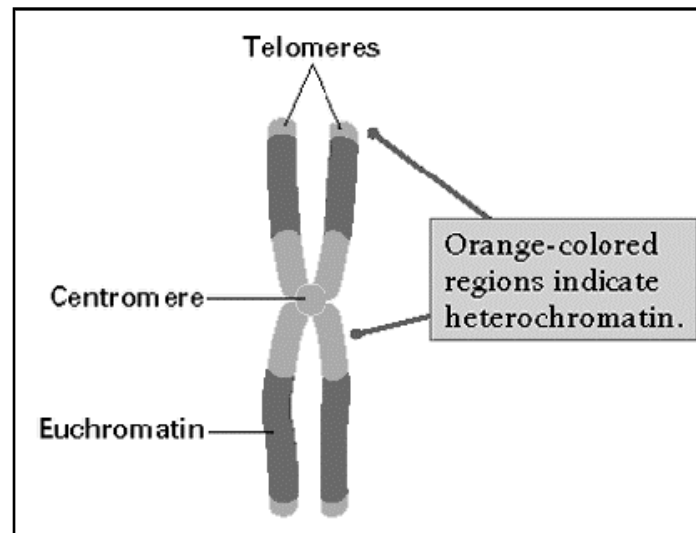
**Figura 7.6**

Rappresentazione grafica delle classi di geni identificati in seguito al sequenziamento del genoma di *Arabidopsis*. Circa un terzo dei geni identificati non è stato ancora classificato.

## LA CROMATINA: L'EUCROMATINA E L'ETEROCROMATINA

L'eucromatina costituisce la maggior parte del cromosoma. Viene definita "geneticamente attiva" perché contiene geni che vengono espressi. L'eucromatina si replica nella fase S del ciclo cellulare

L'eterocromatina è geneticamente inattiva, poiché non contiene geni o perché i geni in essa contenuti non sono espressi. Anche l'eterocromatina si replica nella fase S del ciclo cellulare, ma dopo l'eucromatina.



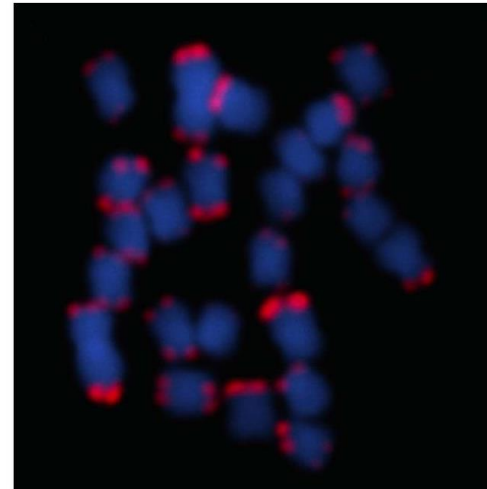
# DNA NON CODIFICANTE

## Ampie aree del cromosoma sono costituite da eterocromatina, regioni di DNA altamente ripetuto

- 1) **DNA satellite.** E' il tipo più diffuso di eterocromatina. Consiste di corte sequenze di DNA ripetuto anche milioni di volte localizzate in regioni prossime ai telomeri o vicino al centromero suggerendo un ruolo strutturale nella segregazione e migrazione dei cromosomi durante la mitosi
- 2) **DNA ripetitivo disperso nel genoma** in piccoli raggruppamenti e costituito da trasposoni, sequenze di DNA in grado di muoversi da un punto all'altro del genoma.



**Barbara McClintock**  
**Nobel 1984**



**Figura 7.7**

DNA ripetitivo a localizzazione telomerica evidenziato mediante ibridazione *in situ* con sonde fluorescenti (da Kazama et al., 2003).

## **DIMENSIONI DEL GENOMA E DNA RIPETUTO**

**E' stato dimostrato che le differenze nelle dimensioni del corredo aploide dei genomi delle specie coltivate di cereali sono principalmente dovute al livello di duplicazione di sequenze trasponibili.**

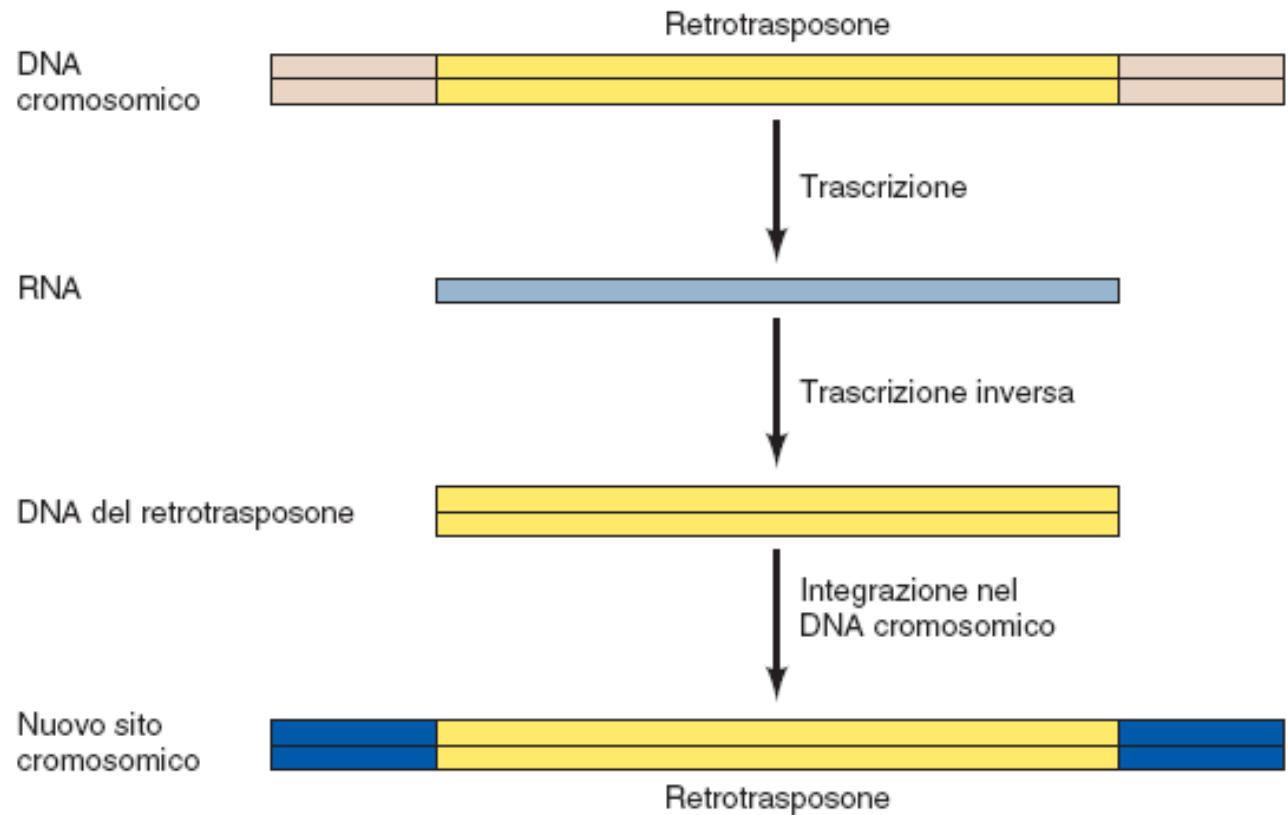
**L'80 % del genoma di mais è costituito da elementi trasponibili contro il 25% di riso ed il 10 % di Arabidopsis**

**Molti trasposoni si concentrano nelle zone centromeriche**

**Gli elementi retrotrasponibili, piccoli raggruppamenti di DNA ripetitivo disperso, in grado di muoversi all'interno del genoma. I trasposoni sono costituiti da sequenza di DNA che possono spostarsi da una regione all'altra del genoma mediante un tipo particolare di ricombinazione tra il trasposone ed una sequenza bersaglio con cui viene in contatto. Molti trasposoni sono in grado di replicarsi e la loro copia può inserirsi ovunque con un meccanismo simile ai retrovirus. L'elemento trasponibile viene trascritto in RNA e poi riconvertito in DNA.**

**Figura 7.8**

Movimento di un retrotrasposone. L'elemento trasponibile, viene prima trascritto in RNA e poi, grazie alla trascrizione inversa, è riconvertito in DNA che può inserirsi in un altro gene che di solito viene inattivato dalla sua inserzione (da G.M. Cooper, R.E. Hausman).



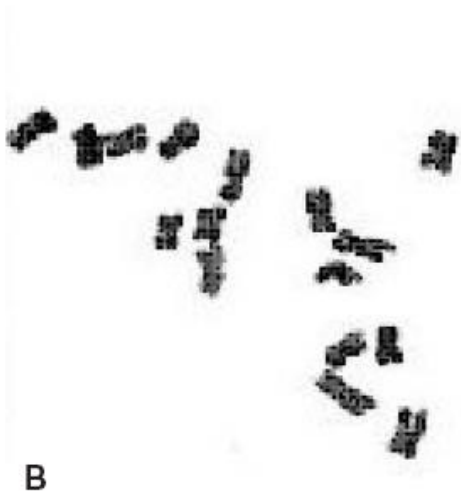
Le variazioni di dimensioni del genoma possono essere dovute non solo a differenze nel contenuto in DNA ripetitivo, ma anche essere il risultato di duplicazioni genomiche. Tra gli organismi vegetali ci sono numerosi casi di poliploidia

**Figura 7.9**

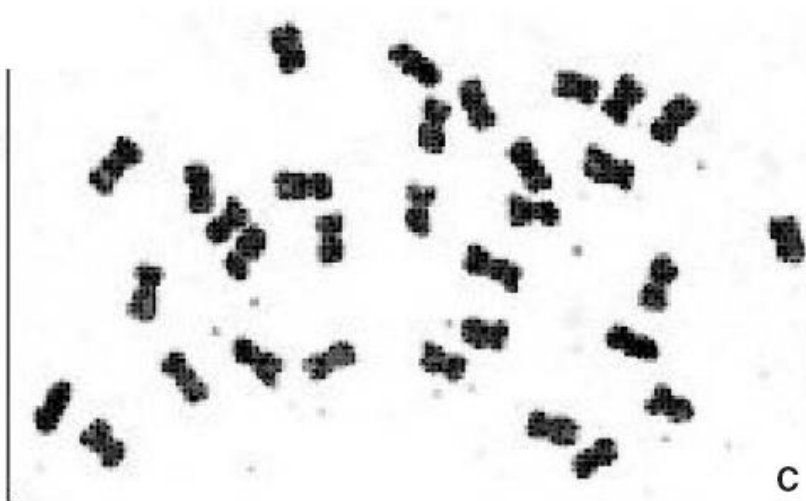
In molte specie vegetali come il trifoglio, *Medicago sativa* (A), esistono razze diploidi (B) e tetraploidi (C) (Foto B e C da Bauchan, G. R. and Elgin, J. H. 1984. A new chromosomes number for the genus *Medicago* Crop Sci. 24:193-195).



A



B



C

# POLIPLODIA

Le variazioni delle dimensioni del genoma possono essere dovute non solo a differenze nel contenuto di DNA ripetitivo, ma anche essere il risultato di duplicazioni genomiche.

## ASSETTO CROMOSOMICO:

**APLOIDE:** 1 corredo cromosomico

**DIPLOIDE:** 2 corredi cromosomici, (materno e paterno)

**POLIPLOIDE:** più di due corredi cromosomici

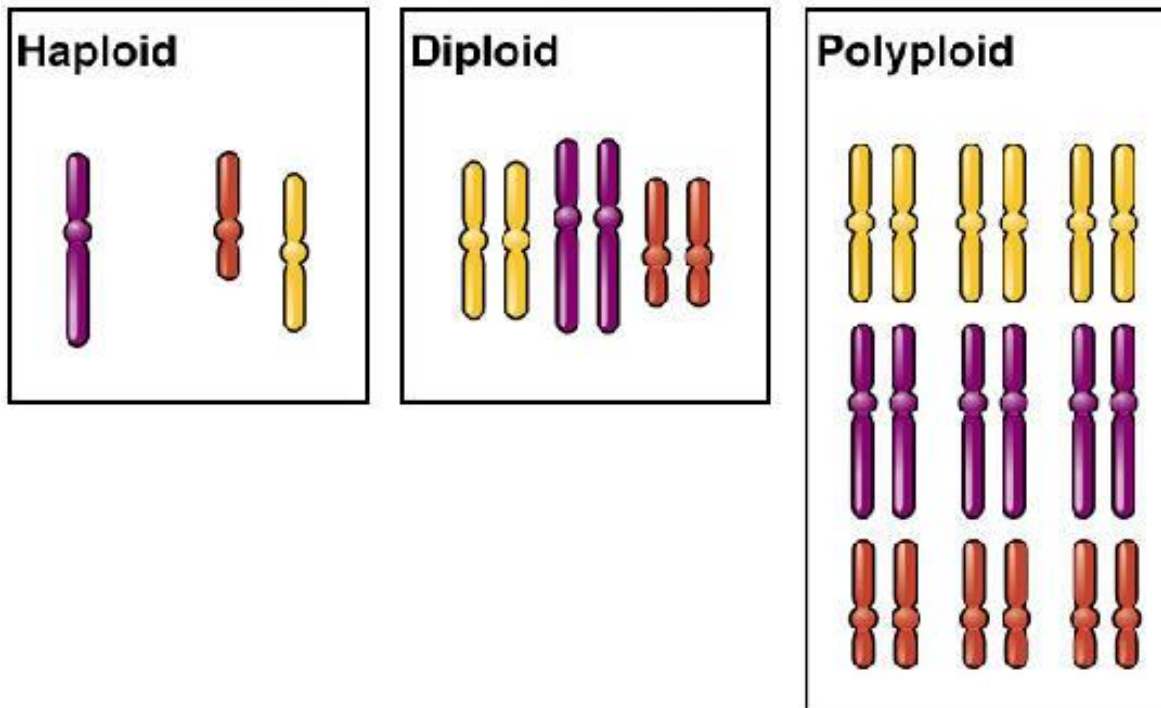
**Negli animali la POLIPLOIDIA** è un evento raro (pesci, insetti, anfibi) nei vegetali è molto frequente il loro genoma deriva da più eventi di duplicazione di un genoma ancestrale

la piccola *Sedum suaveolens*, che ha il più alto numero di cromosomi tra le angiosperme ( $2n$  circa 640, dove  $n$  si riferisce al numero di cromosomi nei gameti), sia circa 80-ploide.

# POLIPLODIA

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

## Chromosome Numbers Possible in Plant Genomes



# GENERAZIONE DELLA POLIPLODIA

## ERRORI DELLA MEIOSI:

formazione di gameti  $2n$ , dopo  
la fecondazione si formano zigoti tetraploidi stabili

## AUTOPOLIPLOIDIA:

fusione di gameti  $2n$  provenienti dalla stessa specie  
(es la patata  $2n=4x=48$ , la specie selvatica diploide ha  
 $2n=24$ )

## ALLOPOLIPLOIDIA:

fusione di gameti  $2n$  provenienti da specie diverse  
presentano problemi di sterilità (appaiamento multiplo)  
(es la colza  $2n=4x=38$  generata da *Brassica oleracea*  
( $2n=18$ ) e *Brassica campestris* ( $2n=20$ ))

# POLIPLODIA

## ESEMPI DI POLIPLOIDIA NELLE PIANTE



*Poa annua*



*Nicotiana tabacum*



*Chrysanthemum* spp.

Le angiosperme hanno una grande plasticità nel tollerare l'impatto della poliploidia, con accomodamento di 2 genomi diversi nello stesso nucleo. Un nucleo poliploide è altamente dinamico con modificazioni come delezioni, riarrangiamenti di sequenze, eventi di silenziamento genico, rimodellamenti della cromatina.

Sia *Arabidopsis* che *Zea mais* considerati diploidi sono in realtà dei poliploidi

La frequenza della poliploidia nelle angiosperme suggerisce che abbia un significato adattativo. **L'individuo poliploide può presentare fenotipi e/o caratteristiche di superiorità rispetto ai genitori diploidi.**

Alcuni di questi tratti, quali la tolleranza allo stress idrico, l'apomissia (formazione di semi fertili in assenza di fecondazione), la resistenza a stress biotici, il tempo di fioritura, la biomassa e la dimensione degli organi potrebbero rendere i poliploidi più adatti alla colonizzazione di nuove nicchie o aumentare la possibilità di essere selezionati in agricoltura.

Non stupisce quindi il fatto che la maggior parte delle specie di interesse agro-alimentare portino le tracce di autopoliploidia (erba medica, patata) o di allopoliploidia (grano, cotone, caffè, avena, colza).

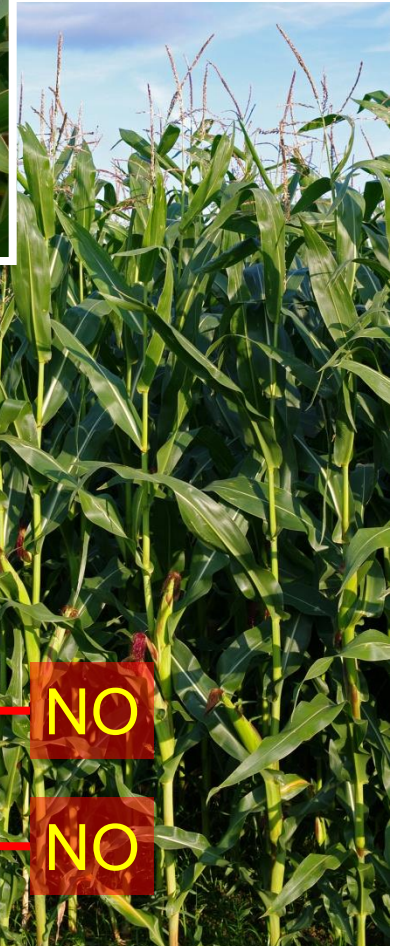
# Domesticazione

selezione dei mutanti

Teosinte



Mais



Messico centrale



9000 a.f.

SI

Dispersione semi

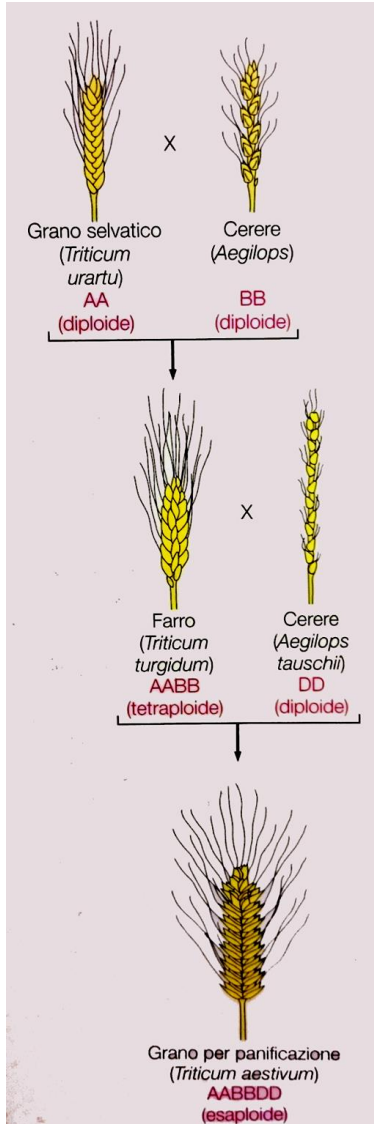
NO

SI

Dormienza semi

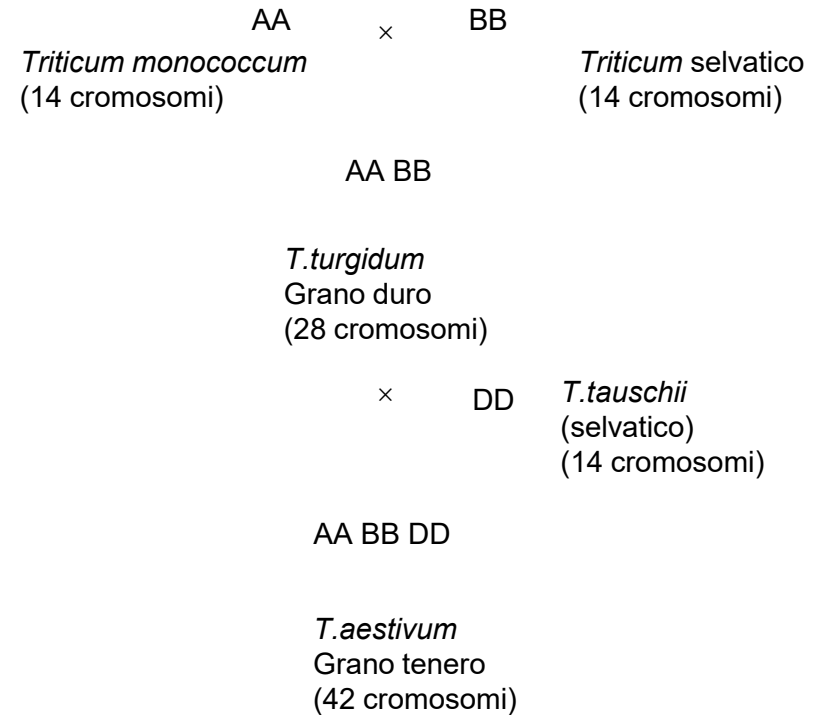
NO

# Domesticazione ibridazione



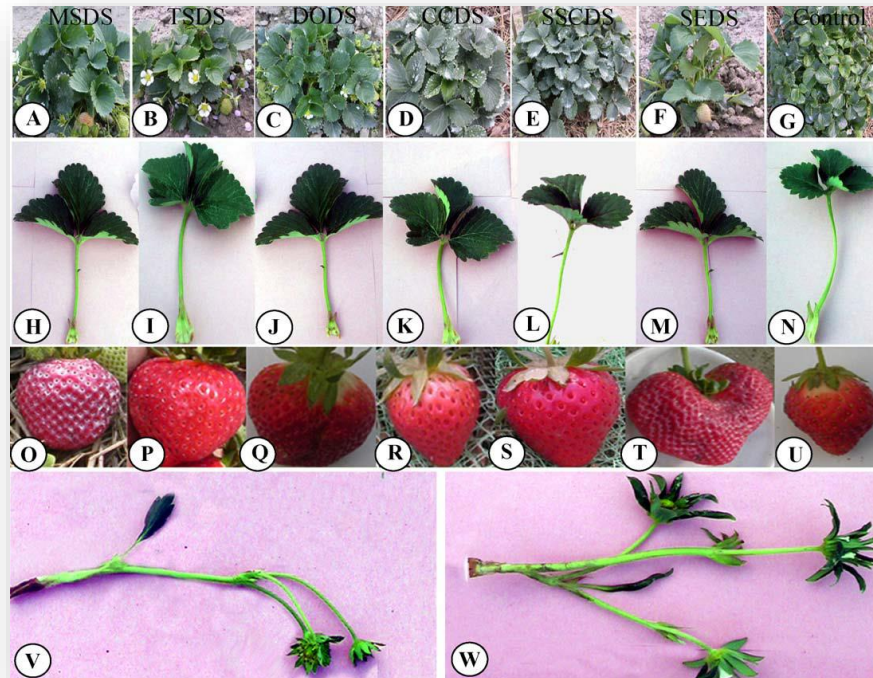
# POLIPLODIA

- L'ibridazione è la causa principale della allopoliploidia.
- Numerose piante che coltiviamo a scopo alimentare sono poliploidi.



# Spesso le piante propagate *in vitro* presentano eterogeneità fenotipica

(seppure originate da espianti della medesima pianta madre!)



M.K. Biswas, M. Dutt, U.K. Roy, R. Islam, M. Hossain - Development and evaluation of *in vitro* somaclonal variation in strawberry for improved horticultural traits - *Scientia Horticulturae* 122 (2009) 409–416

Tale fenomeno è molto più frequente (ma non esclusivo) in piante rigenerate da cellule indifferenziate

# Variabilità somaclonale

## Alterazioni geniche

**Mutazioni puntiformi**

Sostituzioni nucleotidiche

**Mutazioni cromosomiche**

Delezioni  
Inversioni  
Duplicazioni  
Traslocazioni

**Modificazioni genomiche**

Poliploidia  
Aneuploidia

**Modificazioni epigenetiche**

Metilazione del DNA

# Variabilità somaclonale

Alterazioni geniche ereditabili/non ereditabili

**Mutazioni puntiformi**

**Mutazioni cromosomiche**

**Modificazioni genomiche**

**Modificazioni epigenetiche**

Stabili  
Ereditabili

Instabili  
Non ereditabili