RELAZIONE CONCLUSIVA DEL PROGRAMMA SHORT TERM MOBILITY 2016

Fruitore: Dott. Antonio Coniglio

Proponente: Dott.ssa Clara Conicella

Responsabile Istituzione ospitante "Boyce Thompson Institute" Ithaca (NY) USA - Prof. J. Giovannoni

Titolo del Programma: 'Epigenetic regulation of fruit development and ripening in tomato arp6'

Periodo di soggiorno: 21 Ottobre - 11 Novembre 2016

Obiettivi del soggiorno:

Caratterizzare il ruolo del gene *ARP6* nella regolazione dello sviluppo e della maturazione del frutto di pomodoro, utilizzando expertise e metodologie presenti nel gruppo di ricerca del Prof. Giovannoni

Consolidare la collaborazione in atto con il Prof Giovannoni per approfondire lo studio di altri mutanti di pomodoro e formare giovani ricercatori.

Descrizione dell'attività di ricerca:

Il soggiorno di ricerca è stato effettuato presso il laboratorio del Prof. J. Giovannoni, leader negli studi riguardanti la genetica ed epigenetica della maturazione e dello sviluppo del frutto di pomodoro. E' stata indagata la funzione di *ARP6* durante la maturazione del frutto. Le analisi sono state condotte su piante di pomodoro nella generazione T1 del mutante parzialmente silenziato di *arp6*. Le piante, coltivate con un fotoperiodo di 16 ore di luce e 8 di buio a una temperatura di circa 26°C, sono state verificate per la presenza del transgene mediante PCR con l'utilizzo di primer specifici per la kanamicina (Fig. 1).

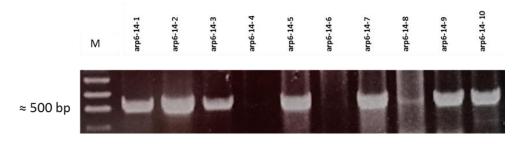


Figura 1. Verifica delle piante transgeniche arp6. Prodotto atteso=500 bp. M=1kb ladder.

Come atteso da precedenti analisi effettuate nella fase vegetativa il mutante manifesta sviluppo più ridotto rispetto al controllo (Fig. 2).



Figura 2. Piante controllo (WT) e mutate per il gene ARP6 allevate in condizioni standard nella struttura ospitante.

I frutti delle piante sono stati cartellinati allo stadio di 1cm di diametro corrispondente a 8 giorni postantesi (DPA). Successivamente è stata rilevata la data in cui la bacca ha virato dal colore verde al rosso corrispondente allo stadio di Breaker (BB). Il tempo di maturazione dei frutti del mutante (t per raggiungere lo stadio BB =36 DPA) non differisce statisticamente da quello del controllo (t=37 DPA). È stato valutato il numero di frutti prodotti a livello dei primi due palchi fiorali e il peso medio dei frutti. Il mutante ha prodotto una media di 6,85 frutti con peso medio di 47,5 g rispetto al controllo che ha prodotto 8,3 frutti con peso medio di 30,5 g. Ulteriori analisi sono in corso e riguardano la misurazione dell'etilene, il principale ormone coinvolto nella maturazione delle bacche, allo stadio di BB + 3 giorni, BB + 5 e BB + 10 (Fig. 3).



Figura 1. Diversi stadi della maturazione del frutto di arp6.

Si stanno raccogliendo almeno 3 frutti per ogni pianta che vengono racchiusi in un barattolo ermetico. Dopo tre ore, un millilitro di gas prelevato da ogni barattolo è utilizzato per la misurazione dell'etilene con il gascromatografo Agilent 6850 (Agilent Technologies, CA, USA). Il mutante *arp6* ha prodotto nello stadio BB + 3 11,38 nl/g/hr rispetto a 9,68 nl/g/hr del controllo. Al fine di predisporre una successiva

analisi del trascrittoma del mutante *arp6*, se quest'ultimo risulterà diverso dal controllo al termine di tutte le indagini, sono stati prelevati campioni di frutto (tre repliche tecniche) a 4 stadi diversi di sviluppo: 1 cm, verde maturo, BB e BB + 10 giorni.

E' stata iniziata l'analisi di un altro mutante epigenetico per una deacetilasi istonica (HDA19). Attualmente ho esteso la mia permanenza presso il laboratorio del Prof. J. Giovannoni per completare le analisi previste.

Data Firma

19/12/2016