

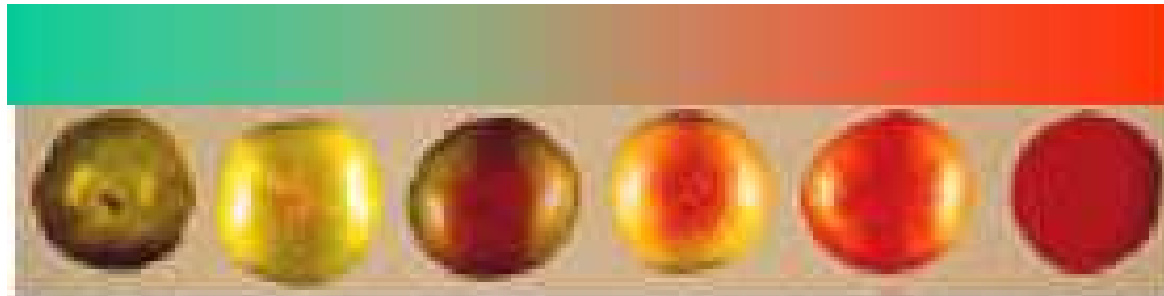
A photograph of several tomatoes on a vine. One tomato in the foreground is green, while others in the background are red, indicating different stages of ripeness. The text is overlaid on the image.

BIOTECNOLOGIE APPLICATE AL CONTROLLO DELLA MATURAZIONE DEI FRUTTI

Durante il processo di maturazione, i frutti di molte specie subiscono varie modificazioni tra cui:

- alterazione della ultrastruttura della parete cellulare e della consistenza
- conversione di amido in zuccheri semplici
- alterazione della biosintesi e accumulo di pigmenti
- incremento dei livelli di composti volatili che danno sapore e aroma
- incremento della suscettibilità a patogeni dopo la raccolta

Maturazione del pomodoro

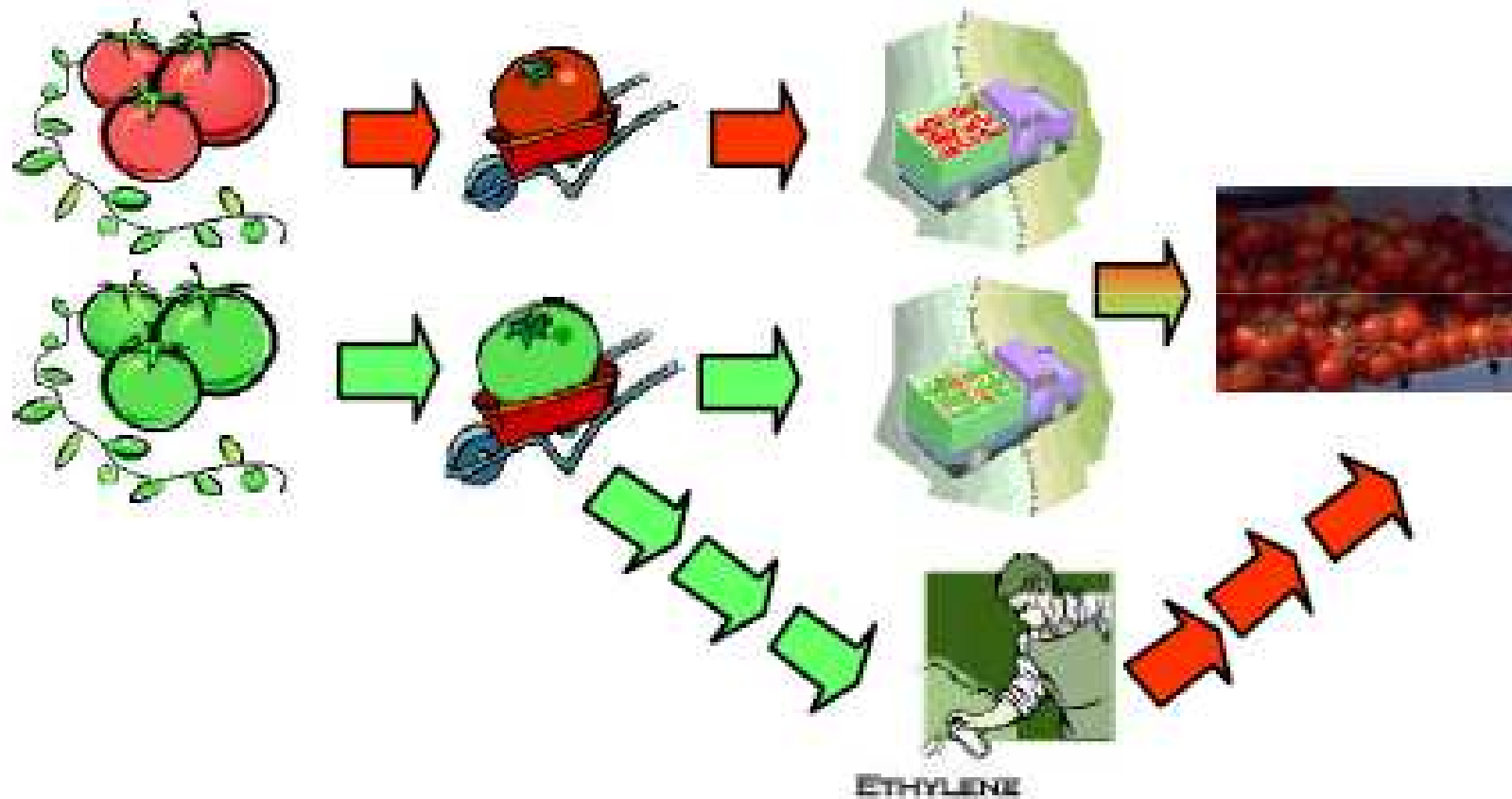


sintesi etilene

Softening:
ammorbidimento - degradazione parete

Over-maturazione:
attività poligalatturonasi

Per evitare la overmaturazione i pomodori sono raccolti ancora verdi



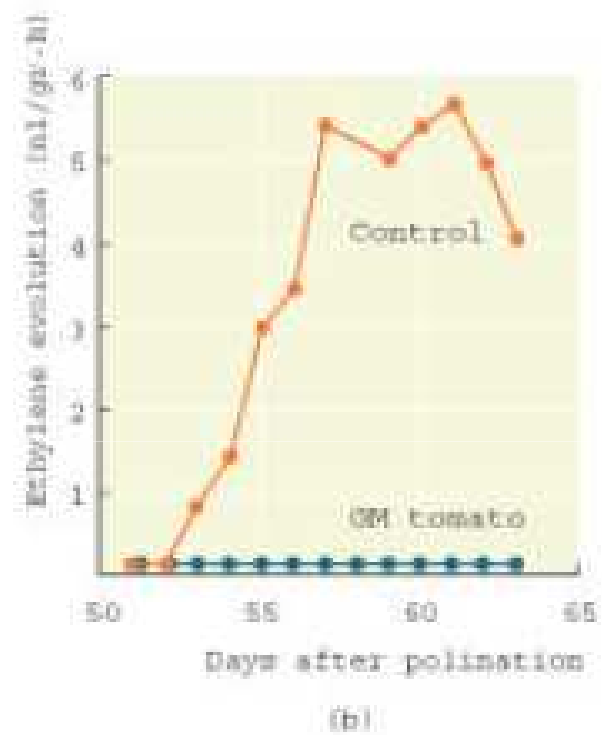
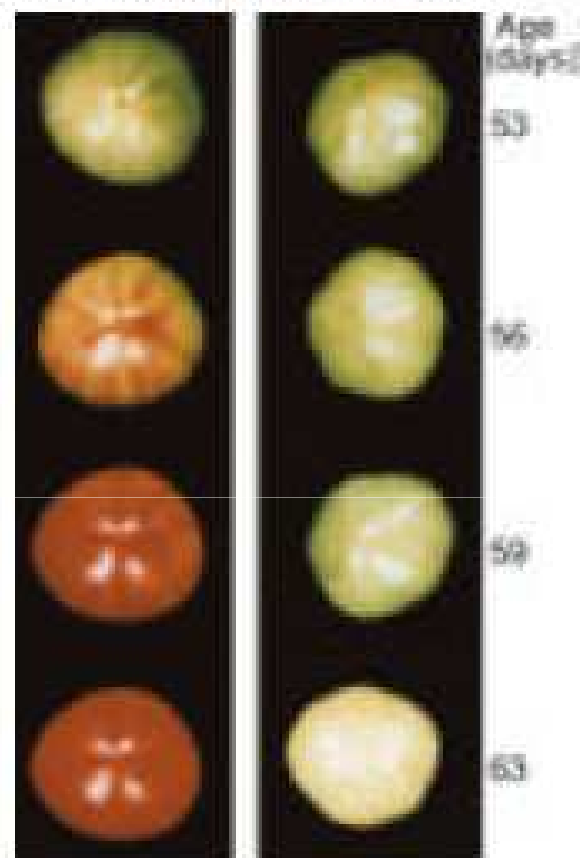
EFFETTI DELL'ETILENE

- Maturazione dei frutti
- Abscissione (foglie, fiori, frutti)
- Epinastia
- Allungamento del fusto in suoli allagati (riso)
- Mantenimento della chiusura dell'uncino durante la germinazione
- Senescenza di fiori e foglie

Strategie per alterare la senescenza del frutto: **bloccare l'etilene**

- **Due vie per prevenire la produzione di etilene**
 - bloccare la produzione usando RNA antisenso di enzimi chiave nel pathway biosintetico
 - Aggiungere un enzima che degrada il precursore dell'etilene

CONTROL TRANSGENIC

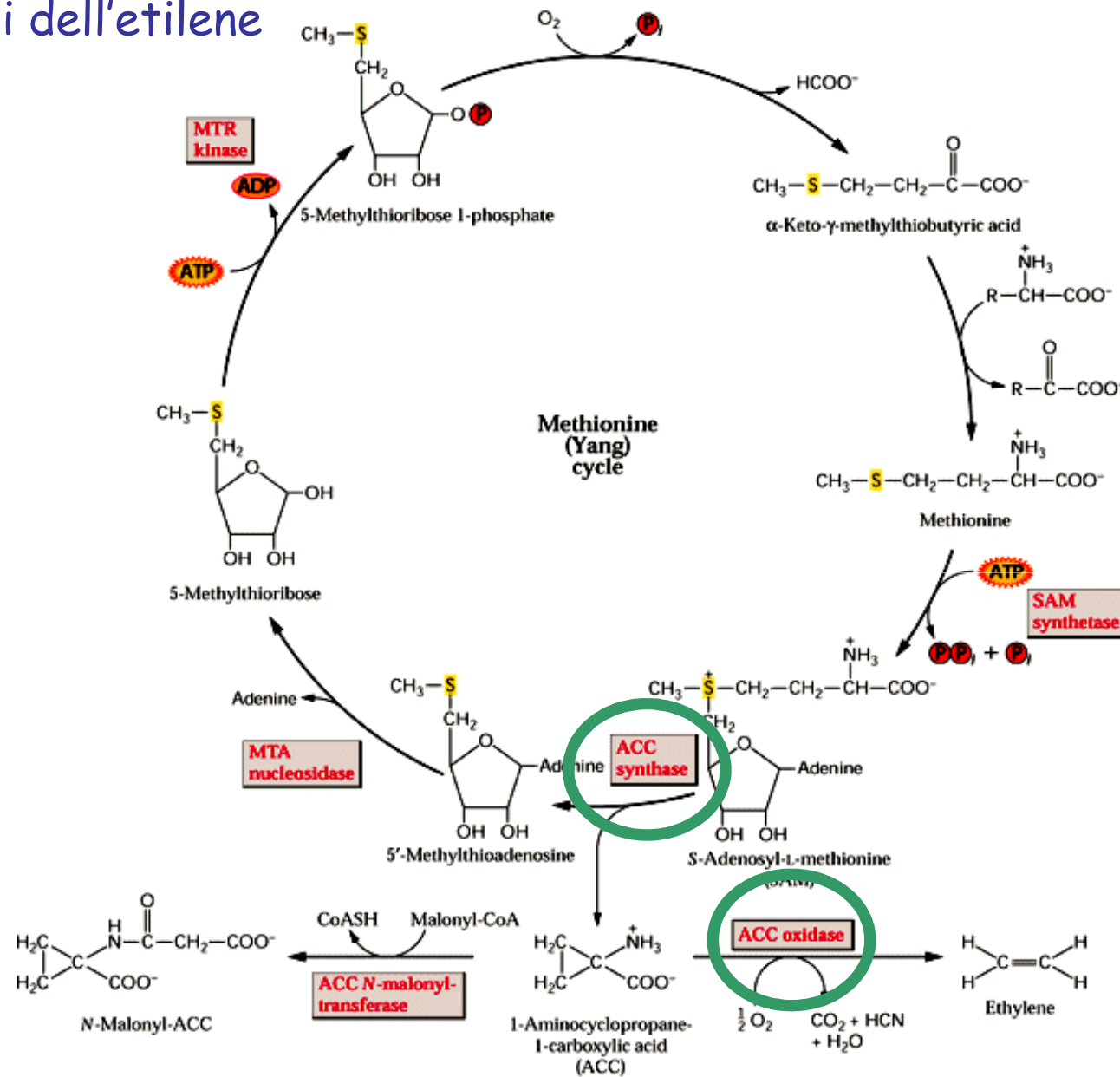


controllo della maturazione del frutto



**bloccare la produzione usando RNA
antisenso di enzimi chiave nel pathway
biosintetico dell'etilene**

biosintesi dell'etilene



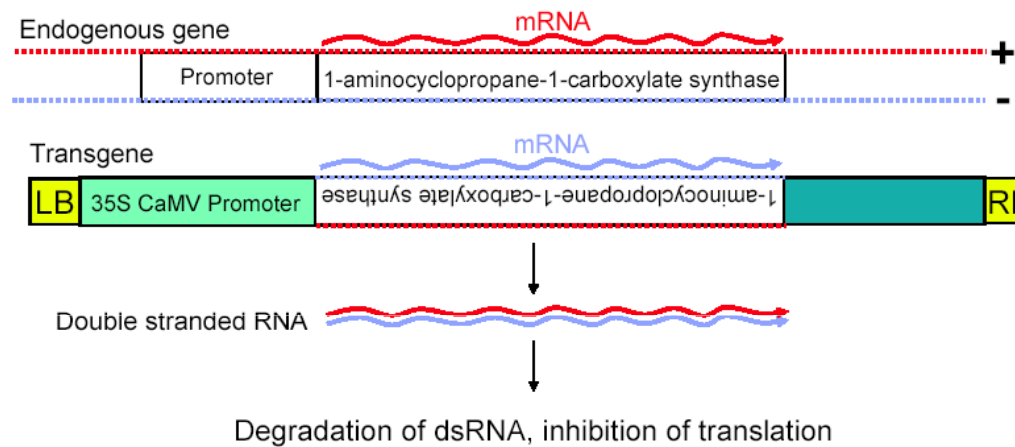
1345-4

Host Organism / Variety	<i>Lycopersicon esculentum</i> (Tomato)
Trait	Increased shelf-life (delayed ripening) due to reduced ethylene accumulation through introduction of truncated 1-aminocyclopropane carboxylic acid (ACC) synthase gene.
Trait Introduction Method	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> -mediated plant transformation.
Proposed Use	Production of tomatoes for human consumption, either fresh or processed.
Company Information	DNA Plant Technology Corporation

**Silenziamento genico
(Co-soppressione) del gene
endogeno indotto dal
transgene**

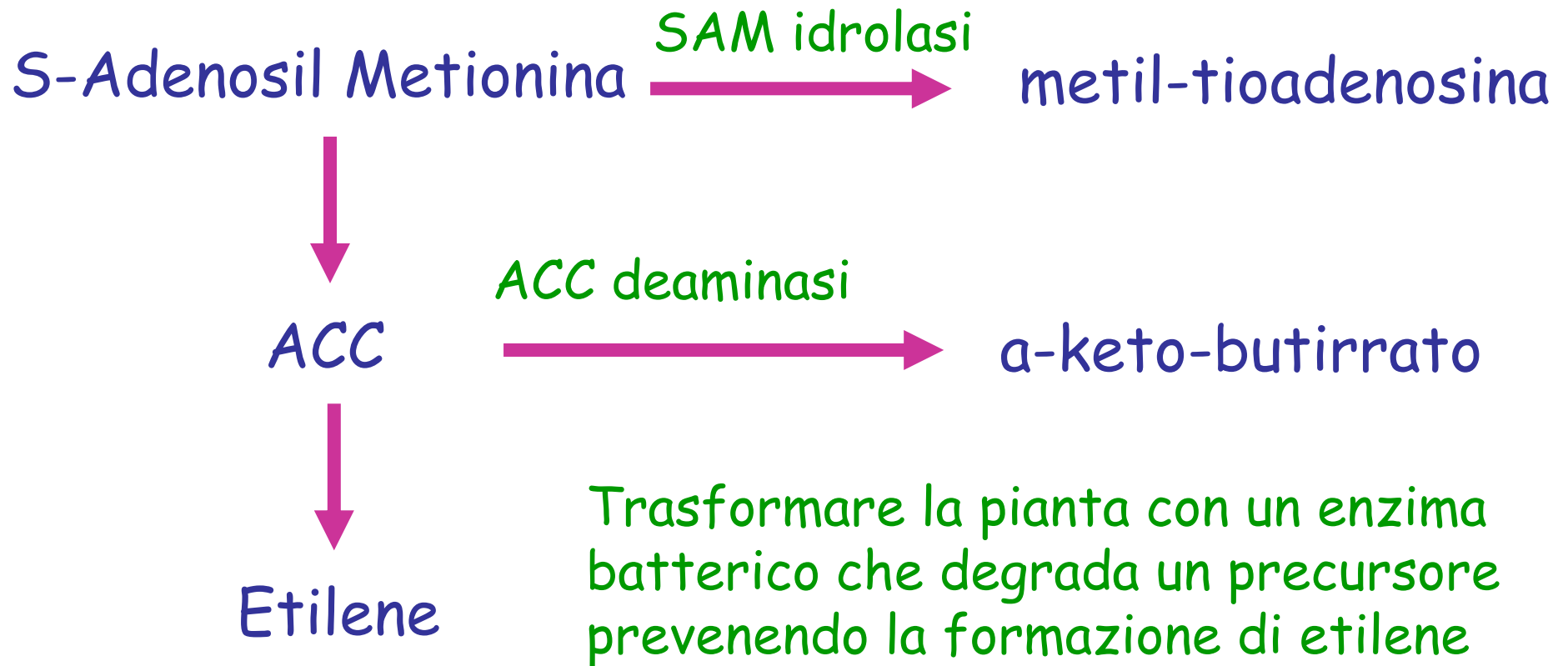
- ACC-sintasi anti-senso

Antisense Suppression of Genes



- Ethylene biosynthesis blocked
- Tomato fruit ripening inhibited

**Aggiungere un enzima che degrada il
precursore dell'etilene**



- espressione di ACCd (ACC deaminasi) → riduzione dei livelli del precursore ACC (pomodoro)
- espressione di SAM idrolasi → riduzione dei livelli del precursore SAM (pomodoro, melone)

Linea	Transgene	Trasformazione	Società
1345-4	• Promotore 35S • ACC sintasi troncata • senso • cosoppressione	<i>Agrobacterium</i>	DNA Plant Technology
35 1 N	• Promotore frutto, azione postclimaterica • SAM idrolasi • senso	<i>Agrobacterium</i>	Agritope
8338	• Promotore 35S • ACC deaminasi • senso	<i>Agrobacterium</i>	Monsanto



Maturazione: softening
Endoglucanasi
XET
Glucosidasi



Over-maturazione
poligalatturonasi

Il pomodoro si ammorbidisce a causa della presenza della Poligalatturonasi (PG), un enzima che degrada la pectina



IDEA: mantenere il pomodoro compatto anche quando è lasciato maturare sulla pianta

Spegnere il gene per la PG

In assenza di PG ----> assenza di degradazione della pectina

FLAVR SAVR tomato

1° alimento geneticamente modificato

Calgene, Inc. (Davis, CA) 1994

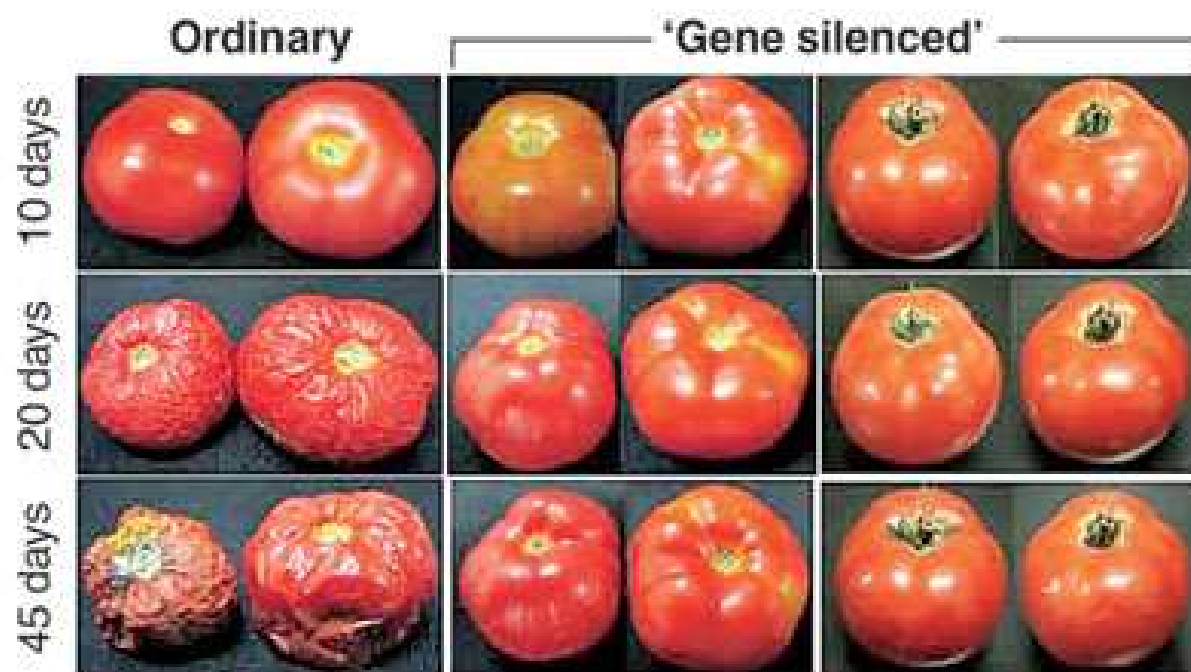
Strategia ----> Gene PG antisenso

- Generazione di piante di pomodoro transgenico con un gene PG di pomodoro orientato antisenso
- Brevetto ampio in 1992
- 1994 la FDA approva la vendita di FLAVR SAVR

Non più in commercio per le caratteristiche di bassa resa e di estrema delicatezza del frutto.

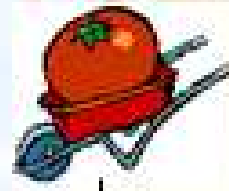
Costrutto transgenico non in una buona varietà, a causa di performance su campo scarse.

Inoltre costo superiore alle varietà non GM.



Flavr Savr

The Flavr Savr tomato ripens on the vine – resulting in fuller flavour. It is modified so that it remains firm after harvesting.

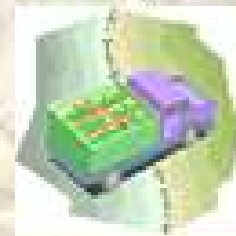


Ripe and Increased Flavour.

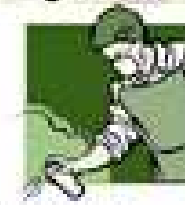


Traditional

The traditional tomato must be harvested while it is still green and firm so that it is not crushed on the way to the supermarket.



The traditional tomato is sprayed with ethylene after shipping to induce ripening.



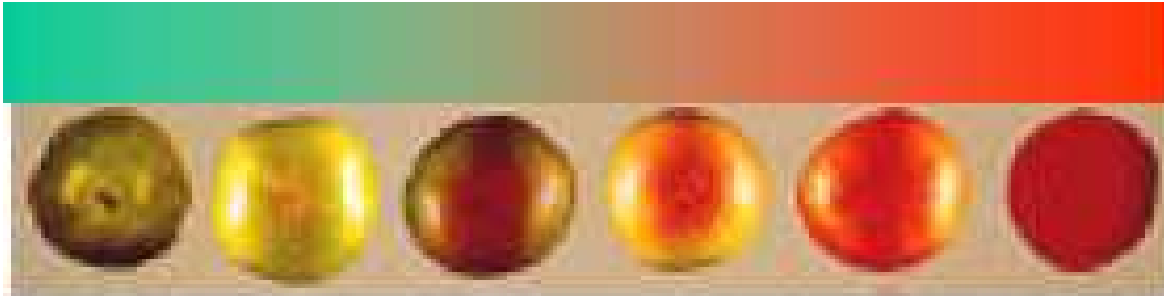
ETHYLENE

Ripe but decreased Flavour.



...riassumendo

Maturazione del pomodoro



sintesi etilene

- Cosoppressione ACC-sintasi
- Espressione SAM-idrolasi
- Espressione ACC-deaminasi

= NO ETILENE

Softening:
degradazione parete

Over-maturazione:
attività poligalatturonasi

Silenziamento PG
per ottenere
pomodori che non
over maturano

BIOTECNOLOGIE PER IL MIGLIORAMENTO DELLE QUALITA' NUTRIZIONALI

- Uso dell'ingegneria genetica per migliorare:
 - livelli di β -carotene
 - contenuto di amminoacidi
 - contenuto di lipidi
 - altri - vit E, Ferro, etc.

GOLDEN RICE

Il riso brillato non contiene β -carotene

200 milioni di donne e bambini sono affetti da carenza di Vitamina A

ogni anno circa 500000 bambini diventano ciechi

circa 2 milioni di bambini muoiono ogni anno per malattie da carenza di Vit. A



Ingo Potrykus (Svizzera)
Peter Beyer (Germania)



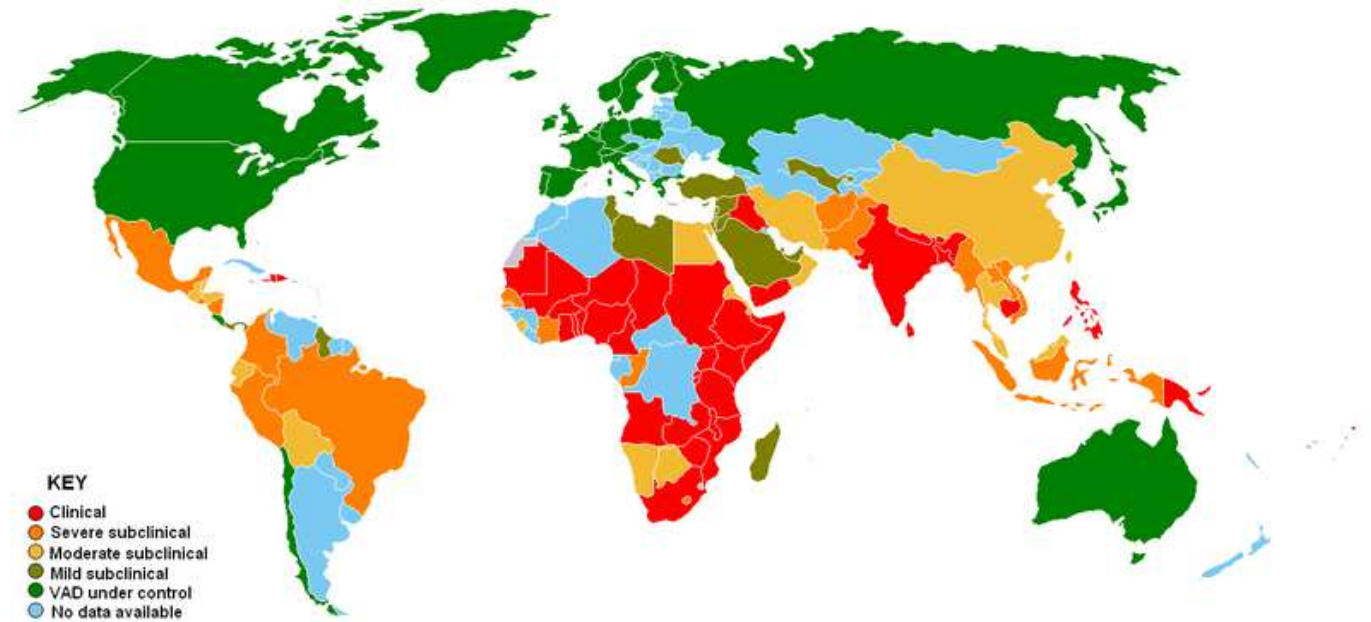
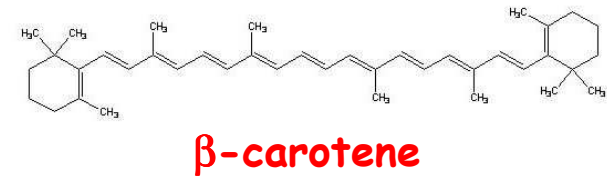
GOLDEN RICE

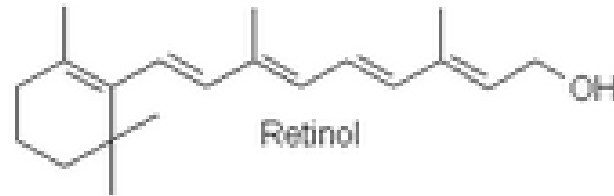
Il riso brillato non contiene β -carotene

200 milioni di donne e bambini sono affetti da carenza di Vitamina A

ogni anno circa 500000 bambini diventano ciechi

circa 2 milioni di bambini muoiono ogni anno per malattie da carenza di Vit. A





GOLDEN RICE



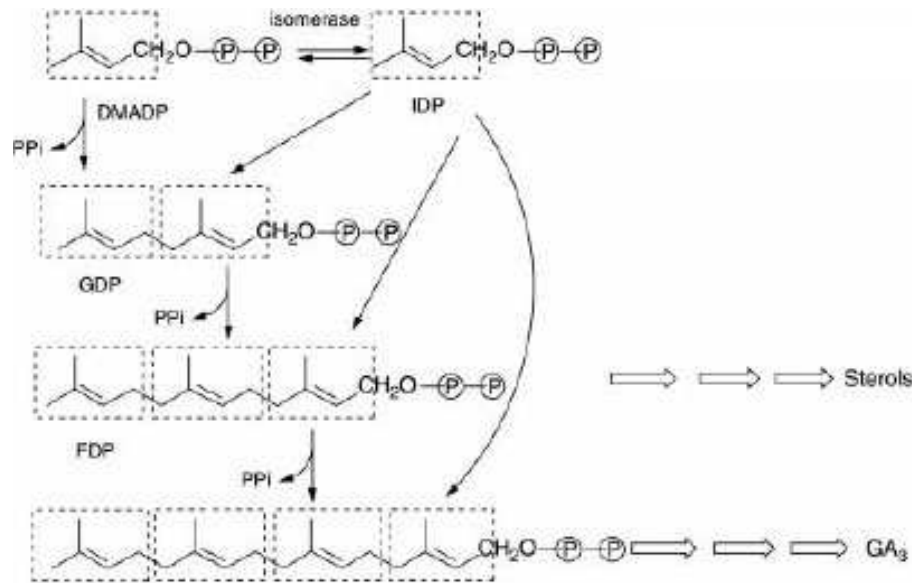
FUNZIONI

- Visione
- Differenziamento cellule epiteliali
- Fertilità
- Cheratinizzazione

CARENZA VITAMINA A

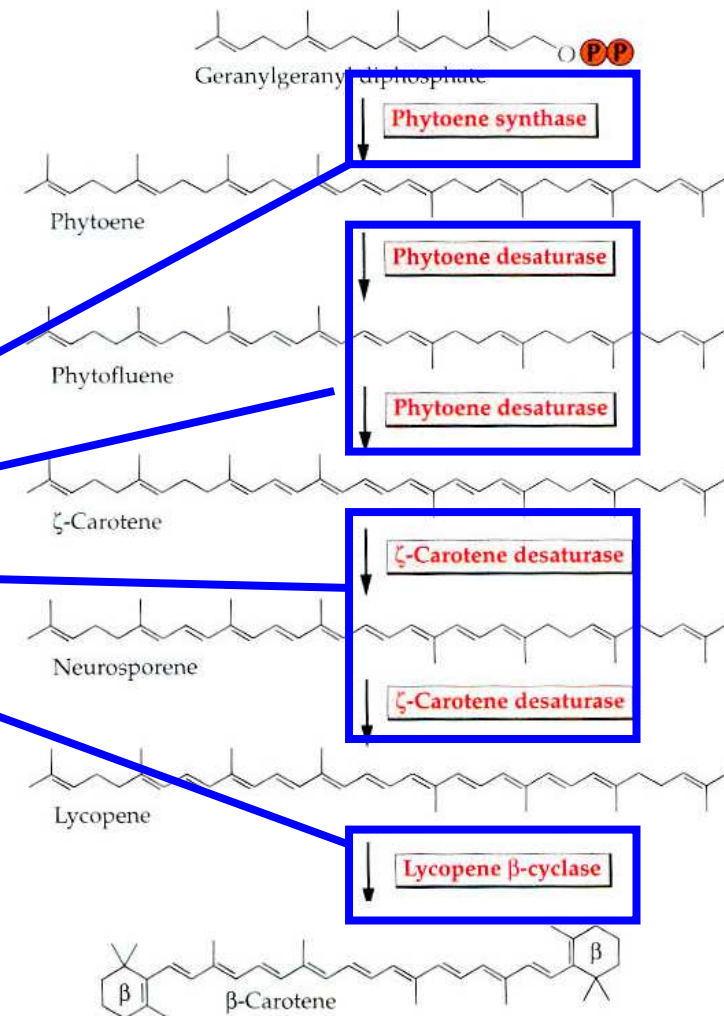
- Diarrea
- Malattie della pelle
- Cecità
- Infertilità
- Malattie respiratorie

GOLDEN RICE



**enzimi
mancanti
nel riso**

**via biosintetica dei
carotenoidi**





Ingo Potrykus (Svizzera)
Peter Beyer (Germania)



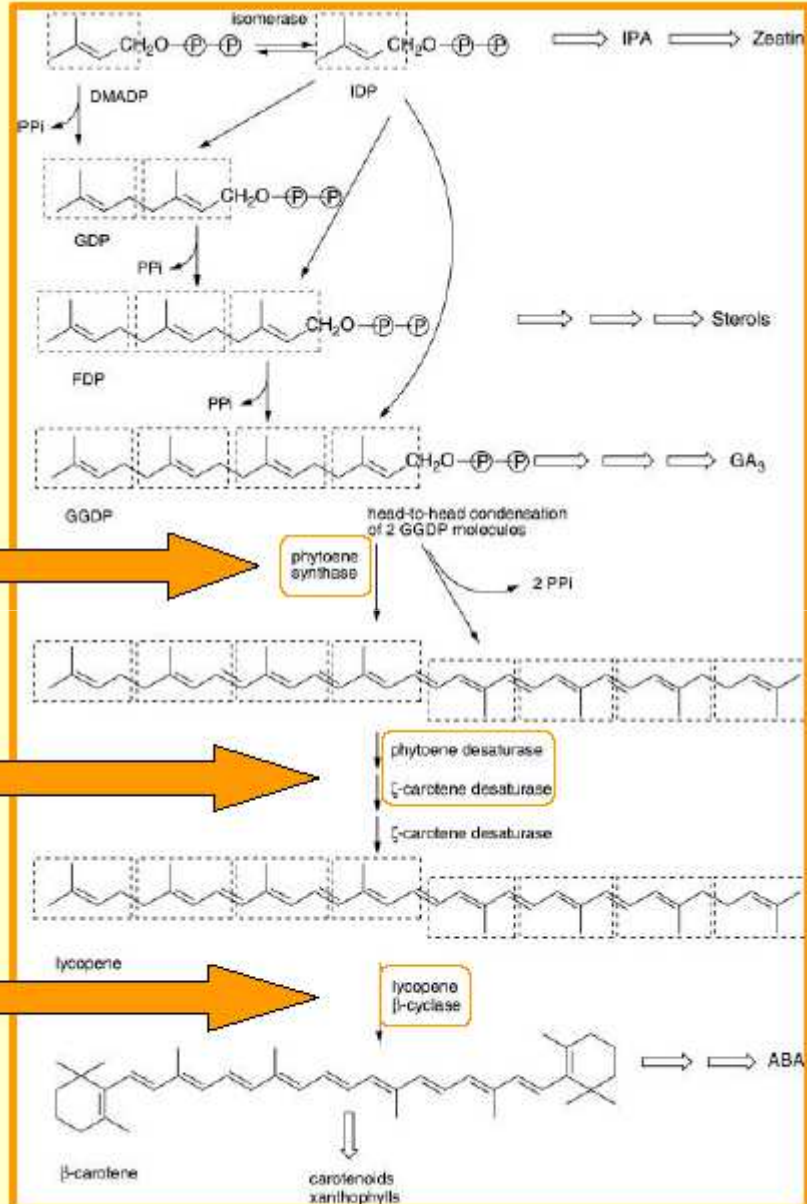
Far produrre al riso il β -carotene
anche a livello dell'endosperma del
seme

Geni aggiunti nel GOLDEN RICE, per completare la parte mancante della via biosintetica dei carotenoidi

psy
(fitoene sintasi di narciso)

ctr 1
(carotene desaturasi batterica)

lcy
(licopene beta-ciclasti di narciso)



Engineering the Provitamin A (β -Carotene) Biosynthetic Pathway into (Carotenoid-Free) Rice Endosperm

Science vol. 287

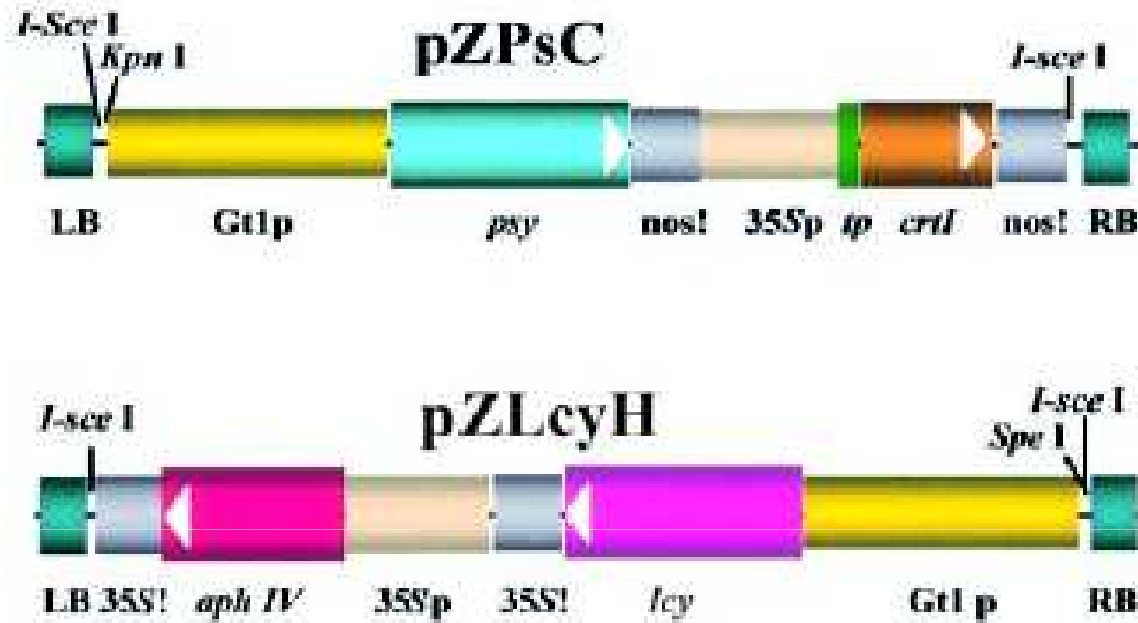
14 Jan 2000

Xudong Ye,^{1*†} Salim Al-Babili,^{2*} Andreas Klöti,^{1‡} Jing Zhang,¹
Paola Lucca,¹ Peter Beyer,^{2§} Ingo Potrykus^{1§}

- ① **Clonaggio**
 - fitoene sintasi (*Narcissus pseudonarcissus*)
 - fitoene desaturasi (*Erwinia uredovora*)
 - licopene ciclasi (*Narcissus pseudonarcissus*)
- ② **Agrobacterium tumefaciens**
- ③ **Trasformazione embrioni di riso**
- ④ **Analisi dei trasformanti**

CO-TRASFORMAZIONE

GOLDEN RICE



500 embrioni immaturi sono stati inoculati con una miscela di *Agrobacterium* LB4404/pZPsC LB4404/pZLcyH

12, tra i 60 resistenti alla igromicina, avevano entrambi i costrutti

- psy* fitoene sintasi di narcisio
- crtI* fitoene desaturasi di *Erwinia uredovora* fusa a *tp* peptide di transito per il plastide
- lcy* licopene β -ciclastasi di narciso
- Gt1p* promotore della glutelina dell'endosperma
- aph IV* resistenza all'igromicina
- 35Sp* promotore CaMV 35S
- 35S!* terminatore CaMV 35S

TRASFORMAZIONE CON UN UNICO VETTORE



- psy* fitoene sintasi di narcisio
- crtI* fitoene desaturasi di *Erwinia uredovora*
- fusa a *tp* peptide di transito per il plastide
- Gt1p promotore della glutelina dell'endosperma
- aph IV* resistenza all'igromicina
- 35Sp promotore CaMV 35S
- 35S! terminatore CaMV 35S
- nos! terminatore nos

si sarebbe dovuto formare licopene

800 embrioni immaturi
sono stati inoculati con
Agrobacterium
LB4404/pB19hpc

50 sono stati
selezionati per la
resistenza alla
igromicina

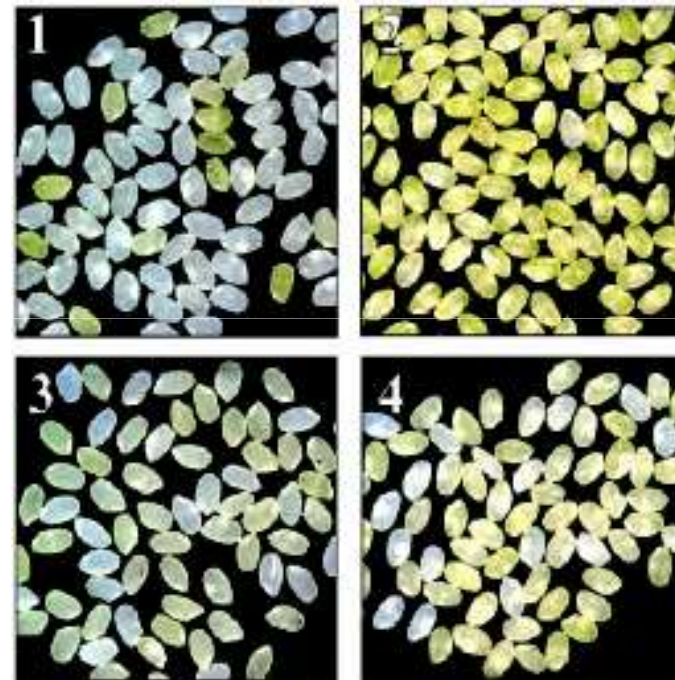
trasformazione con pB19hpc

controllo



non si forma licopene, ma la
sintesi procede a β -carotene;
probabilmente nell'endosperma
è espressa la licopene β -ciclasi

co-trasformazione con pZPsC e pZLcyH

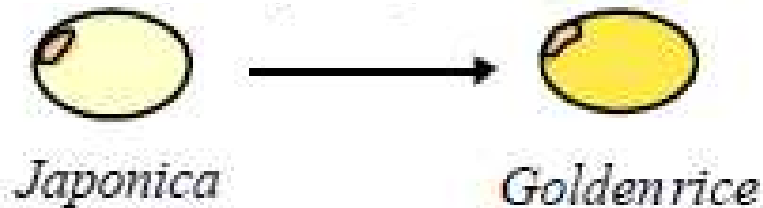


linee con diversi livelli di
sintesi di beta-carotene
Le migliori ne contengono 2
 $\mu\text{g/g}$ di riso

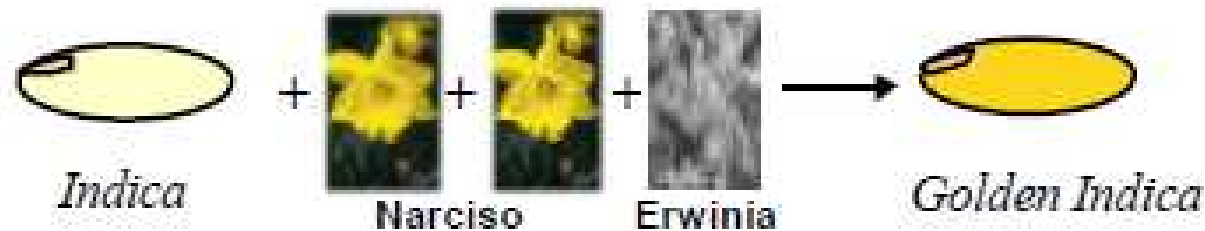
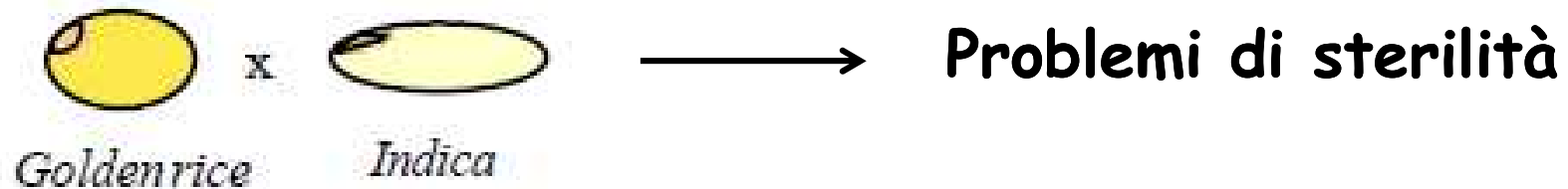
GOLDEN RICE

- Sviluppato da istituti di **ricerca pubblica**, non da industrie biotec
- Contiene un numero elevato di brevetti, ma il suo uso sarà consentito a scopo umanitario; gli agricoltori con reddito inferiore a \$ 10000 potranno usarlo e riseminarlo
- E' in corso l'adattamento a varietà locali di riso dei paesi asiatici mediante breeding tradizionale presso i Centri di Ricerca di quei paesi

il Golden rice è stato inizialmente realizzato trasformando la varietà Taipei 309 di tipo Japonica



Le cultivar di tipo indica rappresentano il 90% del consumo di riso delle popolazioni asiatiche

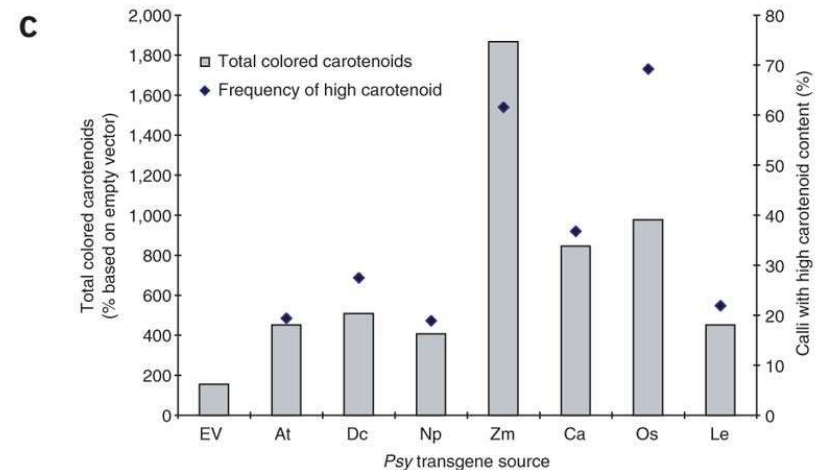
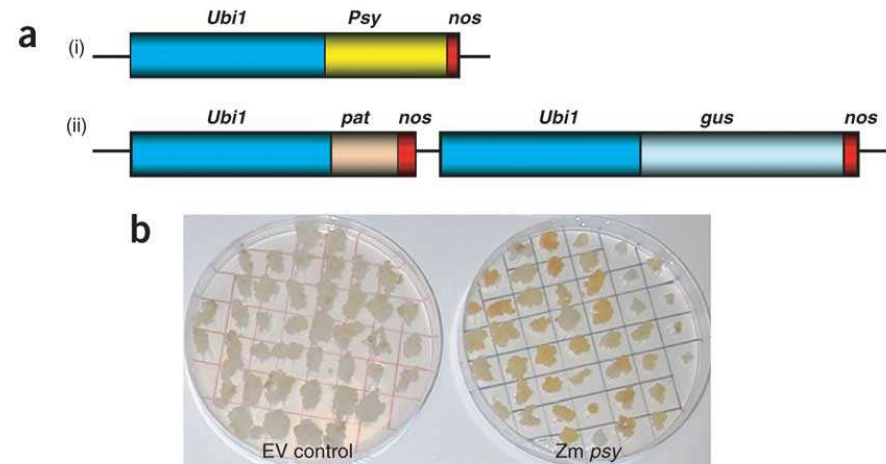


Improving the nutritional value of Golden Rice through increased pro-vitamin A content

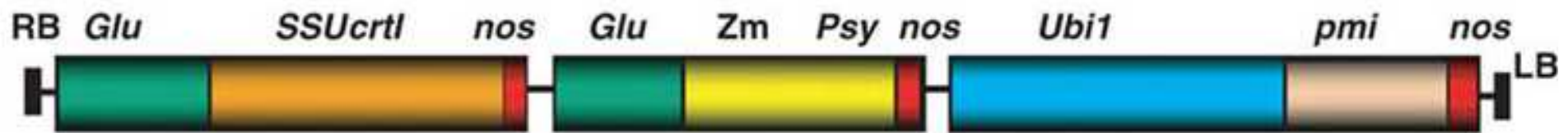
Jacqueline A Paine¹, Catherine A Shipton¹, Sunandha Chaggar¹, Rhian M Howells¹, Mike J Kennedy¹, Gareth Vernon¹, Susan Y Wright¹, Edward Hinchliffe², Jessica L Adams³, Aron L Silverstone³ & Rachel Drake¹

La fitoene sintasi è l'enzima limitante nella via biosintetica del β -carotene

Trasformazione di calli con geni *psy* di varie specie vegetali



GOLDEN RICE II



SSUcrtI: carotene desaturasi batterica fusa al peptide di transito per il cloroplasto della RUBISCO

Glu: promotore della glutelina

Zm Psy: fitoene sintasi di mais

Ubi1: promotore della ubiquitina

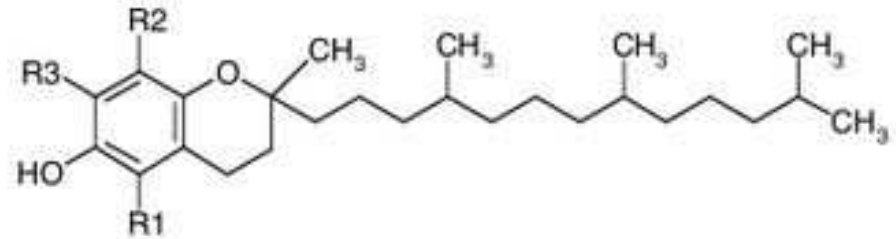
pmi: fosfomannosio isomerasi

Narciso

Mais



VITAMINA E



tocoferolo

AZIONE

Antiossidante e anti-radicali liberi
Previene ossidazione acidi grassi
membrana plasmatica → integrità cellule

RDA

10-13 UI

(7-9 mg α -tocoferolo)

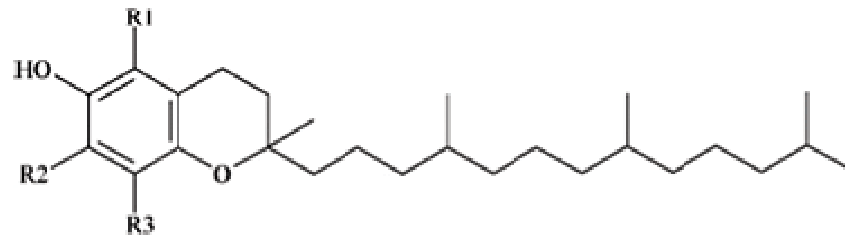
Dosi superiori (100-1000 UI) →

- riduzione malattie cardiovascolari
- riduzione processi degenerativi

60% —→ OLI VEGETALI

40% —→ ALTRI ALIMENTI

VITAMINA E



$R_1 = \text{CH}_3$ $R_2 = \text{CH}_3$ $R_3 = \text{CH}_3$ = α -tocopherol

$R_1 = \text{CH}_3$ $R_2 = \text{CH}_3$ $R_3 = \text{H}$ = β -tocopherol

$R_1 = \text{H}$ $R_2 = \text{CH}_3$ $R_3 = \text{CH}_3$ = γ -tocopherol

Molti oli vegetali contengono alti livelli di γ -tocopherolo e bassi livelli di α -tocopherolo

Sovraespressione del gene della γ -tocopherolometiltransferasi

NON TUTTI I TOCOFEROLI HANNO LA STESSA EFFICACIA

Uguale assorbimento

Diversa distribuzione nel corpo

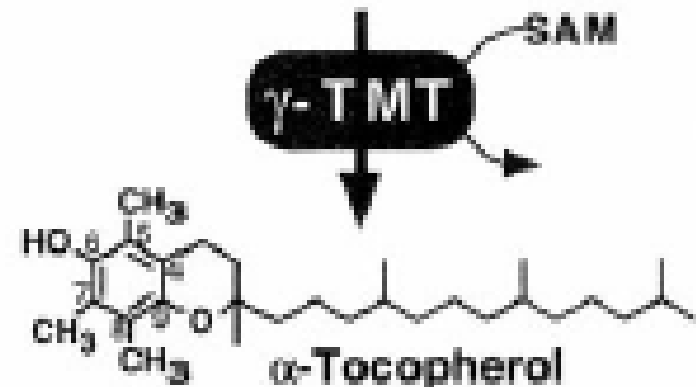
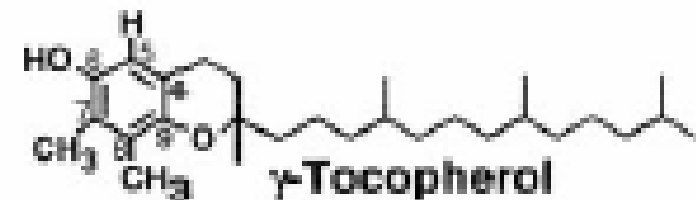
ATTIVITA'

α -tocopherolo 100

β -tocopherolo 50

γ -tocopherolo 10

δ -tocopherolo 3



Miglioramento delle qualità
nutrizionali

AMMINOACIDI

i semi dei cereali contengono il 15-20% di proteine

➡ basso contenuto di lisina



i legumi contengono il 20-30% di proteine

➡ basso contenuto di S-amminoacidi



Strategie per incrementare il contenuto di aminoacidi

- Aumentare la quantità di uno **specifico aminoacido**
- Alterare le **proteine di riserva** del seme
 - mutagenesi sito-specifica per modificare gli aa
- Aggiungere **proteine nuove** con un "corretto" contenuto di aa

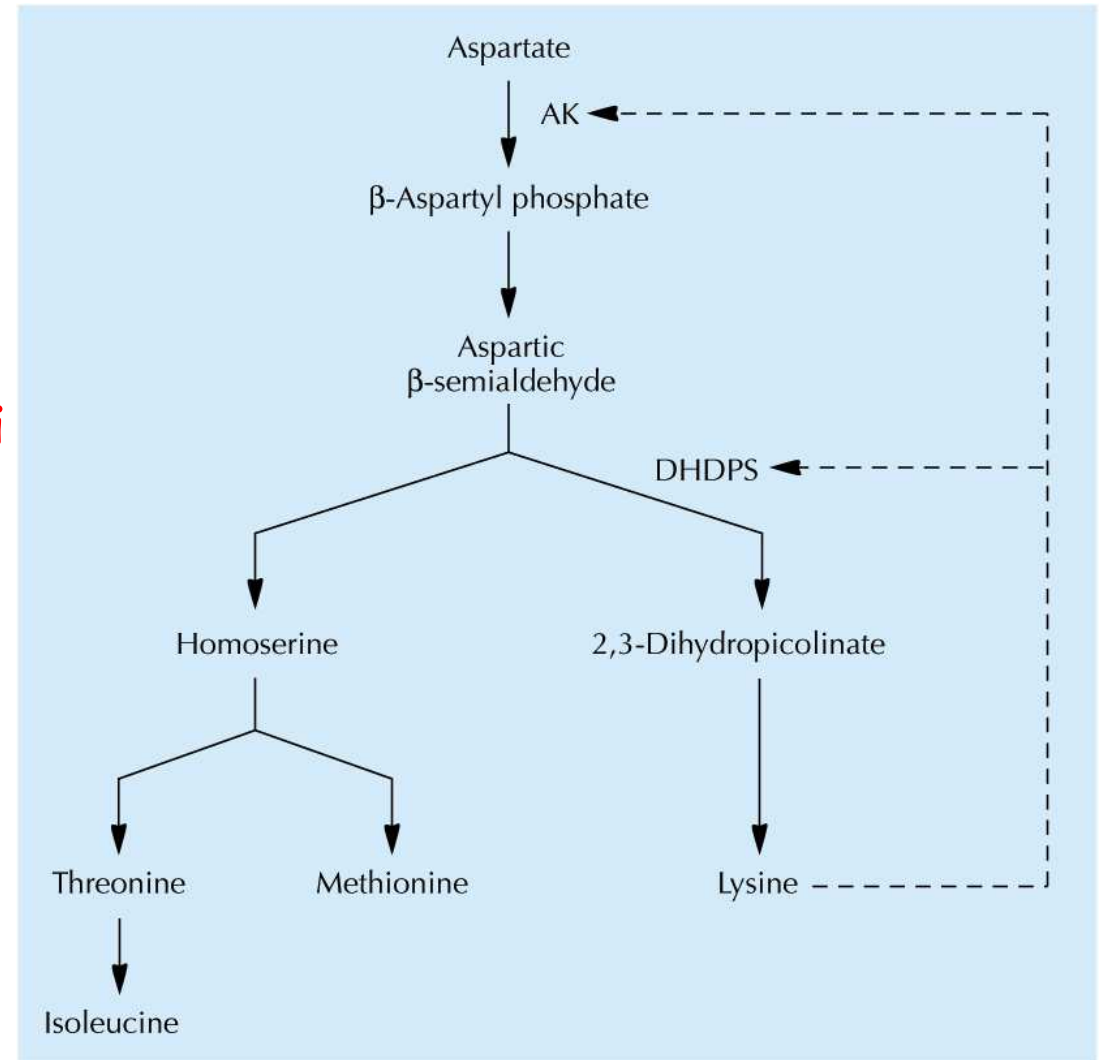
manipolazione delle vie biosintetiche

aspartato chinasi (AK) e
diidropicolinato sintasi
(DHDPS) sono il punto di
controllo della via
biosintetica

forme di aspartato chinasi e di
DHDPS insensibili al feedback
sono state clonate in piante
di soia



aumento di circa 100 volte
della lisina libera nei semi



LY038

Varietà di mais con aumentati livelli di lisina

per alimentazione del bestiame



Elementi genici introdotti

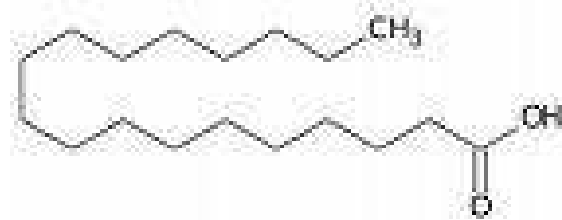
Code	Name	Type	Promoter, other	Terminator	Copies	Form
<i>cordapA</i>	dihydrodipicolinate synthase (<i>Corynebacterium glutamicum</i>)	AA	promoter from <i>globulin 1</i> (Glb1) gene from <i>Zea mays</i> rice actin gene intron (rAct1) and <i>Z. mays</i> chloroplast transit peptide sequence for DHDPS	Glb1 gene 3' non-translated region from <i>Z. mays</i>	1 functional	

Incrociato con MON810 per inserire anche la resistenza alla piralide

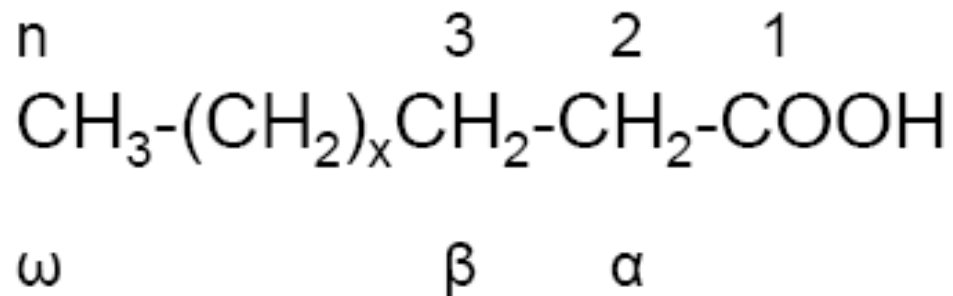
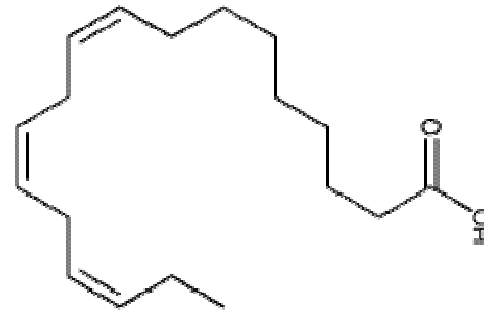
E' POSSIBILE VARIARE IL
CONTENUTO DI ACIDI GRASSI?

ACIDI GRASSI: acidi carbossilici con 12 o più atomi di C

➤ acidi grassi saturi



➤ acidi grassi insaturi
- monoinsaturi
- poliinsaturi



acidi grassi saturi

Nome comune	Numero di atomi di carbonio	
Formico ¹	1	Prende parte al metabolismo dell'unità "C ₁ " (formiato)
Acetico	2	Principale prodotto finale nella fermentazione ² dei carboidrati nei ruminanti
Propionico	3	Altro prodotto finale della fermentazione ² dei carboidrati nei ruminanti
Butirrico	4	Presente in piccole quantità in certi grassi (specialmente burro). Altro prodotto finale nella fermentazione dei carboidrati dei ruminanti
Valerico	5	
Caproico	6	
Caprilico (ottanoico)	8	Presente in piccole quantità in molti grassi (compreso il burro) specialmente quelli di origine vegetale
Caprico (decanoico)	10	
Laurico	12	Spermaceti, cannella, semi di palma, olio di cocco, alloro, burro
Miristico	14	Noce moscata, semi di palma, olio di cocco, mirtillo, burro
Palmitico	16	Comune in tutti i grassi animali e vegetali
Stearico	18	
Arachidico	20	Olio di arachidi
Behenico	22	Semi
Lignocericico	24	Cerebrosidi, olio di arachidi

1-4C: a catena corta

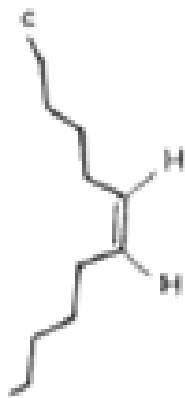
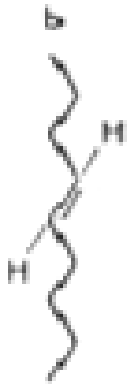
5-10C: a catena media

denominazione numerica
es: acido stearico = 18:0

12-20C: a catena lunga

>20C: a catena molto lunga

acidi grassi insaturi

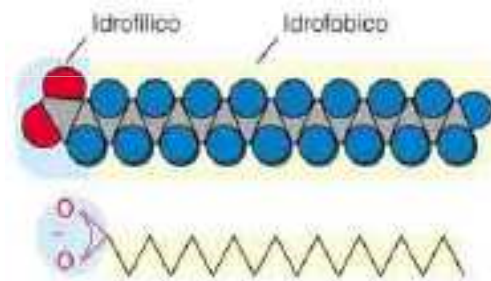


a = ac. grasso saturo

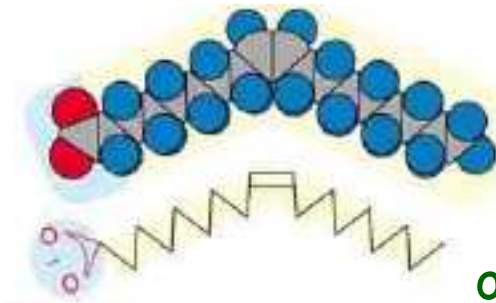
b = ac. grasso monoinsaturo trans

c = ac. grasso monoinsaturo cis

nei monoinsaturi in genere il
doppio legame è C9-C10



stearato



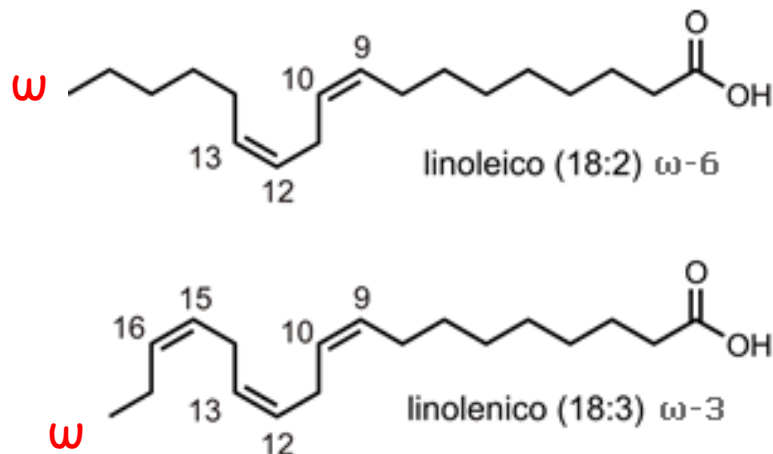
oleato

in natura la configurazione è
quasi sempre cis

acidi grassi insaturi

Ac. oleico	o	18:1; ω 9	(18:1; n-9)
Ac. linoleico	o	18:2; ω 6	(18:2; n-6,9)
Ac. linolenico	o	18:3; ω 3	(18:3; n-3,6,9)

a seconda della posizione dell'ULTIMO doppio legame, si identificano diverse serie di acidi grassi insaturi
le più importanti sono omega-3, omega-6, omega-9



l'acido oleico (ω 9) può essere sintetizzato dall'organismo, gli ω 3 e gli ω 6 no



acidi grassi essenziali

omega-3

acidi grassi polinsaturi

(olio di pesce, olio semi di lino)

acido alfa linolenico

acido eicosapentenoico (EPA) (20:5)

acido docosaesaenoico (DHA) (22:6)



EFFETTI

- riduzione dei livelli di trigliceridi nel sangue
- riduzione del colesterolo (LDL)
- riduzione dell'aggregazione piastrinica (azione antitrombotica)
- controllo della pressione arteriosa (azione sulla fluidità delle membrane - elasticità endotelio)

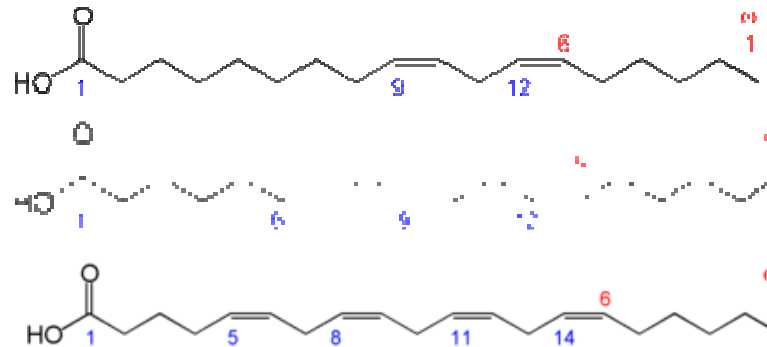
omega-6

(frutta secca, borragine, oli vegetali)

acido linoleico (18:2)

acido γ -linolenico (18:3)

acido arachidonico (20:4)



EFFETTI

- riduzione del colesterolo (però anche HDL)
- dermatiti (eczema atopico)
- **effetti negativi: competono con gli omega-3**



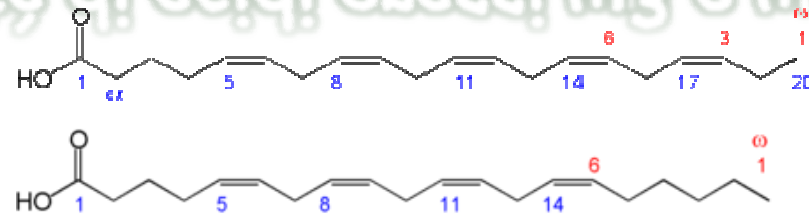
importanza del rapporto $\omega 3/\omega 6$

Miglioramento delle qualità
nutrizionali

Aumento della quantità di acidi grassi $\omega 3$ e $\omega 6$

Acido eicosapentenoico

Acido arachidonico



Inserimento di copie aggiuntive dei geni codificanti elongasi e desaturasi



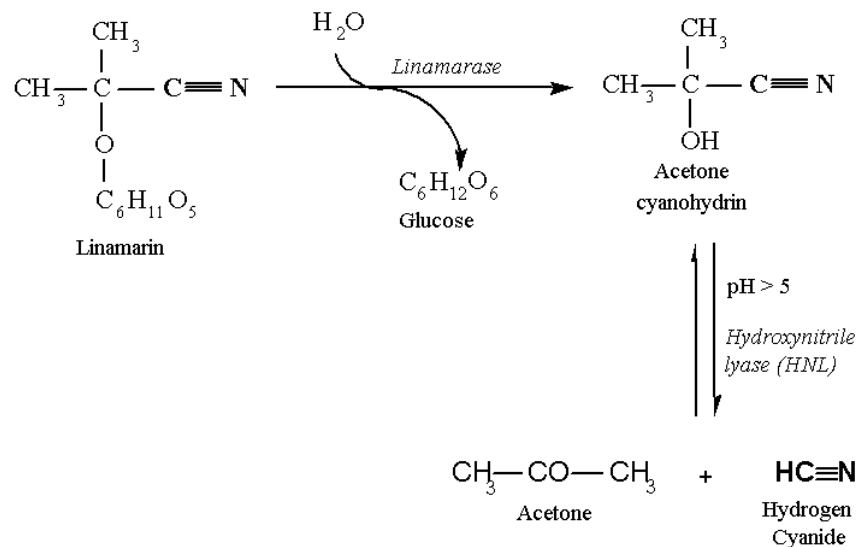
E' POSSIBILE RIDURRE LA
QUANTITA' DI MOLECOLE NON
DESIDERATE?

CASSAVA



radici ricche di amido

elevata capacità di tollerare condizioni ambientali estremamente sfavorevoli



la manioca contiene glucosidi cianogenici, composti tossici capaci di liberare acido cianidrico

l'intossicazione da cianuro può essere acuta o cronica (malattia di Konzo: progressiva paralisi)

il trattamento post-raccolta può influenzare il contenuto di glucosidi cianogenici

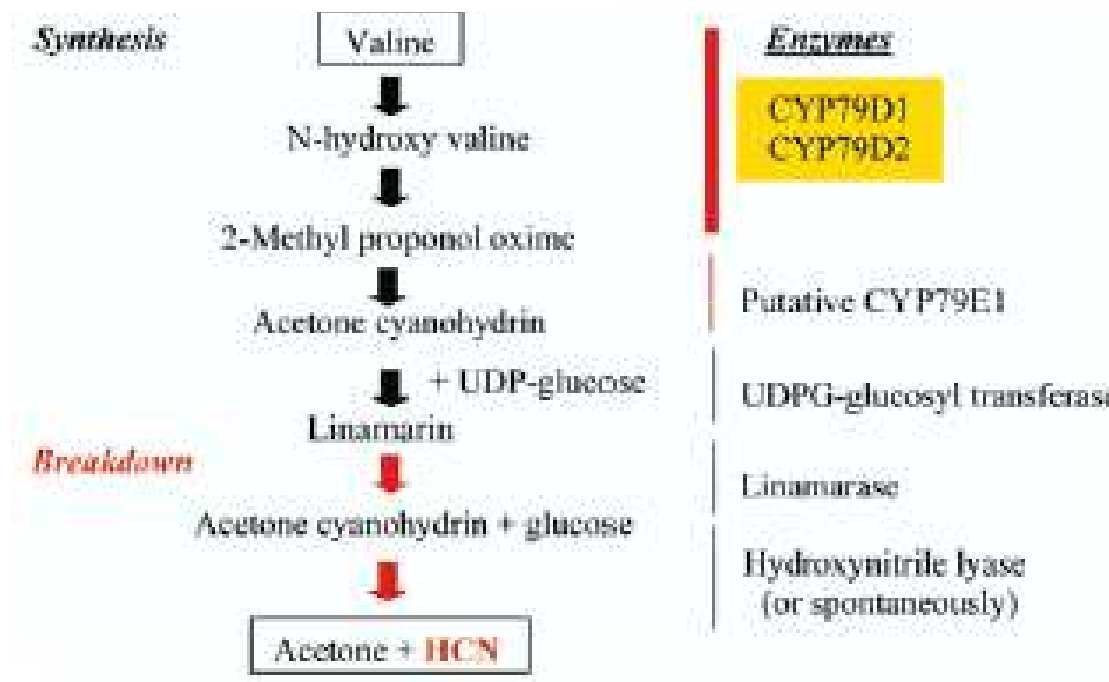
la macerazione in acqua
ne riduce i livelli



**E' POSSIBILE OTTENERE UNA VARIETA'
DI CASSAVA CHE NON CONTENGA
GLUCOSIDI CIANOGENICI?**

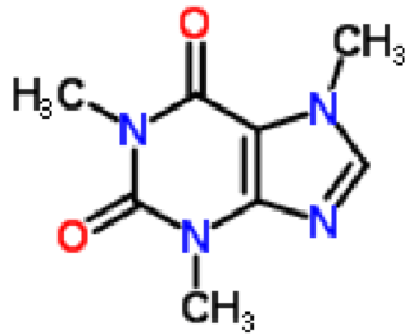
Dimuth Siritunga · Richard T. Sayre

Generation of cyanogen-free transgenic cassava



Silenziamento di geni che codificano per enzimi della via biosintetica della linamarina

CAFFE' DECAFFEINATO



La caffeina è un alcaloide prodotto da *Camellia sinensis* (pianta del tè) e da *Coffea arabica* (pianta del caffè)



Effetti della caffeina:

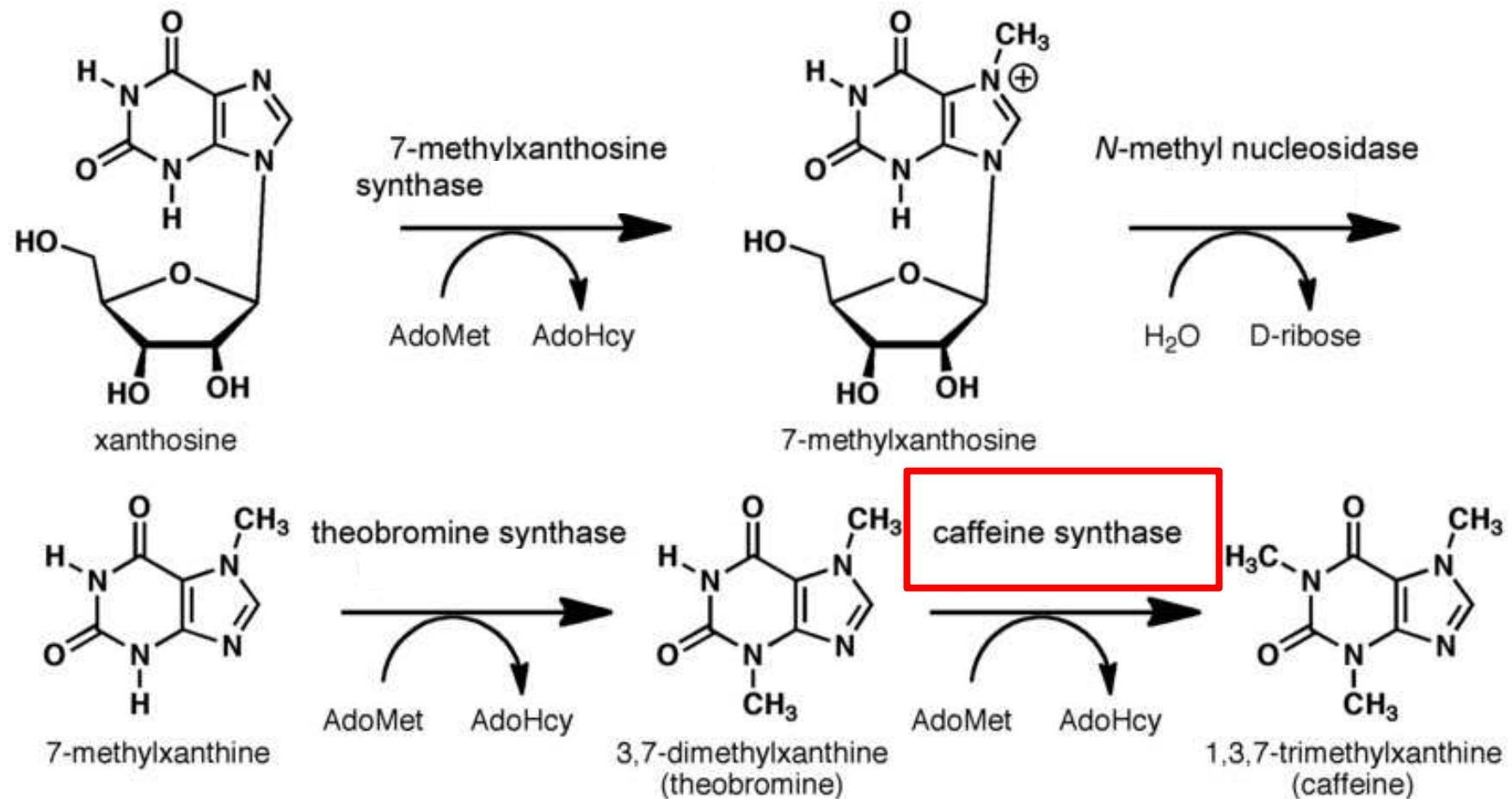
- palpitazioni
- aumento pressione arteriosa
- ansia
- insonnia
- disturbi gastrointestinali

Processi di decaffeinizzazione

- Estrazione con solvente: diclorometano, acetato di etile
- Estrazione con CO_2 supercritica (processo costoso)

Vengono rimosse anche altre sostanze che danno al caffè aroma e sapore

BIOSINTESI DELLA CAFFEINA



Caffeina sintasi: instabile, è stata difficile da isolare



**Silenziamento mediante RNAi del gene della
Caffeina sintasi**



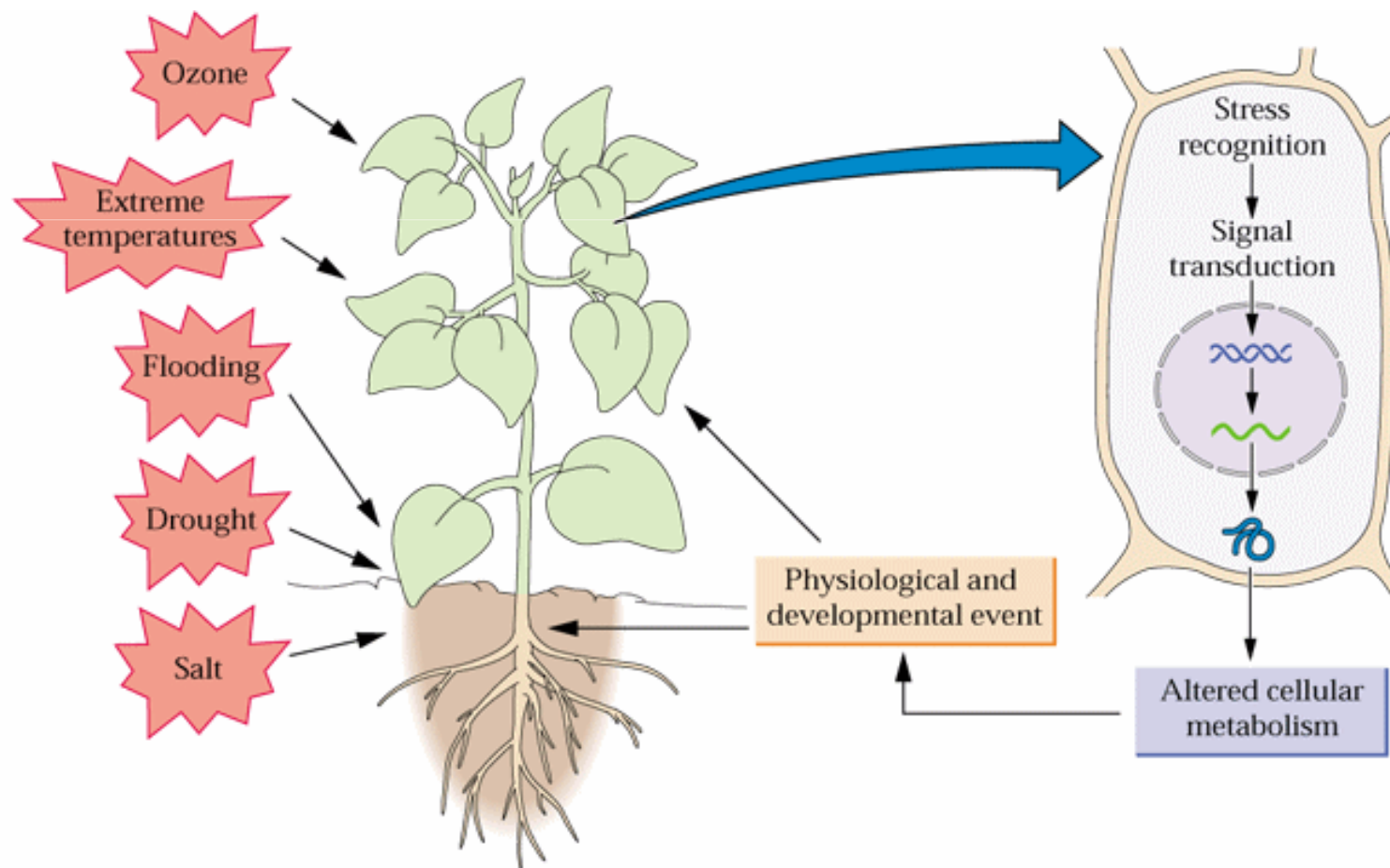
**Ridotti livelli di caffeina;
aroma e sapore analoghi al caffè normale**

**AUMENTARE LA TOLLERANZA
AGLI STRESS**

Stress biotici

danno da **patogeni**
danno da **animali**
danno da **ferita**

Stress abiotici

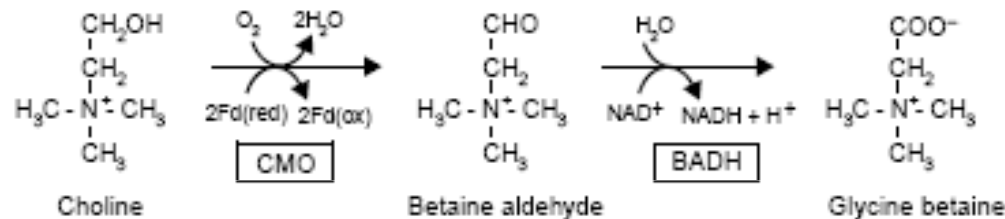


Aumentare la tolleranza allo stress idrico

accumulo di soluti compatibili AGGIUSTAMENTO OSMOTICO

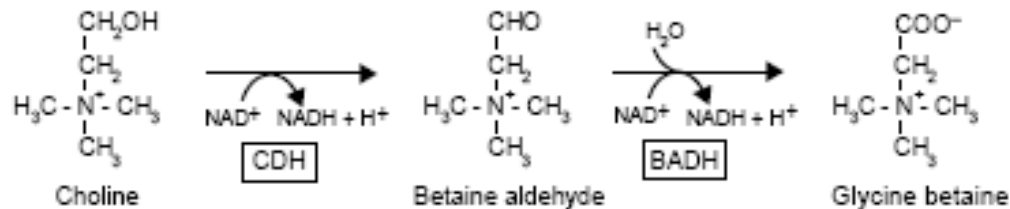
Choline-dehydrogenation/oxidation pathways

(a) Plants



CMO: colina monoossigenasi
BADH: betaina aldeide
deidrogenasi
CDH: colina deidrogenasi
COD: colina ossidasi

(b) *Escherichia coli*



(c) *Arthrobacter globiformis*

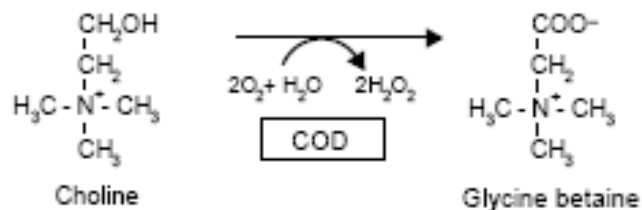


Table 1

Transgenic plants engineered to synthesize glycine betaine and the enhanced tolerance to particular forms of abiotic stress.

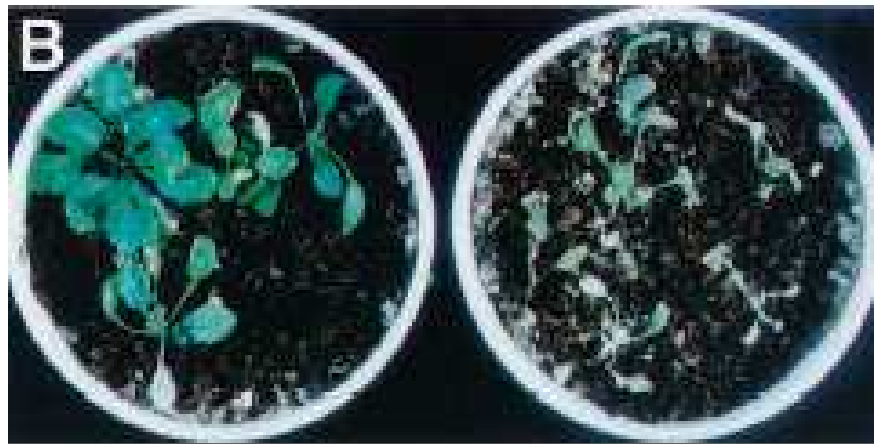
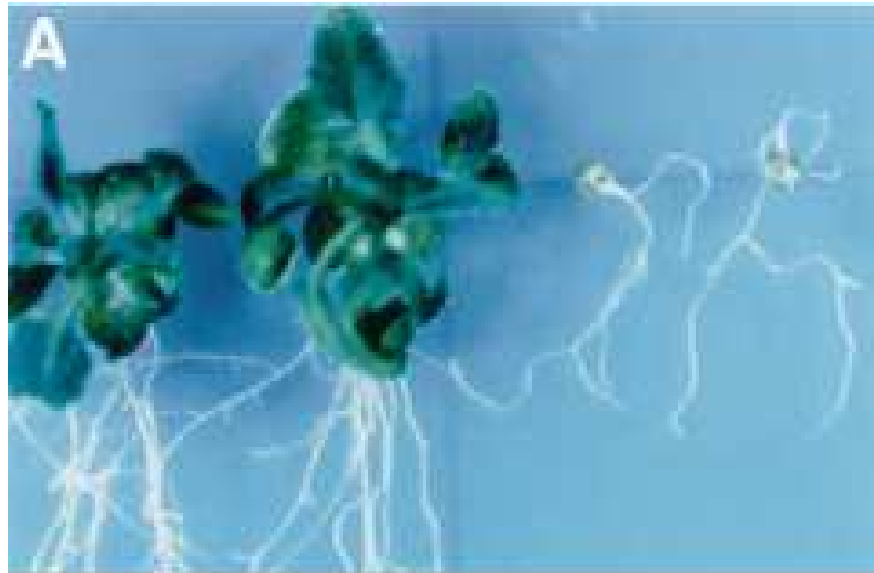
Species	Gene	Maximal accumulation	Enhanced tolerance	Reference
<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>codA</i>	1.2 $\mu\text{mol g}^{-1}$ fw	Chilling	[4]
	<i>codA</i>	1.2 $\mu\text{mol g}^{-1}$ fw	Chilling, salt	[19]
	<i>codA</i>	1.2 $\mu\text{mol g}^{-1}$ fw	Heat	[45]
	<i>codA</i>	1.2 $\mu\text{mol g}^{-1}$ fw	Strong light	[46]
	<i>codA</i>	1.2 $\mu\text{mol g}^{-1}$ fw	Salt	[3]
	<i>codA</i>	1.2 $\mu\text{mol g}^{-1}$ fw	Freezing	[47*]
	<i>cox</i>	19 $\mu\text{mol g}^{-1}$ dw	Freezing, salt	[18*]
<i>Brassica napus</i>	<i>cox</i>	13 $\mu\text{mol g}^{-1}$ dw	Drought, salt	[18*]
<i>Brassica juncea</i>	<i>codA</i>	0.82 $\mu\text{mol g}^{-1}$ fw	Salt	[48]
<i>Diospyros kaki</i>	<i>codA</i>	0.3 $\mu\text{mol g}^{-1}$ fw	Salt	[49]
<i>Nicotiana tabacum</i>	<i>cox</i>	13 $\mu\text{mol g}^{-1}$ dw	Salt	[18*]
	<i>betA</i>	?	Salt	[50]
	<i>betA/betB</i>	0.035 $\mu\text{mol g}^{-1}$ fw	Chilling, salt	[51]
<i>Oryza sativa</i>	<i>codA</i>	5.3 $\mu\text{mol g}^{-1}$ fw	Chilling, salt	[23]
	<i>betA</i> (modified)	5.0 $\mu\text{mol g}^{-1}$ fw	Drought, salt	[10]

Piante che accumulano **glicina betaina** sono tolleranti anche ad altre forme di stress

transgeniche

wild type

tolleranza stress idrico



aumentata tolleranza al sale di
piante di *Arabidopsis* che
accumulano glicina betaina in
conseguenza dell'introduzione
del gene *codA* di *A. globiformis*

I semi erano fatti germinare in
un mezzo contenente 100 mM
NaCl

Aumentare la tolleranza allo stress idrico

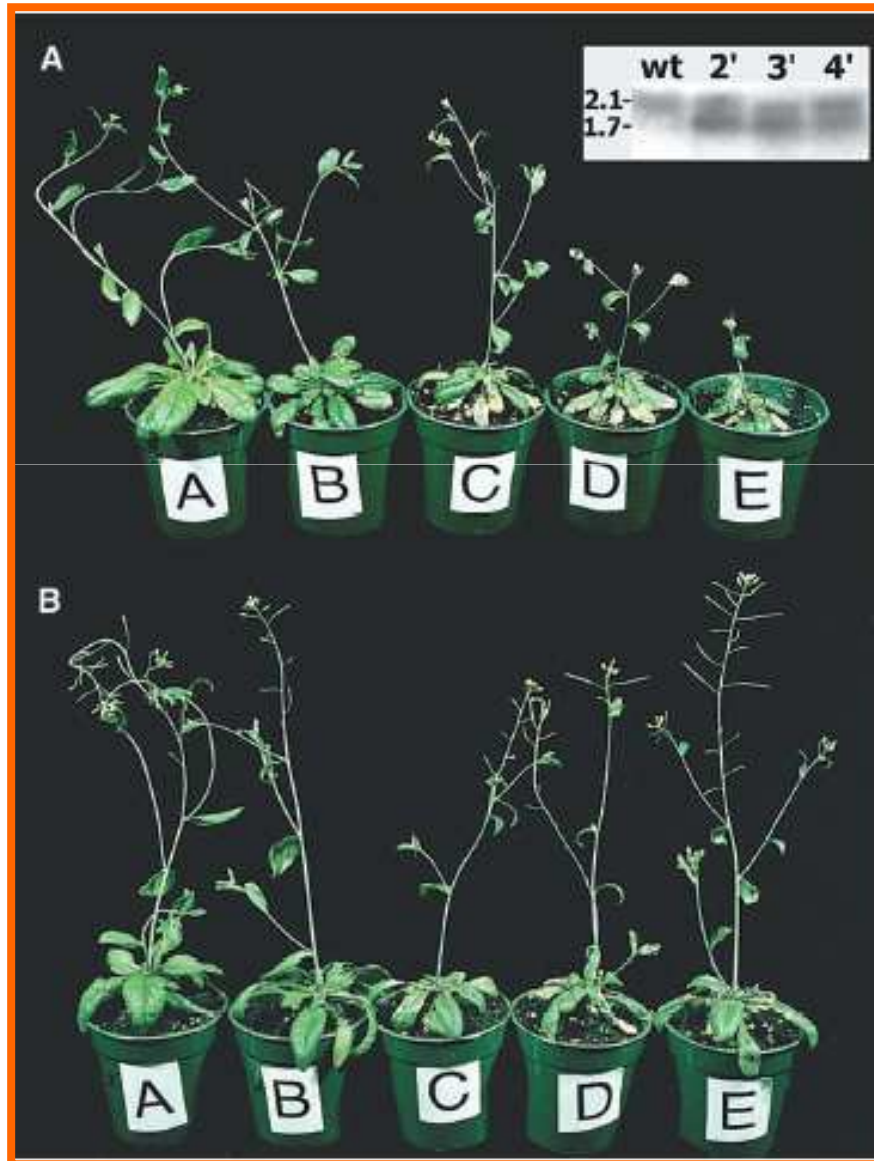
**Salt Tolerance Conferred by
Overexpression of a Vacuolar
 Na^+/H^+ Antiport in *Arabidopsis***

Maris P. Apse,* Gilad S. Aharon,* Wayne A. Snedden,
Eduardo Blumwald†

Le piante accumulano Na^+ nel vacuolo

tolleranza stress idrico

sovraespressione di *AtNHX1* (antiporto Na^+/H^+ di *A. thaliana*)



WT

- A. controllo
- B. 50 mM NaCl
- C. 100 mM NaCl
- D. 150 mM NaCl
- E. 200 mM NaCl

transgeniche

Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit

Hong-Xia Zhang¹ and Eduardo Blumwald^{1,2*}

Il pomodoro è estremamente sensibile alla
concentrazione di sale nel suolo

La sovraespressione di *AtNHX1* in piante di pomodoro
aumenta la tolleranza al sale e non altera le qualità del
frutto

WT



transgenici

AUMENTARE LA RESISTENZA ALLE MALATTIE

Batteri

Funghi

Virus



Foglia di pomodoro infettato da
Pseudomonas syringae pv *syringae*

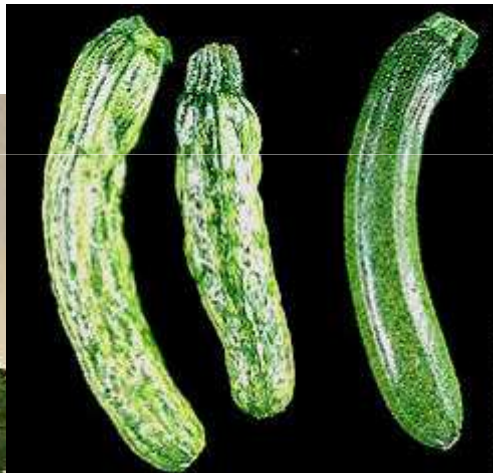


Infezione indotta da *Botrytis*
cinerea

Resistenza ai virus

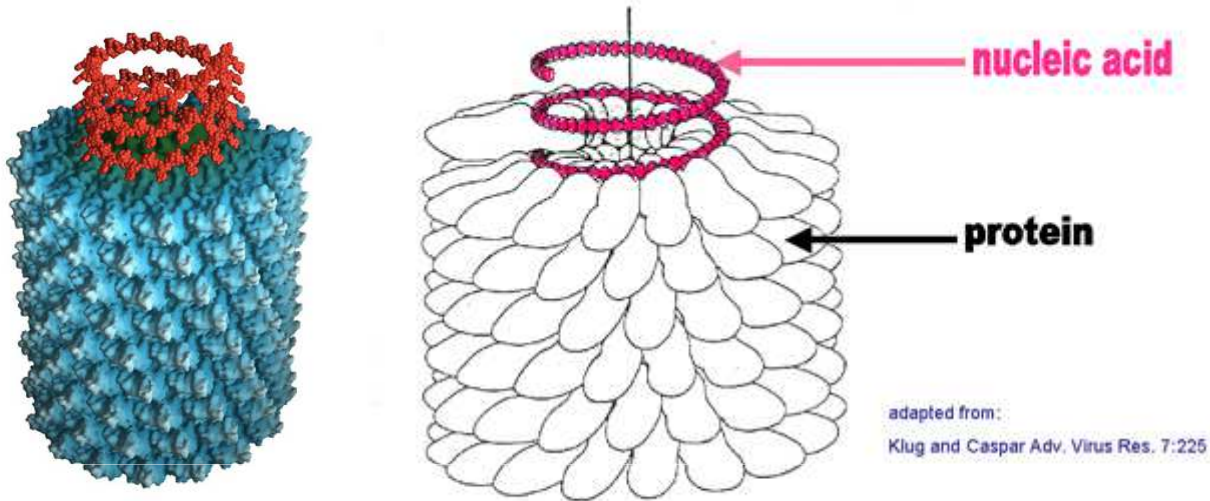
I virus causano notevoli danni alle colture

Non esistono trattamenti chimici efficaci contro le virosi



VIRUS VEGETALI

TOBACCO MOSAIC VIRUS



il genoma virale è ricoperto da una proteina di rivestimento

TRASMISSIONE:

- contatto diretto succo floematico
- insetti
- nematodi



Il caso San Marzano



**La varietà San Marzano è particolarmente sensibile all'infezione virale.
Le perdite nel raccolto possono raggiungere il 100%**

A partire dagli anni 1990 diminuzione del 12-16% annuali in Campania

Oggi sono preferite altre varietà ("Roma" e "Chico III") più resistenti alle virosi



San Marzano transgenico

Esprime il gene codificante per la "coat protein" del **Cucumber mosaic virus**. La sovraespressione di tale gene silenzia l'espressione del gene virale impedendo la replicazione del virus

normale

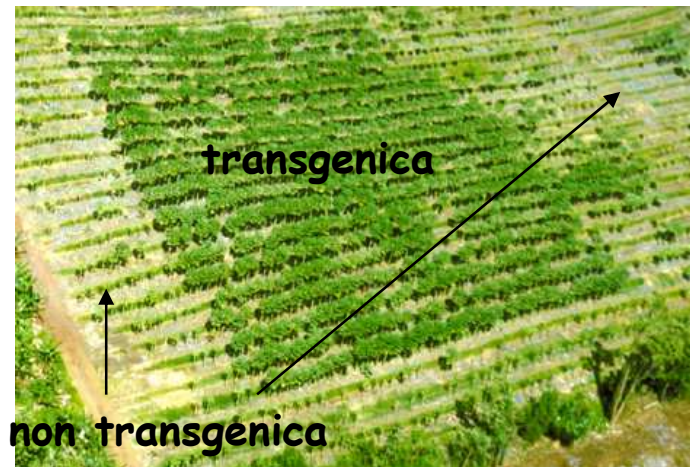
transgenico



PIANTE DI PAPAYA RESISTENTI AL PRSV (papaya ringspot virus)



Esprimono il gene codificante per la "coat protein".
Silenziamiento del gene virale - blocco dell'infezione



PIANTE DI PAPAYA RESISTENTI AL PRSV (papaya ringspot virus)

Code	Name	Type	Promoter, other	Terminator	Copies	Form
<i>nptII</i>	neomycin phosphotransferase II (<i>Escherichia coli</i>)	SM	nopaline synthase (<i>nos</i>) from <i>A. tumefaciens</i>	<i>A. tumefaciens</i> nopaline synthase (<i>nos</i>) 3'-untranslated region		Native
<i>gus</i>	beta-D-glucuronidase (<i>Escherichia coli</i>)	SM	CaMV 35S	<i>A. tumefaciens</i> nopaline synthase (<i>nos</i>) 3'-untranslated region		Native; not present in line 63-1
<i>prsv-cp</i>	viral coat protein (papaya ringspot potyvirus (PRSV))	VR	CaMV 35S	CaMV 35S		Native

MODIFICAZIONE DELLA COLORAZIONE DEL FIORE

- Obiettivi specifici perseguiti per le specie ornamentali sono stati la modifica del **colore dei fiori** (nuovi colori) e **dell'architettura della pianta** (portamento più compatto, maggiore fioritura)
- Il colore dei fiori è essenzialmente dovuto a **flavonoidi**, carotenoidi e betalaine.
I principali flavonoidi sono le **antocianine**, che producono colorazioni dal rosso al blu.
- Nuovi colori di garofani sono stati introdotti sul mercato dalla Florigene (Australia) a partire dal 1996. E' stato il primo caso al mondo.

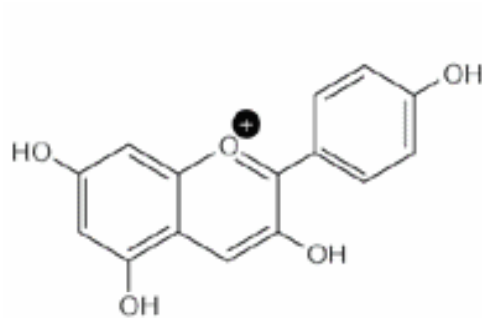


COLORAZIONE DEI FIORI

modificazione colore fiore

- carotenoidi dal giallo all'arancio
- flavonoidi dal giallo al rosso al blu

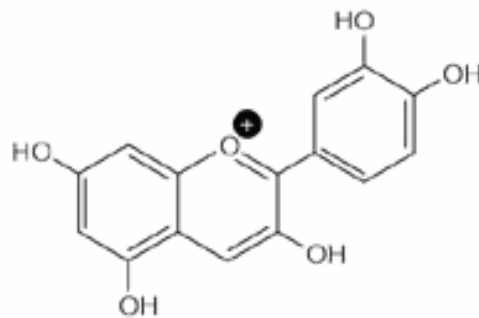
antocianine



Pelargonidin



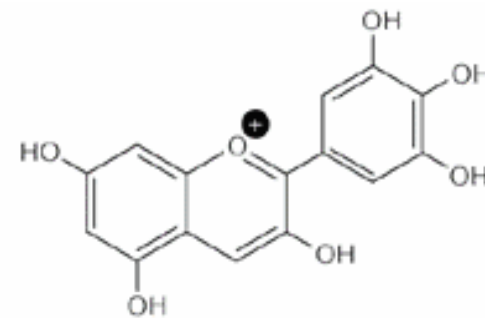
Pelargonium
(Geranium)



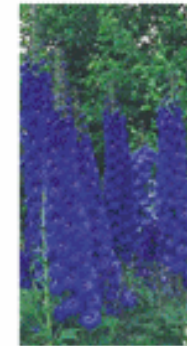
Cyanidin



Rosa
(Rose)



Delphinidin

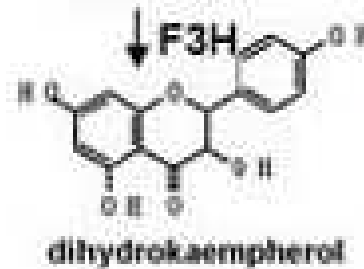
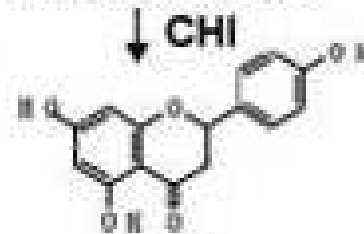


Delphinium
(Larkspur)

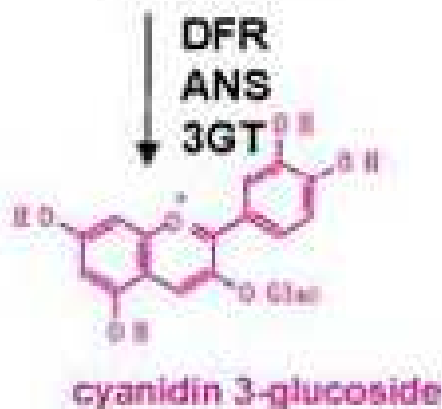
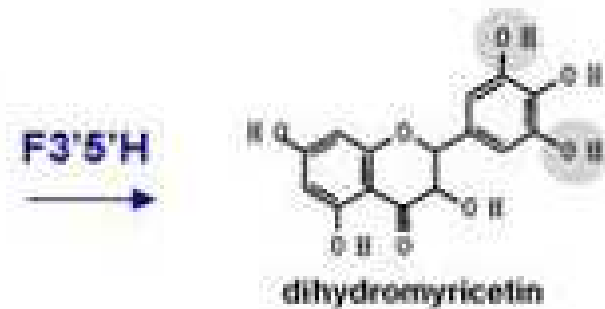
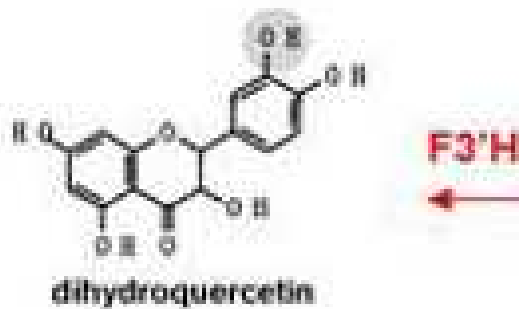
garofani, rose, gerbere, crisantemi e gigli non producono la delfinidina

VIA BIOSINTETICA DELLE ANTOCIANINE

4-coumaroil-CoA +
3 x malonil-CoA



CHS: Calcone sintasi
CHI: Calcone isomerasi
F3H: flavanone-3-idrossilasi
F3'H: flavoide-3'-idrossilasi
F3'5'H: flavonoide-3'5'-idrossilasi
DFR: diidroflavonolo reduttasi
ANS: antocianidina sintasi
3GT: flavonoide 3-glucosiltransferasi



modificazione colore fiore



GAROFANO

Dianthus caryophyllus

modificazione colore fiore

Introduzione di due geni di *Petunia hybrida* coinvolti nella sintesi dell'antocianina **delfinidina** nella cultivar "White Unesco", (mutazione nella DFR endogena → bianco)
colore lilla

Florigene Pty Ltd.

1997

Code	Name	Type	Promoter, other	Terminator	Copies	Form
surB	acetolactate synthase (<i>chlorsulfuron tolerant Nicotiana tabacum</i>)	HT	CaMV 35S	<i>surB</i> terminator from <i>N. tabacum</i>		
dfr	dihydroflavonol reductase (<i>Petunia hybrida</i>)	PM	<i>A. tumefaciens</i> constitutive mac-1 promoter	<i>A. tumefaciens mas</i> terminator		
hfl	flavonoid 3p, 5p hydroxylase (<i>Petunia hybrida</i>)	PM	petal specific CHS promoter derived from <i>Anthrirrhinum majus</i> .	D8 terminator derived from <i>Petunia hybrida</i>		

