

Report del seminario: "Ecofisiologia, biologia e genetica del pioppo - Stato della ricerca in Italia"

Raffaello Giannini

DISTAF, Università degli Studi di Firenze, v. S. Bonaventura 13 - Firenze

Abstract: *Ecophysiology, biology and genetics of poplar: state of research in Italy.* A workshop on the state of research in ecophysiology, biology and genetics in Poplar in Italy has been held in Sesto Fiorentino (Firenze) on May 25th 2007. The rationale and the aims of the meeting along with a brief descriptions of the communications given are reported.

Keywords: Poplar, Workshop, Ecophysiology, Biology, Genetics.

Citation: Giannini R, 2007. Report del seminario: "Ecofisiologia, biologia e genetica del pioppo - Stato della ricerca in Italia". *Forest@* 4 (3): 250-254. [online] URL: <http://www.sisef.it/>.

Il 25 Maggio scorso, presso l'Area di Ricerca del CNR di Sesto Fiorentino (FI), si è tenuto un *Workshop* dal titolo: "Ecofisiologia, Biologia e Genetica del Pioppo: stato della Ricerca in Italia".

L'iniziativa, promossa dalla nostra Società (SISEF), dalla Commissione Nazionale sul Pioppo e dalla Sezione di Firenze dell'Istituto di Genetica Vegetale del CNR, con il patrocinio dell'Accademia Italiana di Scienze Forestali e dell'Agenzia Regionale per lo Sviluppo e l'Innovazione nel Settore Agricolo-Forestale (ARSIA) - Regione Toscana, aveva lo scopo di pervenire alla conoscenza dello stato dell'arte della ricerca svolta in Italia sul genere *Populus*, nell'ambito delle discipline afferenti alla biologia, all'ecofisiologia ed alla genetica.

A livello mondiale è riconosciuto al pioppo un ruolo primario nell'arboricoltura da legno e nella produzione di biomasse, ed anche per tali motivi (da non sottovalutare nell'attuale contesto economico-produttivo ed energetico) l'interesse è in forte aumento.

Al genere *Populus* è stato assegnato il ruolo di specie modello nello studio della biologia molecolare delle specie vegetali legnose. Questo ruolo è stato attribuito principalmente per le ridotte dimensioni del genoma (circa 520 Mbp), per le possibilità applicative di *routine* dei sistemi di trasformazione (Tuskan et al. 2004), nonché per la disponibilità di differenti linee di discendenza strutturate, di numerose mappe genetiche saturate e di librerie BAC. Tutto ciò offre la possibilità di isolare geni d'interesse anche in altre

specie legnose di importanza ecologica e economica.

Nel Maggio del 2002, il Dipartimento dell'Energia degli USA da avvio ad un progetto internazionale sul sequenziamento del genoma del genere *Populus* partendo dalla scelta di una pianta femminile di *Populus trichocarpa* presente nell'ambito del sistema fluviale dello stato di Washington. La *draft-sequence* è oggi resa pubblica (http://genome.jgi-psf.org/Poptr1_1/Poptr1_1.home.html) e l'*International Populus Genome Consortium* (IPGC), che l'ha realizzata, si configura come punto di riferimento e guida per le attività di genetica o di miglioramento genetico post-sequenziamento in pioppo (<http://www.ornl.gov/sci/ipgc>).

A livello europeo, dal V° programma Quadro in poi diversi sono stati condotti diversi progetti di ricerca che hanno creato le basi per lo scambio di informazioni attraverso la creazione di database nelle specifiche aree disciplinari:

- POPYOMICS: incentrato sugli impieghi di mappe genomiche e genomica al fine di identificare i geni che sono responsabili della produttività e della resistenza a stress;
- ESTABLISH: mirato allo studio alle tolleranze della salinità in *Populus euphratica*;
- ROST: incentrato sul trasferimento delle conoscenze dell'*Arabidopsis* in *Populus*;
- COPOL e POPWOOD: focalizzati sulla differenziazione xilematica e sulla crescita secondaria del legno per migliorarne la qualità;
- EUROFACE: sviluppato per lo studio delle relazio-

ni intercorrenti tra risposte ecofisiologiche e molecolari di numerose specie di pioppo all'aumento di CO₂ nell'atmosfera.

Appare evidente lo sforzo che è stato fatto (e che è tuttora in atto) per dare impulso alle biotecnologie, che basano la loro applicazione su solide conoscenze del genoma, lo studio dell'espressione genica e la sua regolazione, e che offrono l'opportunità di modificare quei geni espressione di caratteri commercialmente importanti (Bradshaw et al. 2000, Taylor 2002, Tuskan et al. 2004).

D'altro canto, la grande quantità di informazione sul genoma del pioppo rappresenta anche un'opportunità rilevante per meglio comprendere la distribuzione dei geni e dei genotipi a livello di popolazione e specie, facilitando così le strategie di conservazione, la stima dell'impatto del *gene flow*, la valutazione della diversità a livello di comunità e dei processi evolutivi. In questi casi si assiste ad un forte balzo in avanti determinato dal fatto che la gestione della conservazione può essere intrapresa attraverso la descrizione e la comprensione funzionale del genoma e non attraverso le sole misure fenotipiche (o più in generale descrittive).

Tutto ciò sta a dimostrare come i risultati della ricerca di base in specie modello possano trovare applicazione e trasferimento rapidi e significativi anche in altre specie. In questo senso, il Seminario ha voluto fare il punto sull'informazione attualmente disponibile in pioppo al fine di formulare proposte per la ricerca di base e per la sperimentazione con carattere prevalentemente applicativo in questo settore.

Qui di seguito si riporta una sintesi delle ricerche illustrate durante il Seminario: i riassunti delle comunicazioni sono disponibili presso il sito della SISEF (<http://www.sisef.it/sisef/poplar.php>).

I problemi relativi ai cambiamenti ambientali, causati principalmente dall'azione antropica, come l'aumento delle radiazioni UV-B, quello della produzione di CO₂ nell'atmosfera e/o l'aumento dei valori delle temperature, sono effettivamente fonte di preoccupazione ormai diffusa, per cui si comprende bene come anche nel caso del pioppo, le ricerche che hanno come obiettivi lo studio degli effetti provocati da stress abiotici vedono l'interesse più elevato.

I Ricercatori del Dipartimento di Biologia delle Piante Agrarie, sez. Genetica, dell'Università di Pisa, della Scuola Normale di Pisa e del Dipartimento di Coltivazioni delle Specie Legnose, sez. Patologia, di Pisa, hanno studiato l'espressione dei geni in due cloni di pioppo dopo trattamenti di fumigazione di

O₃. Dallo studio è emerso un aumento dei livelli di trascrizione in entrambi i cloni (Durante et al. 2007).

I Ricercatori del Dipartimento di Chimica e Biotecnologie Agrarie dell'Università di Pisa, attraverso uno studio multitemporale di carattere biologico e fisiologico, hanno indagato sulle risposte dell'apparato fogliare in due cloni di pioppo a diverse concentrazioni di O₃. Lo scopo della ricerca era anche quello di mettere a frutto una tecnica per identificare i genotipi migliori da impiegare in aree inquinate (Ranieri & Castagna 2007).

I Ricercatori del Dipartimento "Giovanni Scaramuzzi" dell'Università di Pisa hanno studiato, attraverso analisi fisiologiche e biochimiche, le differenti risposte del pioppo a diverse concentrazioni di O₃, le ripercussioni che queste hanno sull'attività fotosintetica, sull'efficienza del PSII e sulla conduttanza stomatica (Lorenzini & Nali 2007).

Un Gruppo di Ricerca che vede coinvolto il DISTAF dell'Università di Firenze, l'Università di Southampton e l'IFAC-CNR di Firenze, sta sviluppando una serie di studi in ambiente controllato, tese ad indagare le risposte del pioppo bianco a differenti tempi di esposizione a UV-B. Le indagini hanno avuto carattere multidisciplinare in quanto agli aspetti genetici (descrizione ed espressione con *microarray* e RT-PCR) sono state affiancate indagini biochimico-fisiologiche (contenuto in pigmenti e efficienza fotosintetica) e analisi microstrutturali (microscopia a fluorescenza e microscopia elettronica SEM e TEM - Emiliani et al. 2007).

Le possibili associazioni tra la variazione nucleotidica di alcuni geni e variazioni fenotipiche sono state studiate dai Ricercatori del DISA dell'Università di Udine, con l'obiettivo di confermare e quantificare, a livello di singolo *locus*, l'effetto della presenza di differenti alleli sull'espressione fenotipica del (Vischi & Prete 2007).

Sempre presso il DISA, sono in atto tentativi volti a valutare l'abbondanza relativa dei trascritti di due alleli di un gene coinvolto nella tolleranza agli UV-B di un individuo eterozigote, comparando l'espressione associata ad ognuno di questi (Prete et al. 2007).

Presso il Dipartimento di Biotecnologie Agrarie di Firenze, all'IVALS-CNR di Firenze e del Genexpress di Firenze, un Gruppo di Ricercatori ha studiato in pioppo bianco l'espressione genica nella zona cambiale in risposta a stress idrici, attraverso l'utilizzo della tecnica *microarray*. In questo caso è stato fatto ricorso ad una strumentazione avanzata per la misurazione degli incrementi tissutali. I geni che presentano diversi livelli di trascrizione, sono stati rag-

gruppati all'interno di categorie funzionali (Berta et al. 2007).

I Ricercatori del TeSAF dell'Università di Padova, in collaborazione con quelli dell'IVaLSA-CNR di Firenze e del CRA di Casale Monferrato (AL), hanno analizzato sotto l'aspetto fisiologico e anatomico due cloni di pioppo ad elevata produttività, in risposta a differenti stress idrici (Rossi et al. 2007).

I Ricercatori del Dipartimento di Biologia delle Piante Agrarie, sez. Genetica, dell'Università di Pisa hanno riferito dei cambiamenti dell'espressione genica in pioppo bianco in risposta a lunga o breve esposizione a basse temperature, attraverso il metodo "*Suppression Subtractive Hybridisation*" (SSH - Maestrini et al. 2007).

Altro settore di ricerca che suscita interesse è quello relativo allo studio degli effetti dei metalli pesanti.

Il Gruppo di Ricerca che afferisce al BioLabs di Pisa ed al EcoGeoForLab dell'Università del Molise hanno studiato la traslocazione dei metalli pesanti in pioppo sotto l'aspetto fisiologico e biochimico. I risultati indicano come l'effetto di alcuni metalli pesanti (Zn, Cu, Cd, Cr) sul metabolismo potrebbero essere, nelle concentrazioni indicate, ambientalmente sostenibili per piantagioni di pioppo (Sebastiani et al. 2007).

I Ricercatori del Dipartimento di Biologia dell'Università di Bologna, hanno valutato la tolleranza nel pioppo bianco, sotto gli aspetti molecolari e biochimici, in risposta ai metalli pesanti. Dallo studio è emersa l'alta tossicità del Cu sulle foglie e una forte riduzione nella formazione di radici avventizie associata ad un'alta produzione di etilene (Biondi et al. 2007).

Gli effetti dei metalli pesanti a carico degli enzimi antiossidanti su due cloni di pioppo bianco è stato studiato da un Gruppo di Ricercatori presso il DIBA dell'Università di Firenze. I risultati riportati hanno confermato l'effetto tossico di Zn e Cu sull'apparato radicale e fotosintetico dei due cloni e come il Cu sia più tossico dello Zn (Turchi & Racchi 2007).

Altre ricerche interessano programmi di carattere più generale.

Sempre presso il DIBA dell'Università di Firenze ed l'ISP-CRA (AL), alcuni Ricercatori hanno studiato la possibilità di impiegare un nuovo approccio molecolare (SSCP) per l'identificazione di cloni di pioppo, unita alla valutazione delle differenze morfologiche richieste dalla convenzione UPOV per l'iscrizione al "*National and International Register of forest clones*". In tale studio si è discusso sulla possibilità di mettere in evidenza il grado di differenziazione morfologica al-

l'interno dei gruppi di cloni con ridotta diversità genetica (Camussi et al. 2007).

I Ricercatori del Dipartimento di Botanica ed Ecologia Vegetale dell'Università di Sassari, del Dipartimento di Biologia dell'Università di Milano e dell'Orto Botanico di Cascina Rosa (MI) hanno studiato l'origine delle popolazioni di pioppo bianco presenti in Sardegna attraverso l'impiego di marcatori SSRs nucleari e cloroplastici (Brundu et al. 2007).

Al Dipartimento di Chimica dell'Università di Salerno in collaborazione con l'Orto Botanico di Cascina Rosa (MI), i Ricercatori hanno studiato i livelli di introgressione in popolazioni naturali di pioppo nero e bianco e in ibridi coltivati, attraverso l'utilizzo di marcatori SSRs e AFLPs (Castiglione et al. 2007).

Il lavoro presentato dai Ricercatori del Di.S.A.F.Ri dell'Università della Tuscia (VT), in collaborazione con quelli del CNR di Porano (TR), ha interessato la costruzione di mappe genetiche per i pioppi mediterranei e, attraverso analisi genetiche, l'identificazione dei loci coinvolti nella determinazione della tolleranza agli stress ambientali e da inquinamento (Scarascia-Mugnozza et al. 2007).

All'IGV-CNR di Firenze, in collaborazione con il DISTAF, il DIBAG e il DOFI dell'Università di Firenze, al BFH di Grosshansdorf (Germania), e all'Università di Ottawa (Canada), alcuni Ricercatori hanno condotto studi sui pioppi transgenici per il gene *cry* attraverso un approccio multidisciplinare (fisiologico, biochimico e microbiologico, genomico, proteomico e di microscopia) per chiarire i possibili effetti della trasformazione sul metabolismo (Donnarumma et al. 2007).

Al JRC-IES della EU-Commission, al Di.S.A.F.Ri dell'Università della Tuscia, al DISAT dell'Università Bicocca di Milano, al CNR-ISAFOM ed alla Provincia Autonoma di Bolzano, alcuni Ricercatori hanno studiato, in relazione all'incremento di CO₂ nell'atmosfera, l'efficienza del "sequestro" di carbonio da parte delle "*Short Rotation Forestry*" (SRF) attraverso la misura degli scambi gassosi tra l'atmosfera e le piante nell'intervallo di tempo 2002-2005 e l'utilizzo della tecnica *eddy correlation* (EC - Zenone et al. 2007).

Dai lavori del seminario è emersa la necessità di un impegno costante nell'incremento delle conoscenze, le quali possono trovare forte beneficio e più significative ricadute se sarà perseguito l'interscambio di informazioni ed il dialogo tra specialisti di discipline diverse. In generale si tratta di ricerche innovative, ben condotte e documentate, a carattere fortemente interdisciplinare.

Bibliografia

- Berta M, Giovannelli A, Sebastiani F, Racchi ML (2007). Analysis of gene expression in cambial zone of poplar (*P. alba*) in Response to Water Deficit and Re-hydration. Workshop: "Ecofisiologia, Biologia e Genetica del Pioppo: Stato della Ricerca in Italia", Sesto Fiorentino (FI), 25 Maggio 2007. [online] URL: <http://www.sisef.it/sisef/poplar.php>
- Biondi S, Franchin C, Torrigiani P (2007). Molecular and biochemical aspects of the response to heavy metals in *Populus*. Workshop: "Ecofisiologia, Biologia e Genetica del Pioppo: Stato della Ricerca in Italia", Sesto Fiorentino (FI), 25 Maggio 2007. [online] URL: <http://www.sisef.it/sisef/poplar.php>
- Bradshaw HD, Ceulemans R, Davis J, Stettler R (2000). Emerging model systems in plant biology: poplar (*Populus*) as a model forest tree. *Journal of Plant Growth Regulation* 19: 306-313.
- Brundu G, Lupi R, Patrignani G, Castiglione S (2007). The intriguing origin of *Populus alba* L. in Sardinia. Workshop: "Ecofisiologia, Biologia e Genetica del Pioppo: Stato della Ricerca in Italia", Sesto Fiorentino (FI), 25 Maggio 2007. [online] URL: <http://www.sisef.it/sisef/poplar.php>
- Camussi A, Caparrini S, Turchi A, Giorcelli A, Picco F, Racchi ML (2007). Novel procedures for clonal identification in poplar based on SSCP polymorphisms of gene introns and morphological traits. Workshop: "Ecofisiologia, Biologia e Genetica del Pioppo: Stato della Ricerca in Italia", Sesto Fiorentino (FI), 25 Maggio 2007. [online] URL: <http://www.sisef.it/sisef/poplar.php>
- Castiglione S, Ciatelli A, Patrignani G (2007). Molecular analysis of natural populations of *Populus nigra* and *P. alba* *P. tremula* or cultivated hybrids. Workshop: "Ecofisiologia, Biologia e Genetica del Pioppo: Stato della Ricerca in Italia", Sesto Fiorentino (FI), 25 Maggio 2007. [online] URL: <http://www.sisef.it/sisef/poplar.php>
- Donnarumma F, Fladung M, Giannini R, Altosaar I, Bircolti S, Vettori C (2007). Risks analyses in *cry* transgenic poplar. Workshop: "Ecofisiologia, Biologia e Genetica del Pioppo: Stato della Ricerca in Italia", Sesto Fiorentino (FI), 25 Maggio 2007. [online] URL: <http://www.sisef.it/sisef/poplar.php>
- Durante M, Rizzo M, Bernardi R, Salvini M, Lorenzini G, Nali C (2007). Differentially expressed genes induced by ozone stress in sensitive and tolerant poplar hybrids. Workshop: "Ecofisiologia, Biologia e Genetica del Pioppo: Stato della Ricerca in Italia", Sesto Fiorentino (FI), 25 Maggio 2007. [online] URL: <http://www.sisef.it/sisef/poplar.php>
- Emiliani E, Paffetti D, Street L, Matteini P, Raddi S, Agati G, Cortes S, Taylor G, Giannini R (2007). The response of *Populus alba* to ultraviolet-B radiation: linking transcriptomics and physiology. Workshop: "Ecofisiologia, Biologia e Genetica del Pioppo: Stato della Ricerca in Italia", Sesto Fiorentino (FI), 25 Maggio 2007. [online] URL: <http://www.sisef.it/sisef/poplar.php>
- Maestrini P, Rizzo M, Bernardi R, Durante M, Cavallini A, Natali L (2007). Isolation and characterization of short- and long-term cold-induced genes in white poplar. Workshop: "Ecofisiologia, Biologia e Genetica del Pioppo: Stato della Ricerca in Italia", Sesto Fiorentino (FI), 25 Maggio 2007. [online] URL: <http://www.sisef.it/sisef/poplar.php>
- Lorenzini G, Nali C (2007). Mechanisms of differential response to ozone in poplar. Workshop: "Ecofisiologia, Biologia e Genetica del Pioppo: Stato della Ricerca in Italia", Sesto Fiorentino (FI), 25 Maggio 2007. [online] URL: <http://www.sisef.it/sisef/poplar.php>
- Prete G, Radovic S, Vischi M (2007). *Cis*-acting regulatory variation in white poplar. Workshop: "Ecofisiologia, Biologia e Genetica del Pioppo: Stato della Ricerca in Italia", Sesto Fiorentino (FI), 25 Maggio 2007. [online] URL: <http://www.sisef.it/sisef/poplar.php>
- Ranieri A, Castagna A (2007). Poplar as a model tree plant for understanding the effects of abiotic stress on forest ecosystems. A focus on tropospheric ozone threat. Workshop: "Ecofisiologia, Biologia e Genetica del Pioppo: Stato della Ricerca in Italia", Sesto Fiorentino (FI), 25 Maggio 2007. [online] URL: <http://www.sisef.it/sisef/poplar.php>
- Rossi S, Deslauriers A, Giovannelli A, Anfodillo T, Fragnelli G, Castro G (2007). Cambial phenology on poplar: potential and applications. Workshop: "Ecofisiologia, Biologia e Genetica del Pioppo: Stato della Ricerca in Italia", Sesto Fiorentino (FI), 25 Maggio 2007. [online] URL: <http://www.sisef.it/sisef/poplar.php>
- Scarascia-Mugnozza G, Sabatti M, Kuzminsky E, Massacci A, Beritognolo I, Paolucci I, Gaudet M, Pietrini F, Paris P, Loreto F (2007). Molecular bases of adaptive traits in Mediterranean poplars: potentials for biomass production improvement and environmental amelioration. Workshop: "Ecofisiologia, Biologia e Genetica del Pioppo: Stato della Ricerca in Italia", Sesto Fiorentino (FI), 25 Maggio 2007. [online] URL: <http://www.sisef.it/sisef/poplar.php>
- Sebastiani L, Di Baccio D, Tognetti R (2007). Uptake and translocation of heavy metals in poplar: physiological and biochemical responses. Workshop: "Ecofisiologia, Biologia e Genetica del Pioppo: Stato della Ricerca in Italia", Sesto Fiorentino (FI), 25 Maggio 2007. [online] URL: <http://www.sisef.it/sisef/poplar.php>
- Taylor G (2002). *Populus*: Arabidopsis for Forestry. *Do We Need a Model Tree?* *Annals of Botany* 90: 681-689.
- Turchi A, Racchi ML (2007). Effect of Heavy Metal Stress on Antioxidant Enzymes and Lipid Peroxidation in *Populus alba*. Workshop: "Ecofisiologia, Biologia e Genetica del Pioppo: Stato della Ricerca in Italia", Sesto Fiorentino (FI),

- 25 Maggio 2007. [online] URL: <http://www.sisef.it/sisef/poplar.php>
- Tuskan GA, DiFazio SP, Teichmann T (2004). Poplar genomics is getting popular: the impact of the poplar genome project on tree research. *Plant Biol* 6: 2-4.
- Vischi M, Prete G (2007). Candidate genes for UV-B tolerance in white poplar (*Populus alba* L.). Workshop: "Ecofisiologia, Biologia e Genetica del Pioppo: Stato della Ricerca in Italia", Sesto Fiorentino (FI), 25 Maggio 2007. [online] URL: <http://www.sisef.it/sisef/poplar.php>
- Zenone T, Seufert G, Migliavacca M, Montagnani L, Matteucci G, Meron M, Colombo R (2007). Carbon sequestration in Short rotation forestry and traditional plantation of poplar: the Jrc Kyoto experiment. Workshop: "Ecofisiologia, Biologia e Genetica del Pioppo: Stato della Ricerca in Italia", Sesto Fiorentino (FI), 25 Maggio 2007. [online] URL: <http://www.sisef.it/sisef/poplar.php>