

Borsa di studio attivata ai sensi di quanto disposto dal D.M. n. 1061 del 10/08/2021

Titolo del progetto: HOTSPOT Come le piante percepiscono i volatili

La borsa sarà attivata sul seguente corso di dottorato accreditato per il XXXVII ciclo:
BIOLOGIA AMBIENTALE ED EVOLUZIONISTICA

Responsabile scientifico: Dr. Luigi Faino

Area per la quale si presenta la richiesta: GREEN

Numero di mensilità da svolgere in azienda: 6

Numero di mensilità da svolgere all'estero: 12 presso Jorg-Peter Schnitzel Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH) Ingolstädter Landstraße 1 · D-85764 Neuherberg

Azienda: EVJA via Emilia 35, 80011, Acerra (NA), Italy

Progetto di ricerca:

Le piante utilizzano composti organici volatili (COV) per comunicare non solo con organismi appartenenti a phyla diversi, ma anche con altre piante e persino per portare informazioni intorno a parti/organi di piante. Sono stati descritti esempi di interazioni dirette tra le piante e i loro ospiti, in cui i COV agiscono come repellenti e/o attrattivi (Holopainen & Gershenzon 2010) o attivano la protezione indiretta delle piante (Kim & Felton 2013). Dal 1983 si sono accumulate evidenze sul ruolo dei “segnali aerei” tra le piante. Attraverso i VOC si ritiene che le piante “emittenti” parlino con quelle “riceventi”, portando informazioni utili (Heil & Karban 2009). In risposta ai VOC rilasciati dagli emettitori, i ricevitori iniziano a esprimere geni e sintetizzano metaboliti secondari coinvolti nelle difese delle piante, suggerendo ruoli chiave dei VOC nella mediazione della segnalazione delle piante. Nonostante la crescente quantità di dati sulla specificità della percezione e sulle risposte geniche suscitate (Bouwmeester et al 2019), manca ancora una comprensione molecolare dei primissimi passi di tale discorso. I tentativi di identificare i recettori VOC e le loro proteine leganti l'odore (OBP), sono stati riportati solo per pochi casi di VOC indotti da stress (ancora da dimostrare), come metil-jasmonato, acido salicilico e -cariofillene. Giordano et al (2021) hanno effettuato uno screening di banche dati pubbliche e di evidenze di letteratura per identificare OBP di piante candidate, e simulazioni in silico per verificare il potenziale legame delle proteine selezionate agli isoprenoidi (un'importante classe di COV), compilando una short list di geni candidati. Nella ricerca sulla funzione genica, l'approccio genetico diretto è stato superato da approcci inversi che partono dalla sequenza dei geni per comprenderne le funzioni. La genetica inversa si basa su strategie non mirate/mirate. Tra i primi, TILLING combina i vantaggi della mutagenesi casuale con tecnologie ad alto rendimento, ottenendo una raccolta di mutanti su cui sono disponibili informazioni genetiche.

Lo sviluppo della presente proposta progettuale avrà un alto valore scientifico e biotecnologico, in quanto, partendo da una collezione di mutanti di pomodoro pronta e disponibile (libreria Alsia tomato TILLING) saremo in grado di vagliare e identificare, per la prima volta, geni che codificano per proteine appartenenti alla famiglia Odorant Binding e nel frattempo potremo studiarne la funzione fisiologica utilizzando sia la collezione che i mutanti CRISPR/CAS9. La caratterizzazione a tutto tondo dei fenomeni mutanti sarà ottenuta presso Alsia PhenoLab grazie all'imaging fenotipico non invasivo della piattaforma Scanalyzer 3D, alla misurazione fisiologica (porometro, fluorimetro, Licor), al profilo dei volatili e agli esperimenti di interazione pianta-insetto. La fenotipizzazione ci fornirà informazioni sugli effetti della presunta mutazione dei geni OBP non solo sul coinvolgimento nella percezione dei VOC (esperimenti di interazione), ma anche sugli effetti di queste mutazioni sulla fisiologia e morfologia delle piante e sulle risposte allo stress delle piante (ad es. emissione)

Titolo del progetto (inglese): HOTSPOT HOw planTS Perceive vOlaTiles

Progetto di ricerca (inglese):

Plants use volatile organic compounds (VOCs) to communicate not only with organisms belonging to different phyla but also with other plants and even to bring information around plant parts/organs. Examples of direct interactions between plants and their hosts have been described, where VOCs act as repellents and/or as attractive (Holopainen & Gershenzon 2010) or trigger indirect protection of plants (Kim & Felton 2013). Since 1983, evidences have been accumulating on the role of “airborne signals” among plants. Through VOCs the “emitting” plants are believed to talk to the “receiving” ones, carrying useful information (Heil & Karban 2009). In response to the VOCs released by emitters, receivers start expressing genes and synthesizing secondary metabolites involved in plant defenses, suggesting key roles of VOCs in mediating plant signaling. Despite the growing amount of data on the specificity of the perception and on the elicited gene responses (Bouwmeester et al 2019), there is still a lack of a molecular understanding of the very first steps of such talk. Attempts to identify VOC receptors and their Odorant Binding Proteins (OBPs), have been reported for only few cases of stress induced VOCs (still to be proved), as methyl-jasmonate, salicylic acid and -caryophyllene. Giordano et al (2021) carried out a screening of public databases and of literature evidences to identify candidate plant OBPs, and in silico simulations to verify the potential binding of the selected proteins to isoprenoids (an important class of VOCs), compiling a short list of candidate genes. In gene function research, direct genetic approach has been overtaken by inverse approaches that start from the sequence of genes to understand their functions. Inverse genetic is based on untargeted/targeted strategies. Among the first, TILLING combines the advantages of random mutagenesis with high-throughput technologies, resulting in a collection of mutants on which genetic information are available.

Development of the present project proposal will have high scientific and biotechnological value, because, starting from a ready and available tomato mutant collection (Alsia tomato TILLING library) we will be able to screen and identify, for the first time, genes coding for proteins belonging to Odorant Binding family and in the mean time we will be able to study their physiological function by using both the collection and CRISPR/CAS9 mutants. The all-round characterization of mutant phenomes will be achieved at Alsia PhenoLab thanks to the non-invasive phenotyping imaging of the Scanalyzer 3D platform, the physiological measurement (porometer, fluorimeter, Licor), the volatilome profiling and the plant-insect interaction experiments. Phenotyping will provide us information on the effects of putative OBP genes mutation not only on the involvement in VOCs perception (interaction experiments), but also on effects of these mutations on plant physiology and morphology and plant stress responses (e.g., canopy, photosynthesis, CO₂ emission)

The studied genes and the obtained results will be the HOTSPOT for future researches in the field of plant-environment communication. ALSIA PhenoLab is relevant for the project because it has relevant sensors and instruments phenotyping for plant stress response and combines imaging for roots (rhizotubes, RGB camera, NIR) with physiology-related equipment (Fluorescence, LiCOR, porometer). The platform has automatic (fert)-irrigation station with a scale for evapotranspiration measurement of single pots. A sensor network monitors and records environmental variables (PAR, T, RH, CO₂) providing ancillary environmental data. Hence, considering that the expertise offered covers not only the image capturing but also their interpretation, the platform will ensure a successfully project implementation.