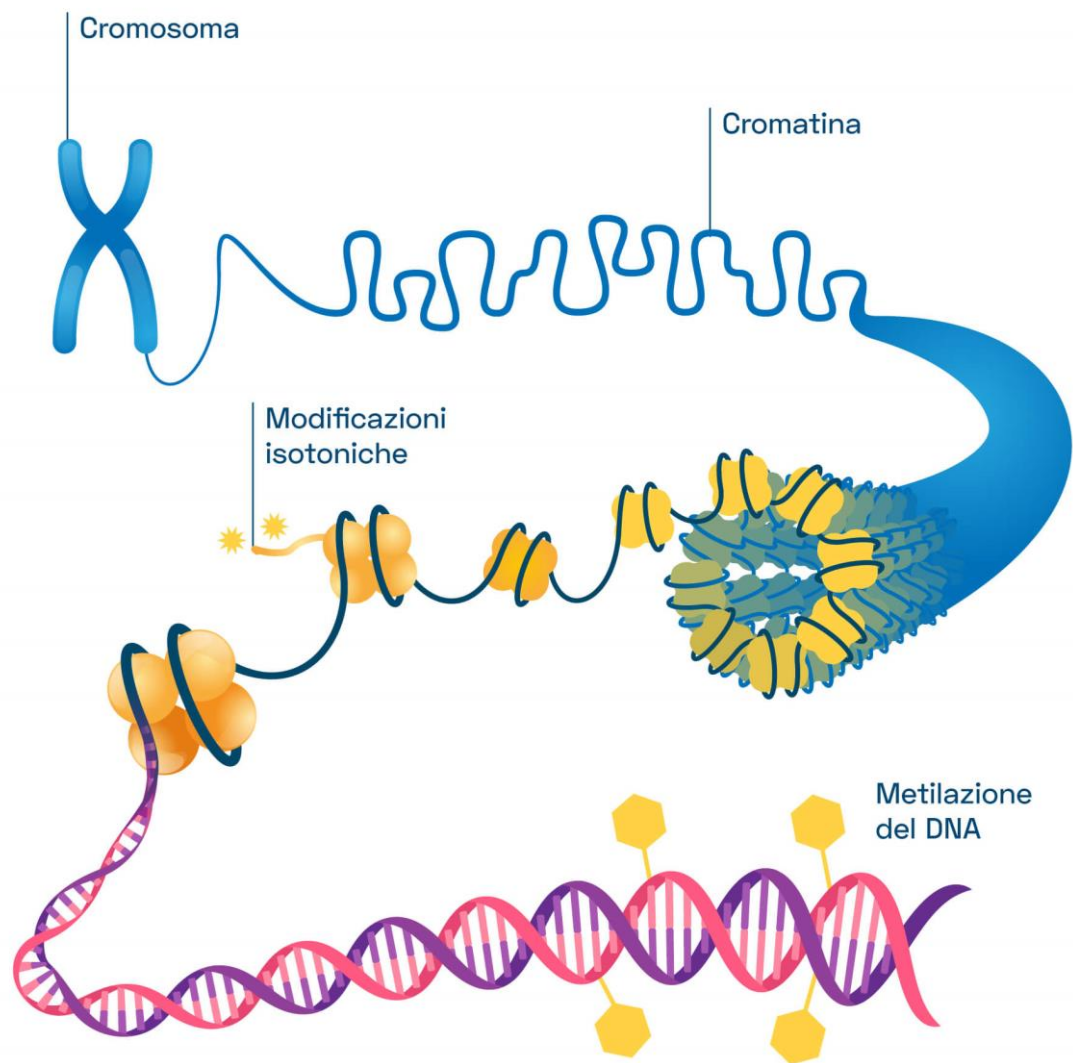


# Effetti dell'innesto sull'epigenoma del pomodoro (*Solanum lycopersicum*)

- Laureando: Thomas Sirchi
  - Relatore: Prof. Emidio Albertini
  - Correlatore: Dr. Marco Di Marsico
  - Dipartimento di chimica, biologia e biotecnologie
  - Corso di Laurea in Scienze biologiche
  - Anno Accademico: 2020/2021
-

# EPIGENETICA

Studia i cambiamenti nell'espressione genica che si verificano senza alterazioni nella sequenza del DNA



# Metilazione del DNA

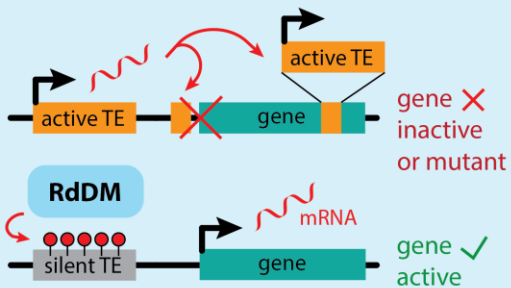
Context

CG

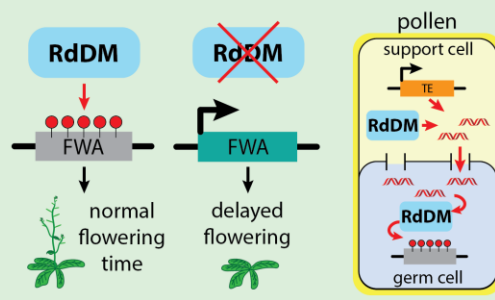
CHG

CHH

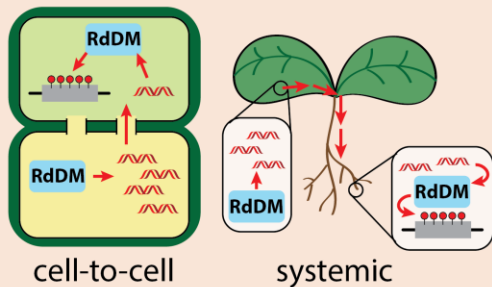
## TE Silencing & Genome Stability



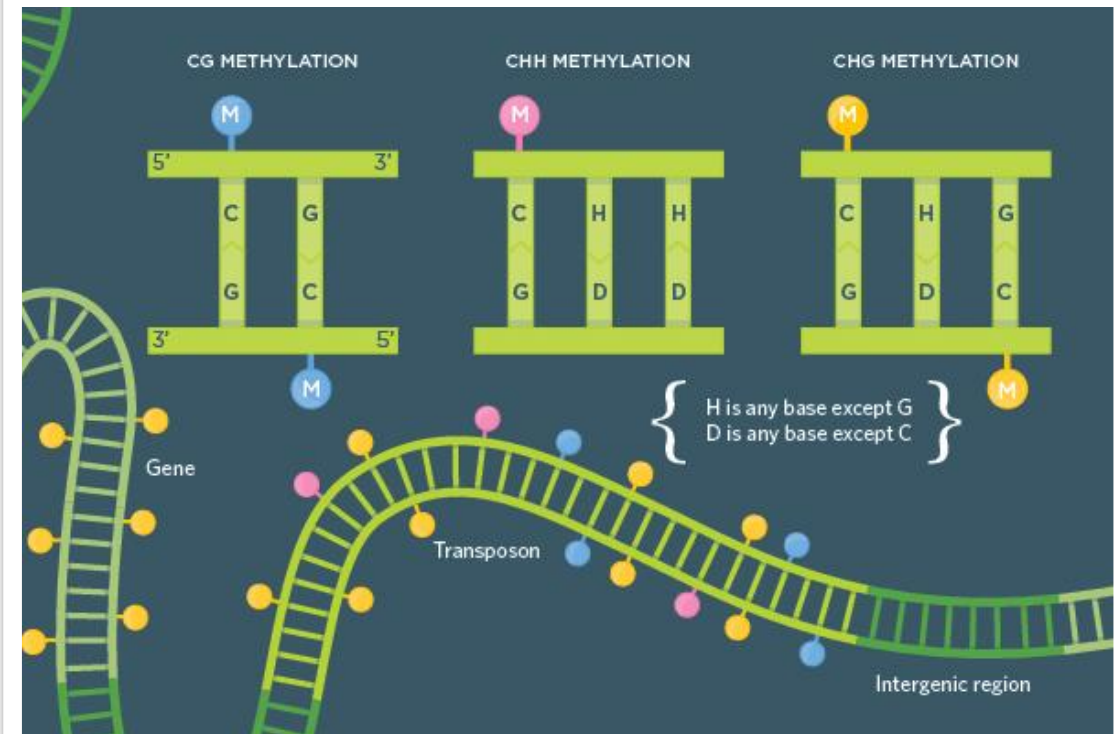
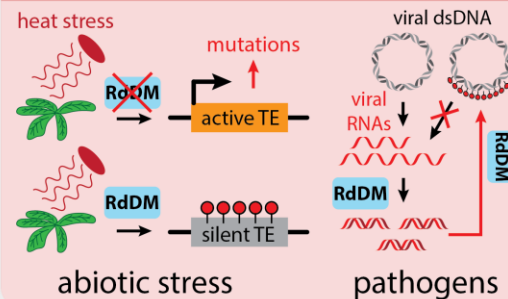
## Development & Reproduction



## Short & long-range signaling

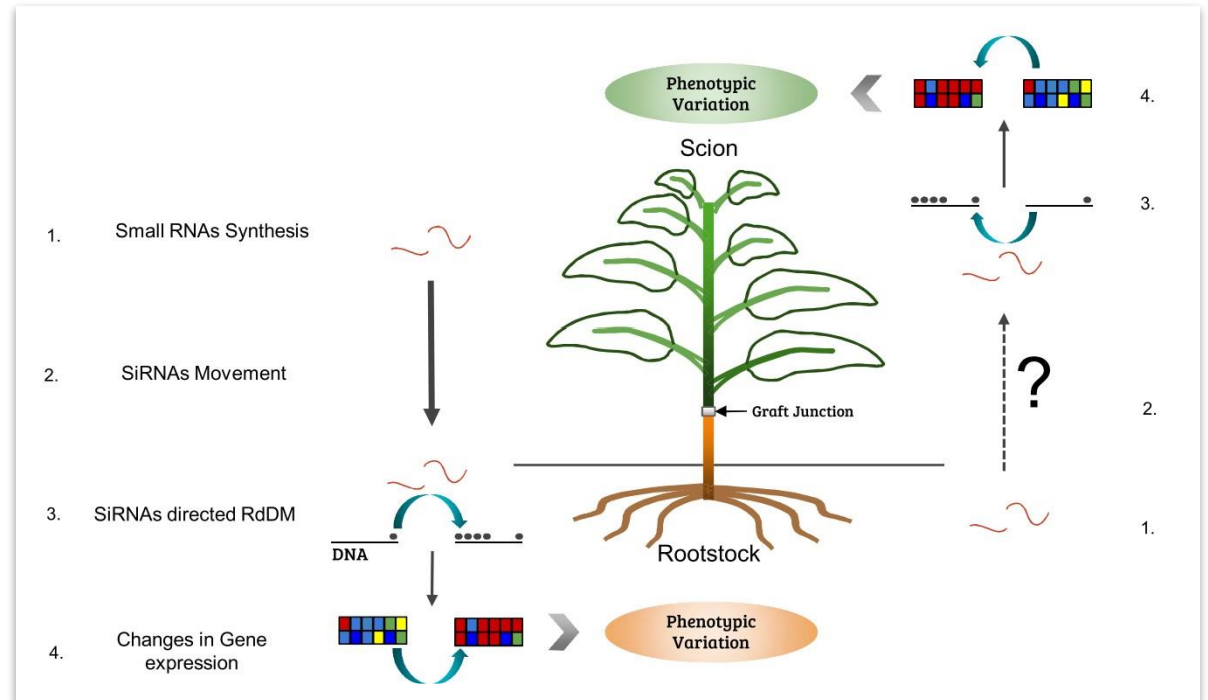
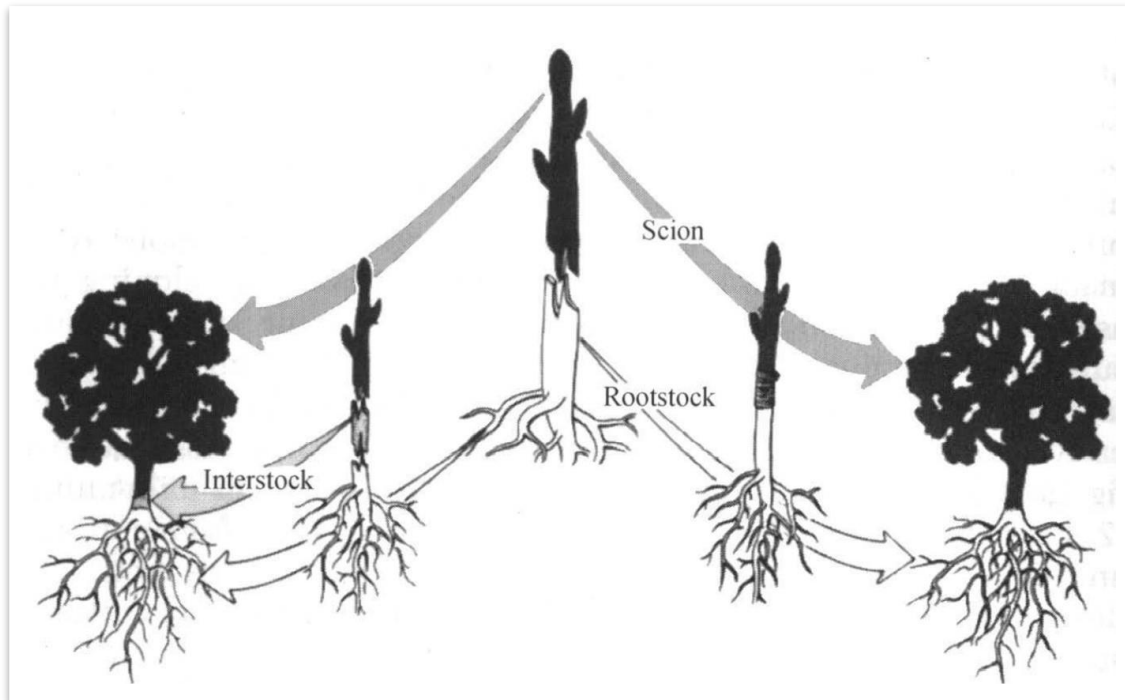


## Stress Response



# Innesto

Atto di fusione tra parti di una pianta in modo che sia presente una continuità vascolare tra le parti



# Scopo della tesi

---

Identificare gli effetti dell'innesto nell'epigenoma del pomodoro, precisamente i cambiamenti di metilazione del DNA e le conseguenze sul frutto utilizzando la metodica MCSeEd

# Disegno sperimentale

- Produzione di piante innestate, utilizzando come nesto la stessa varietà di pomodoro e come portainnesto degli ibridi proprietari dell'azienda
- Tre repliche biologiche per ogni pianta
- Analisi effettuata su tessuto prelevato dal frutto

## Piante

### Innestate

I12

I14

I15

O3

OPT

Self

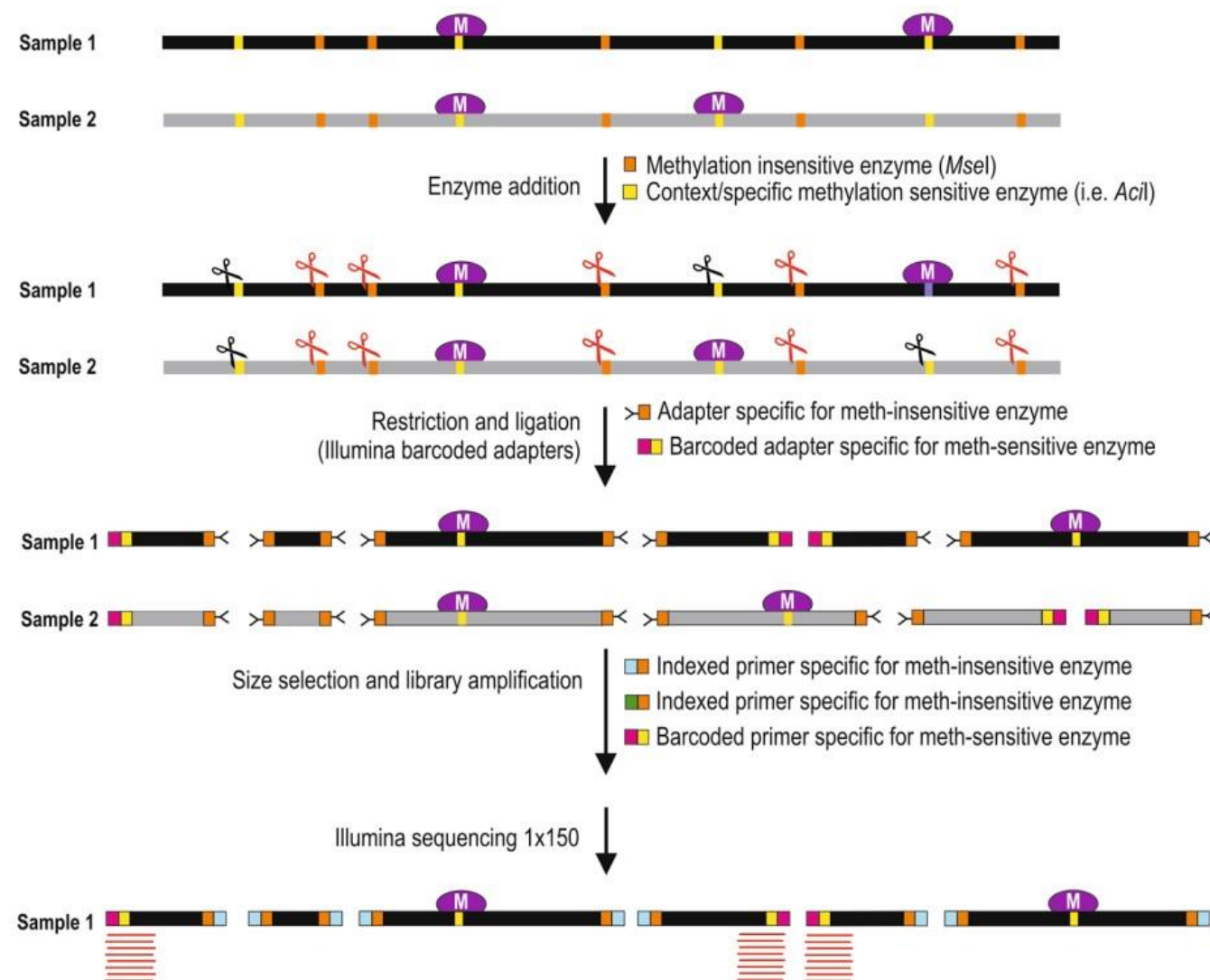
### Controlli

Ungrafted

# MCSeEd

Combina l'azione di  
enzimi sensibili e  
insensibili alla  
metilazione

Tecnica di  
sequenziamento NGS  
Illumina



# Identificazione delle posizioni differenzialmente metilate (DMPs)

Normalizzazione

Filtraggio

Stima del livello di metilazione relativo per locus

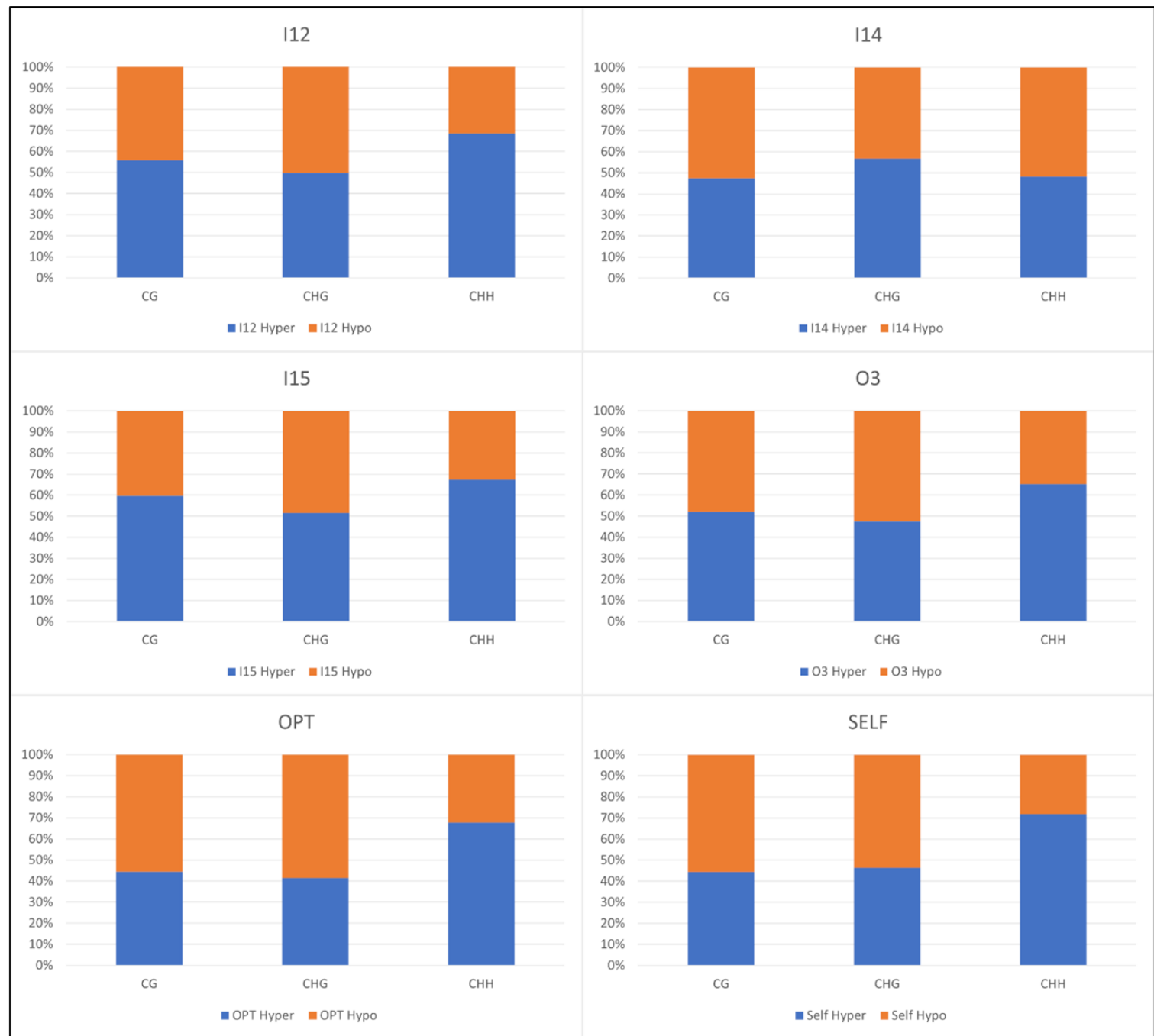
Analisi di metilazione con il pacchetto MethylKit di R

Posizioni differenzialmente metilate



# DMPs

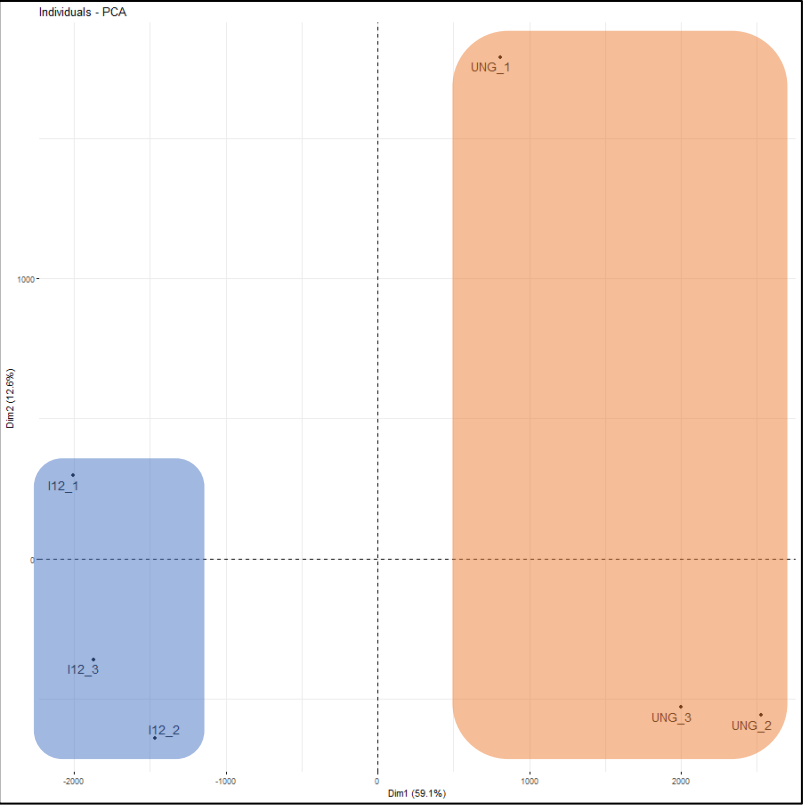
Risposta all'innesto nei confronti



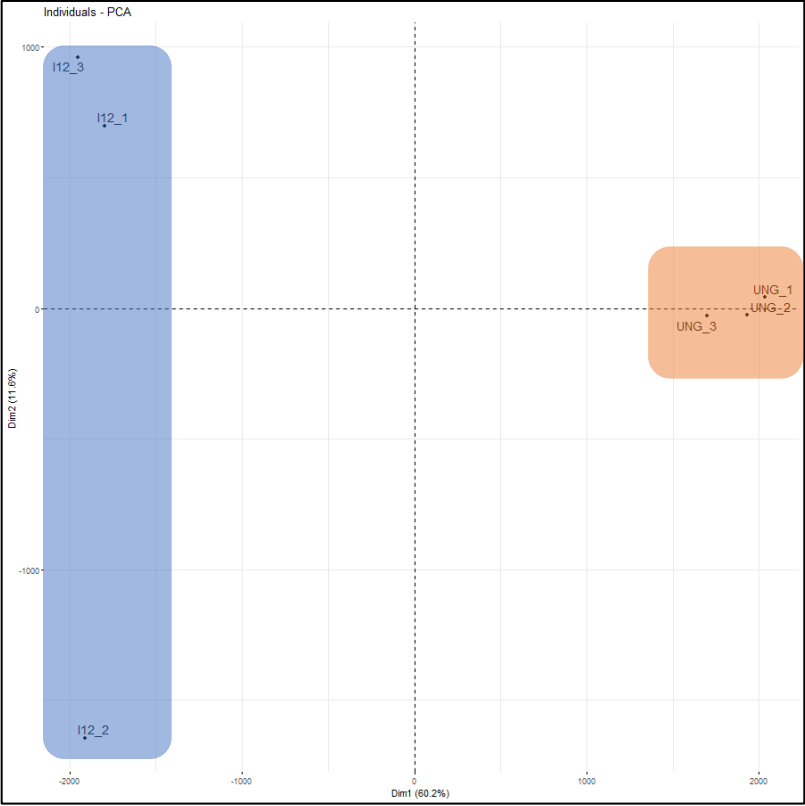
# Analisi delle componenti principali

I12

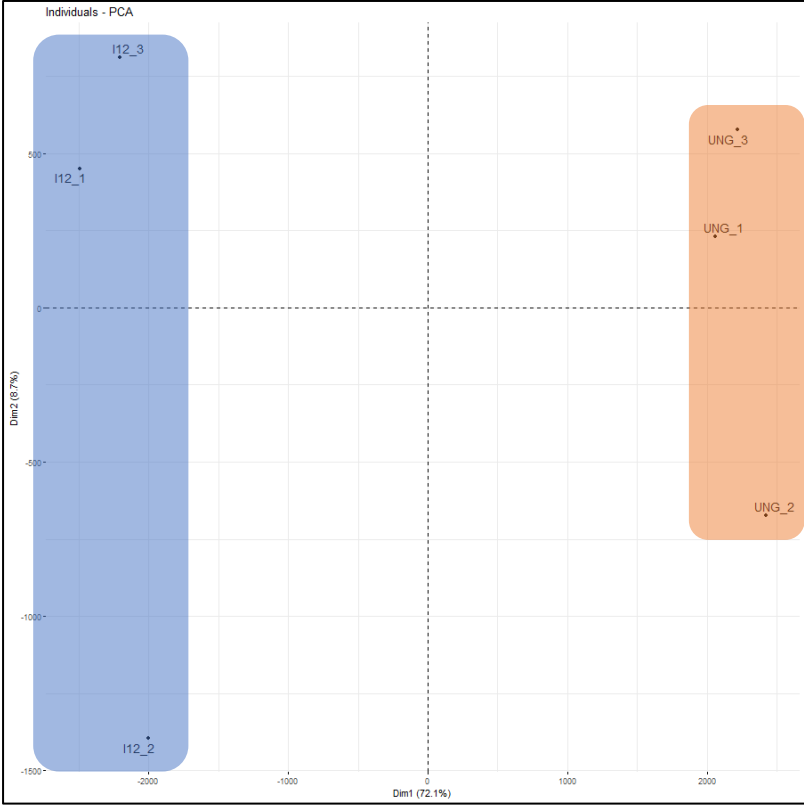
CG



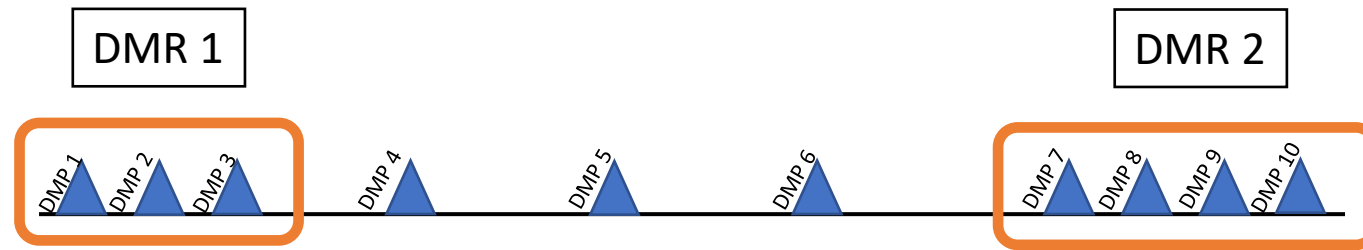
CHG



CHH



# Identificazione delle Regioni Differenzialmente Metilate (DMRs)



Almeno 2 DMPs  
clusterizzate nella stessa  
finestra dinamica settata

DMPs significative  
( $FDR < 0,05$ )

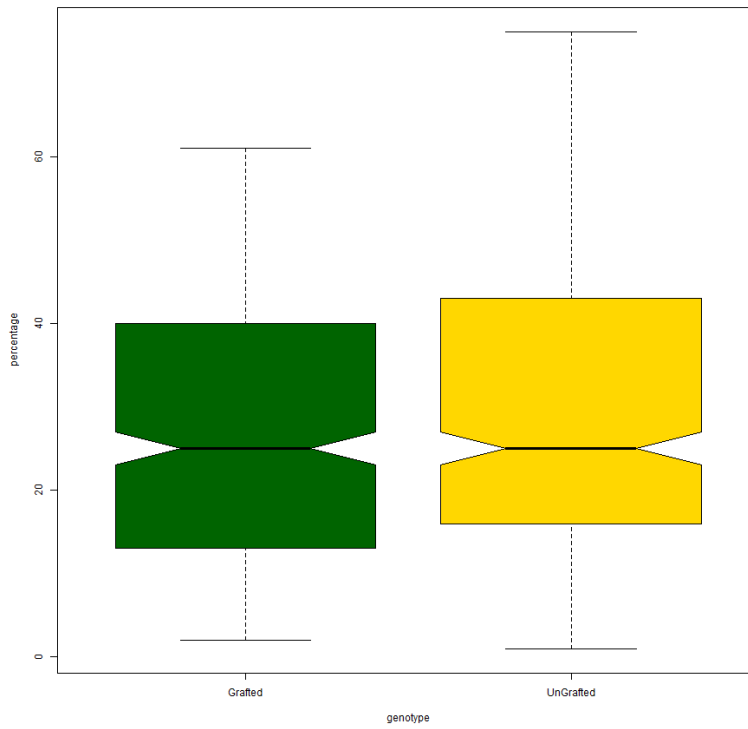
Le DMPs devono  
mostrare stesso status di  
metilazione (-/+)

# DMRs

I12

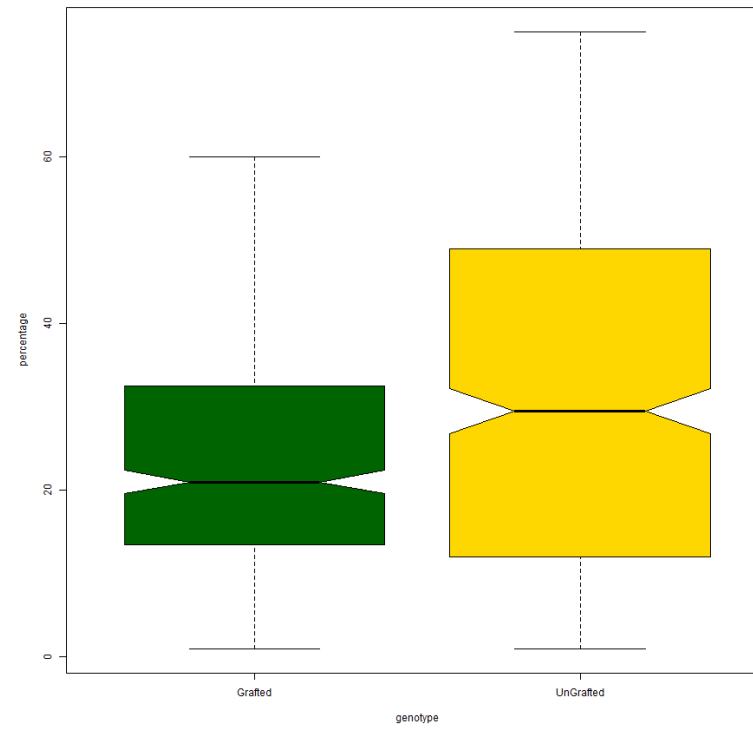
CG

methylation\_ratio



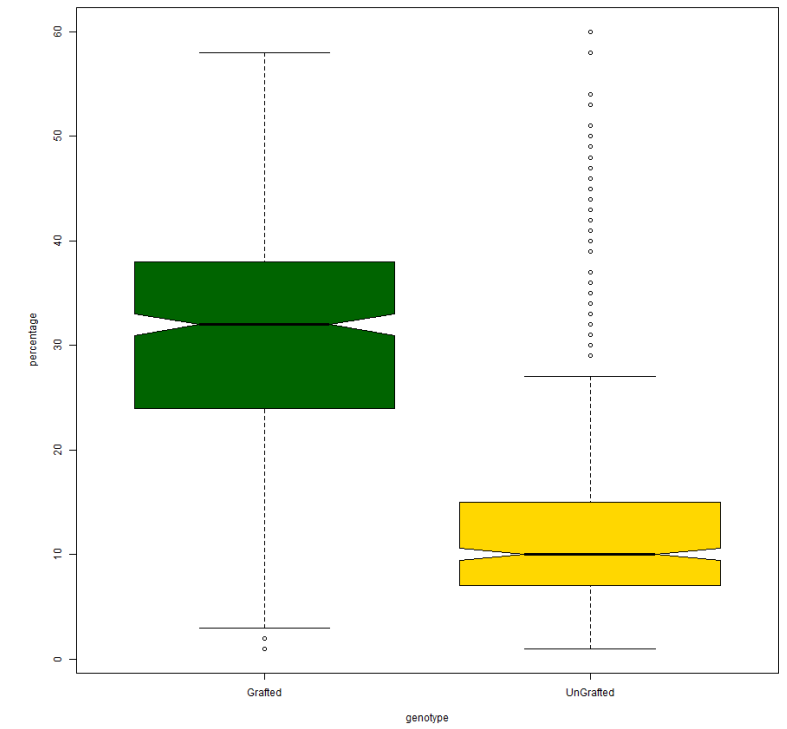
CHG

methylation\_ratio



CHH

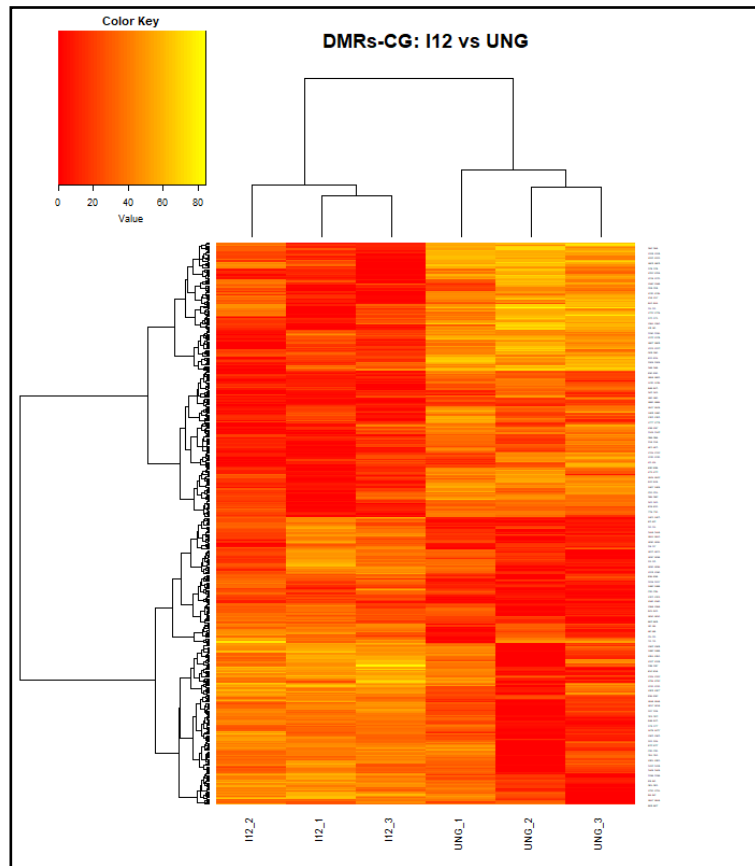
methylation\_ratio



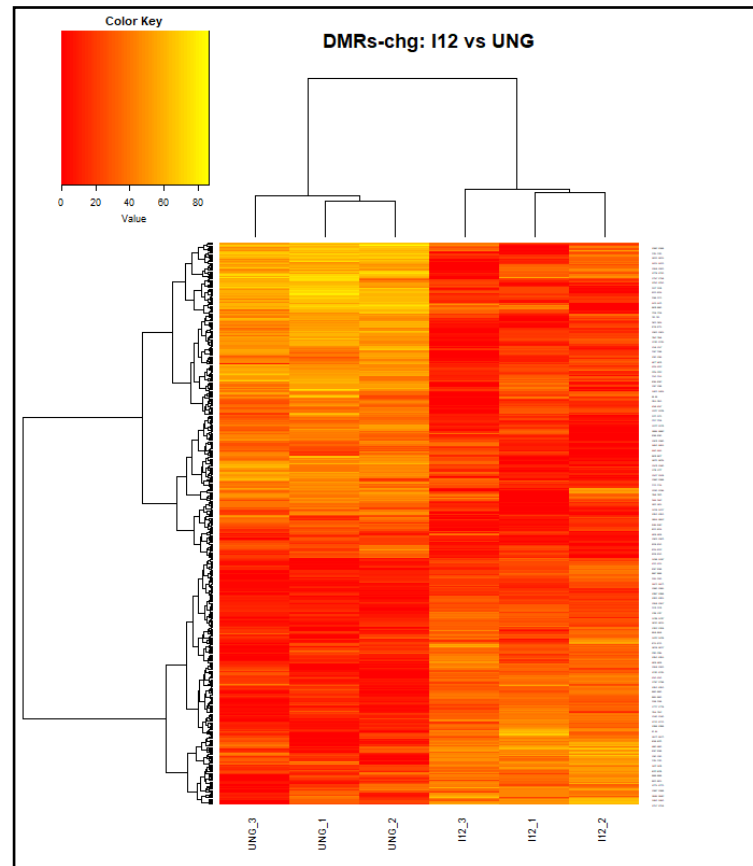
# DMRs

I12

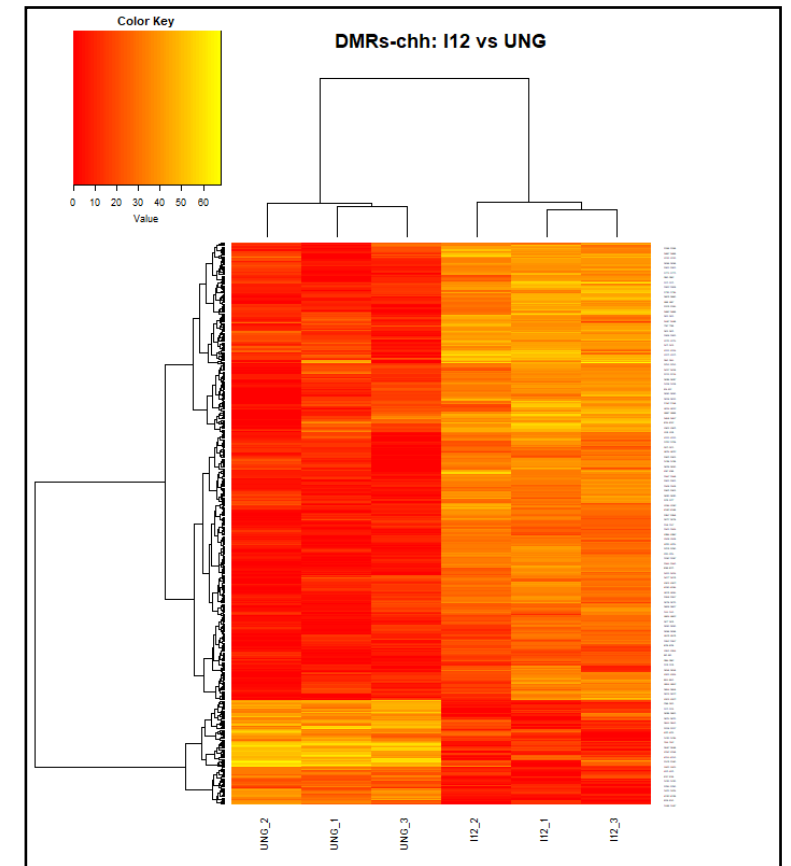
CG



CHG



CHH



# Geni differenzialmente metilati (DMGs)

Utilizzando l'annotazione ufficiale di pomodoro (ITAG 4) è stato possibile intersecare le coordinate delle DMRs trovate con la posizione dei geni nel genoma di pomodoro

	I12		I14		I15		O3		OPT		Self	
	GB	Reg	GB	Reg	GB	Reg	GB	Reg	GB	Reg	GB	Reg
CG	343	197	325	162	407	228	326	164	337	184	232	149
CHG	428	162	339	106	454	183	468	174	360	127	361	124
CHH	47	29	65	31	81	45	40	32	18	18	15	13

# Gene Ontology

I geni identificati sono stati sottoposti ad analisi con Panther, dai cui sono emerse delle GO interessanti che coprono aspetti importanti dello sviluppo del frutto e della pianta di pomodoro

**I12 – 03 - OPT**

- **Produzione di miRNAs coinvolti nel silenziamento genico mediato dai miRNA**

**I14 – I15**

- **Regolazione negativa della via di segnalazione mediata da acido gibberellico**

**I14 – 03**

- **Sintesi dell'acido abscisico**

**I12**

- **Omeostasi dei brassinosteroidi**

**Self**

- **Processo di biosintesi dei pigmenti**

# DMGs

## Solyc01g009090.3

- Proteina Serrate RNA effector molecule
- Campione: I12 - O3 - OPT
- Context: CHG

## Solyc10g086370.1

- Proteina contenente un dominio GRAS (GIBBERELIC-ACID INSENSITIVE (GAI), REPRESSOR of GAI e SCARECROW)
- Campione: I14 - 15
- Context: CHG



# DMGs

## Solyc04g071940.3

- Proteina Xantossina deidrogenasi
- Campione: I14 - O3
- Context: CHG

## Solyc12g006860.2

- Enzima citocromo P450, idrossilasi dei brassinosteroidi
- Campione: I12
- Context: CHH

## Solyc03g123760.3

- Proteina 15-cis-phytoene desaturase, biosintesi del licopene
- Campione: Self
- Context: CG

# Conclusioni

Gli effetti dell'innesto sul epigenoma di pomodoro sono evidenti e misurabili

Nelle PCA possiamo osservare come i campioni innestati si separino sensibilmente dai controlli non innestati lungo la prima componente

Le DMR identificate hanno mostrato una prevalente demetilazione nei context CG e CHG ed una ipermetilazione in CHH

Analisi di espressione

Grazie per l'attenzione