

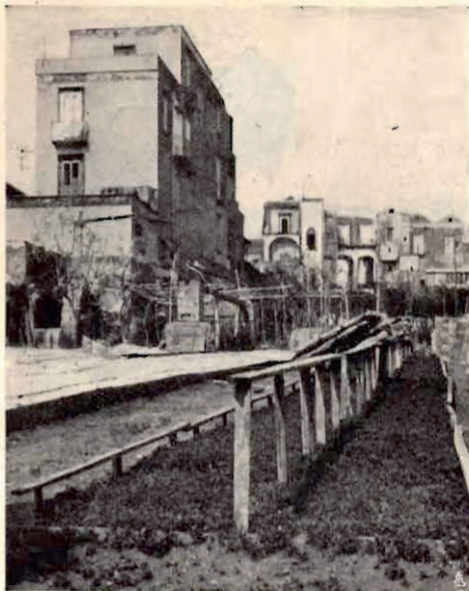
LUIGI FRUSCIANTE¹, LUIGI MONTI¹

Il miglioramento genetico del pomodoro in Italia

¹ Università degli Studi di Napoli Federico II

La diffusione della coltivazione del pomodoro in Italia ha portato alla nascita delle prime aziende sementiere che avviarono i primi programmi di selezione sull'intero territorio nazionale. I genotipi selezionati contribuirono in maniera rilevante allo sviluppo d'interi comprensori agricoli determinando, in alcuni casi, vere e proprie rivoluzioni industriali. Al nord si affermarono industrie per la produzione di conserve e concentrati (Mutti), al sud quelle per la lavorazione dei pelati (Cirio). L'industria conserviera influenzò, quindi, la selezione degli ecotipi locali di pomodoro, la cui destinazione d'uso doveva essere funzionale alle esigenze produttive. La collaborazione tra agricoltori, conservieri e sementieri fu, infatti, fondamentale per il successo della coltivazione del pomodoro nel nostro Paese. Ma la vera rivoluzione si realizzò con l'avvio della coltivazione del "San Marzano" (fig. 1) in Campania che stravolse i sistemi produttivi agricoli e industriali, portando all'enorme incremento della produzione di pomodori pelati (fig. 2). Questi risultati incoraggiarono gli addetti ai lavori ad avviare programmi mirati di miglioramento genetico.

All'inizio del secolo scorso, gli obiettivi di questi programmi erano volti a identificare genotipi idonei a soddisfare sia le esigenze degli agricoltori (maggiori rese per ettaro) sia quelle dell'industria (migliore resa alla trasformazione). I metodi di miglioramento erano basati, principalmente, sulla selezione massale, e in qualche caso anche su una sorta di selezione per linea pura, sfruttando popolazioni segreganti, ottenute da incroci casuali. A partire dagli anni '50 ebbe inizio la grande attività di miglioramento genetico basata sul deliberato ampliamento della variabilità genetica attraverso incroci intra- e inter-specifici. In quegli anni, furono trasferiti in nuovi genotipi geni legati al portamento della pianta (*sp*, *dw*, *j1*, *j2*) e al colore della bacca (*u*, *ogc*, *hp*). In Italia, nella seconda metà del XX secolo, i gruppi di ricerca pubblici impegnati



Semenzaio di pomodoro
su letto caldo a Resina (Napoli)

La buccia a completa maturazione è di colore rosso vivo intenso e si stacca con grande facilità. La polpa è soda, di sapore poco zuccherino. I frutti sono riuniti a grappoli di 5, 6 e anche più.

La pianta raggiunge un considerevole sviluppo (fino a m. 1,50) ed è ricca di foglie lunghe e strette e può portare fino a 10-12 grappoli di frutti, i quali maturano quasi regolarmente dal basso in alto.

Vi è chi pensa che questa varietà possa derivare dall'ibridazione naturale della varietà Fiaschella con la varietà Fiascone, pure coltivate nella zona. Altri opina trattarsi di mutazione di caratteri di varietà locali. Ma non si possono fare affermazioni in senso assoluto. Pare quasi accertato che la varietà abbia avuto origine in contrada Fiano tra Sarno e Nocera Inferiore, trasportata poi a S. Marzano dove avrebbe trovato le condizioni più propizie (1).

Il pomodoro di S. Marzano, è riconosciuto il più adatto per la fabbricazione dei pelati e nessun'altra varietà può competere con questa. Potrebbero usarsi anche varietà affini, come la *Fiaschella* e il *Re Umberto*, ma sia come resa che come bontà del

prodotto non sono superiori al S. Marzano, che resta la varietà incontrastabilmente superiore.

Poichè l'industria dei pelati non ha ancora sofferto crisi, così è da prevedere che si allargherà anche altrove.

È ormai dimostrato che nel Nord d'Italia l'industria dei pelati può effet-

(1) Dott. G. REGAZZI «L'industria italiana delle conserve alimentari» maggio-giugno 1926, n. 5-6.

Fig. 1 *Ipotesi dell'origine del 'San Marzano'*, «Italia Agricola», 1925

nel miglioramento genetico del pomodoro, erano fondamentalmente tre: uno afferiva al CNEN (Comitato Nazionale per l'Energia Nucleare, ora ENEA) di Roma (Monti, Saccardo) e due al MAF (Ministero dell'Agricoltura e Foreste), Istituto Sperimentale per l'Orticoltura (ora CREA) sede di Pontecagnano (Soressi) e Monsampolo del Tronto (Uncini). In seguito, con il passaggio di Monti all'Università degli Studi di Napoli Federico II e di Soressi all'Univer-



Fig. 2 Prima descrizione del pomodoro 'San Marzano' apparsa sulla rivista «Italia Agricola» nel 1912

sità degli Studi della Tuscia, anche in questi atenei furono avviati importanti programmi di ricerca sulla genetica del pomodoro, così come il CNEN, oggi ENEA, continuò l'attività di ricerca sulla genetica del pomodoro.

IL MIGLIORAMENTO GENETICO DEL POMODORO AL CNEN-ENEA ROMA

Con l'istituzione del laboratorio per le Applicazioni in Agricoltura, presso il CNEN, prende avvio anche il primo programma italiano di miglioramento genetico del pomodoro realizzato da un ente pubblico. Il responsabile delle attività di miglioramento genetico era Luigi Monti che avviò un articolato programma di ampliamento della variabilità genetica, utilizzando sia la mutagenesi sia gli incroci inter-specifici. La mutagenesi fu impiegata, soprattutto, per ottenere mutanti in *cultivar* di pomodoro (*Solanum lycopersicum*) da usare negli incroci per ottenere linee superiori. Gli incroci inter-specifici furono

utilizzati per trasferire geni di resistenza e, più in generale, germoplasma esotico da specie selvatiche al pomodoro coltivato. Le attività di ricerca condotte in quegli anni al CNEN portarono alla costituzione delle prime due *cultivar* di pomodoro da pelato costituite da un ente pubblico: ‘Vesuvio’ e ‘Sorrento’, varietà ad *habitus* determinato e bacca allungata, ottenute da incroci con linee migliorate di ‘San Marzano’. In particolare la *cultivar* ‘Sorrento’ fu incrociata con la *cultivar* americana ‘Fireball’, mentre la *cultivar* ‘Vesuvio’ con una linea canadese ‘Linea Guelph 1’ che trasferì alla nuova varietà precocità e colore rosso intenso delle bacche (gene *ogc*). Presso il CNEN fu anche costituita una varietà di pomodoro da mensa, in collaborazione con l’università di Torino: TePo (Tevere-Po). Quest’ultima varietà derivava dall’incrocio tra un ecotipo piemontese e una linea, ottenuta da incroci inter-specifici, resistente al virus del mosaico del tabacco (Tmv). Nei laboratori per l’Applicazione dell’Energia Nucleare in Agricoltura, furono elaborati nuovi protocolli di mutagenesi abbinati anche alle tecniche di coltura *in vitro* e fu applicata per la prima volta la tecnica *embryo rescue* per superare le barriere di incompatibilità tra *S. lycopersicum* e *S. peruvianum*. Infatti, l’allora *Lycopersicon peruvianum* era il donatore principale di alleli per la resistenza a virosi in pomodoro. L’attività di miglioramento genetico in pomodoro è proseguita al CNEN, anche dopo il trasferimento di Monti all’Università degli Studi di Napoli Federico II. Prima con Saccardo, che continuò a studiare i geni di resistenza a stress biotici (soprattutto virus) e, in seguito al trasferimento di Saccardo a Napoli, le attività proseguirono sotto la responsabilità dei ricercatori già in forza al CNEN, che si erano formati alla loro scuola, e di altri giovani assunti per rafforzare il nuovo ente, “il Consiglio nazionale per la ricerca e lo sviluppo dell’Energia Nucleare e delle Energie Alternative (ENEA)” nato dal riordino del CNEN.

Le nuove attività avviate all’ENEA da Giovanni Giuliano e Gianfranco Diretto furono indirizzate al miglioramento della qualità del frutto in relazione al contenuto di molecole nutrizionali e anti-nutrizionali. Più nel dettaglio, attraverso approcci di transgenesi a carico della via biosintetica dei carotenoidi, sono state realizzate linee arricchite in β -carotene e xantofille (zeaxantina, violaxantina e neoxantina), mediante l’espressione ectopica dei geni codificanti per la licopene β -ciclasi, da sola o in combinazione con la β -carotene idrossilasi. Tali modificazioni hanno evidenziato alterazioni positive a carico di una serie di molecole a elevato valore aggiunto (tocoferoli, fenilpropanoidi), e della serbevolezza, con un aumento della *shelf-life* fino a 5 volte rispetto ai frutti non modificati.

Più recentemente, sono stati utilizzati approcci di editing genomico, mediante la tecnologia CRISPR/Cas9, per ottenere ideotipi con ridotto contenuto in glicoalcaloidi e allergeni (fino al 99% del contenuto dei frutti *wild-type*);

tali risultati sono stati ottenuti mediante lo spegnimento delle funzioni geniche del citocromo P450 GAME4 (*glycoalkaloid metabolism 4*) e della proteina PR-10. Tali frutti sono caratterizzati da un aumento in saponine e fitosteroli, molecole ad azione positiva per la salute umana.

L'ENEA ha, infine, fatto parte del consorzio del progetto H2020 TRADITOM, nel quale sono state inizialmente fenotipizzate e genotipizzate 1.500 accessioni di pomodoro, comprendenti varietà tradizionali e moderne, e specie selvatiche affini. I risultati di tali analisi hanno consentito di determinare la variabilità genetica del pomodoro europeo e di costituire un sottogruppo che rappresentasse la massima variabilità genetica riscontrata, da sottoporre a una estesa caratterizzazione dei profili metabolici. In tal modo, integrando tutti i dati prodotti nel corso del progetto (fenotipici, genomici e metabolomici), si è provveduto a individuare QTL associati a caratteri legati alla qualità nutrizionale e sensoriale attraverso un approccio di *association mapping*.

IL MIGLIORAMENTO GENETICO DEL POMODORO A PORTICI, UNIVERSITÀ E CNR

Con il trasferimento di Monti alla Facoltà di Agraria fu avviata, anche a Portici, un'importante attività di miglioramento genetico del pomodoro in continuità con quanto aveva già realizzato in Casaccia a Roma. Monti al CNEN aveva costituito due *cultivar* di pomodoro da industria destinate alla produzione di pelati e la sua attività proseguì, nella stessa direzione, anche a Portici. Infatti, insieme ai suoi primi collaboratori e studenti cominciò a esplorare la variabilità genetica presente nell'ecotipo 'San Marzano' e continuò a effettuare incroci inter- ed intra-specifici per aumentare la variabilità genetica. Le attività di ricerca sul pomodoro si ampliarono notevolmente con l'istituzione, da parte del CNR, del Centro di Miglioramento Genetico delle Piante, che trovò la sua collocazione in una struttura della Facoltà di Agraria, "il Castello", ristrutturato e rifunzionalizzato per ospitare sia i ricercatori dell'Università sia quelli del CNR impegnati nelle ricerche in genetica agraria.

A partire dagli anni '80, presso i laboratori del "Castello" di Portici, i ricercatori dell'Università degli Studi di Napoli Federico II e del CNR, avviarono un'intensa attività di ricerca sul pomodoro finalizzata: (i) al miglioramento della qualità del frutto e dell'interazione con l'ambiente, (ii) alla costituzione di nuove varietà, anche in collaborazione con ditte sementiere campane e (iii) allo studio della diversità genetica presente nella specie, affiancando i metodi tradizionali all'uso delle tecnologie "omiche" e delle biotecnologie.

Per quanto riguarda l'Università, le attività di ricerca furono indirizzate principalmente allo studio della variabilità fenotipica, genetica e genomica

e alla selezione di linee superiori anche mediante l'uso di marcatori molecolari (Barone). Tali studi portarono all'ottenimento di linee migliorate per resistenza a patogeni e per caratteristiche qualitative della bacca. Col passare degli anni, l'utilizzo dei marcatori molecolari velocizzò e aumentò l'efficienza di realizzazione degli schemi di *breeding*, principalmente basati sul reincrocio, portando alla selezione di molte linee resistenti anche a più patogeni contemporaneamente (fig. 3). Nel corso degli anni, sono stati sviluppati nuovi tipi di marcatori molecolari: si è passati così dagli iniziali marcatori RFLP a marcatori più vantaggiosi e di più facile utilizzo, quali RAPD, AFLP, SCAR o CAPS che hanno consentito la selezione assistita positiva e negativa, a integrazione del miglioramento genetico classico (fig. 4).

Dopo circa una decina di anni, in cui sono state acquisite diversificate esperienze nell'utilizzo dei diversi tipi di marcatori molecolari come ausilio alle attività del *breeding*, nel 2004 i ricercatori del "Castello" sono stati chiamati ad affrontare una grande sfida in un contesto internazionale che ha visto coinvolti 14 Paesi: il sequenziamento del genoma del pomodoro. Al gruppo di laboratori italiani coinvolti, è stato affidato il sequenziamento del cromosoma 12, che ha richiesto un grosso sforzo organizzativo, scientifico ed economico, culminato, nel 2012, con la pubblicazione dell'intero genoma sulla rivista «Nature». Nel corso di questa attività il gruppo di Portici che ha lavorato sul pomodoro si è ingrandito in numero e competenze. Il progetto di sequenziamento ha consentito, infatti, la realizzazione di diverse attività satellite basate sull'uso di strumenti di genomica, trascrittomica, bioinformatica, che hanno contribuito all'ulteriore crescita del gruppo in ambito nazionale e internazionale.

La plasticità del genoma del pomodoro e la selezione genomica per stress ambientali

I genomi sono plastici per rispondere rapidamente a fattori genetici e ambientali. La plasticità del genoma del pomodoro può essere osservata durante l'intero ciclo di crescita e sviluppo della pianta e la sua interazione con l'ambiente. L'analisi del trascrittoma di varietà diverse di pomodoro (Ercolano) ha evidenziato geni espressi in ambienti diversi capaci di influenzare la qualità sensoriale dei pomodori. La composizione della parete cellulare e l'etilene esercitano un ruolo fondamentale nel determinare la qualità del frutto e l'accumulo di metaboliti legati al gusto e all'aroma. L'analisi dei *network* genici ha permesso di seguire le traiettorie trascrittomiche, metaboliche e sensoriali modificate ad opera di geni duplicati che stabiliscono collegamenti

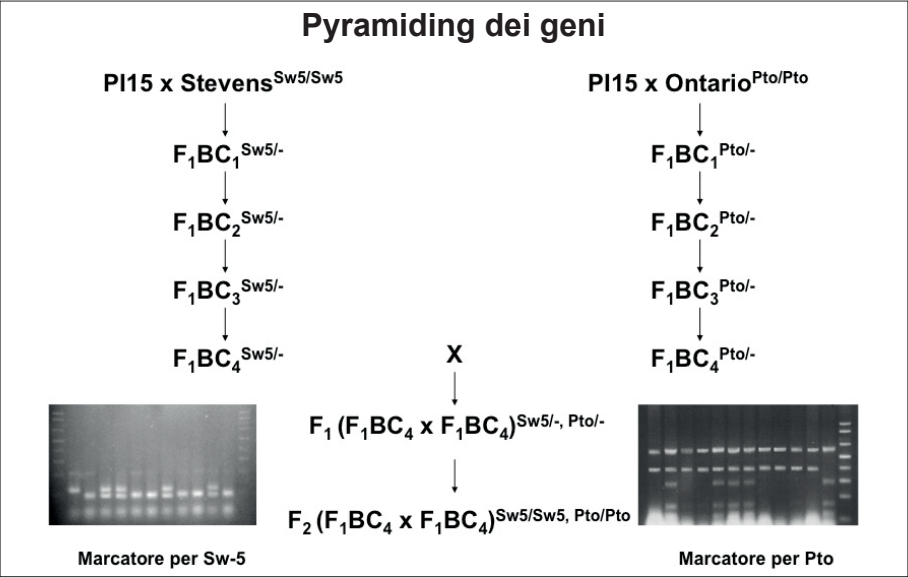


Fig. 3 Schema di incrocio per il “pyramiding” dei geni di resistenza *sw-5* (“tomato spotted wilt virus”) e *pto* (“bacterial pathogen *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* race”)

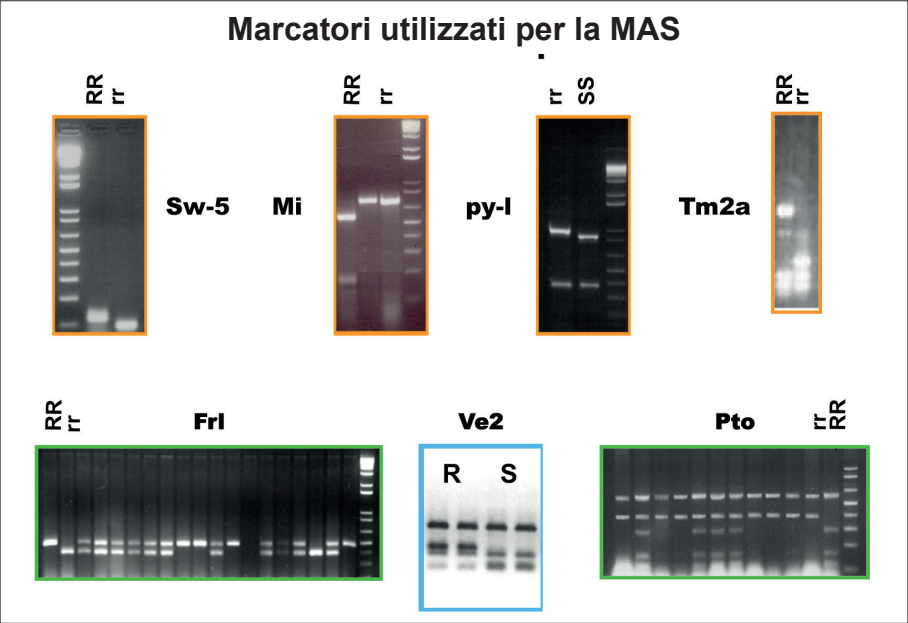


Fig. 4 Elettroforesi di DNA su gel di agarosio di diversi marcatori utilizzati per la selezione assistita (MAS, marker assisted selection)

mutevoli nei diversi ambienti. La resilienza genotipica all'ambiente è mediata da un certo numero di geni comuni e da un adeguato controllo dell'espressione genica. Quanto evidenziato in questo studio fornisce un contributo rilevante per la comprensione dei meccanismi alla base della plasticità genomica. Quest'ultimo è argomento di un'importanza crescente in uno scenario in cui i cambiamenti climatici stanno determinando seri problemi in agricoltura. Recentemente per selezionare linee di pomodoro resistenti alle alte temperature è stato anche utilizzato un approccio di selezione genomica. Una popolazione segregante F4, derivante da una varietà di pomodoro precedentemente selezionata per la resa e contenuto in solidi solubili (SSC) in condizioni di stress termico, è stata caratterizzata a livello fenotipico e genotipico mediante *genotyping-by-sequencing*. Circa 10.000 SNP (*single nucleotide polymorphism*) sono stati utilizzati per predire il valore genetico dei candidati per il successivo ciclo di selezione. La predizione per caratteri complessi come la resa di produzione e il SSC è risultata superiore al 70%. Questa strategia ha permesso di aumentare l'efficienza del programma di selezione; tuttavia lo sviluppo di modelli, la scelta dei marcatori molecolari e lo stadio di selezione ottimale sono ancora definiti in modo empirico e devono essere ottimizzati nel prossimo futuro.

Bioinformatica e analisi strutturale e funzionale del genoma di pomodoro

Nel recente passato i progetti internazionali volti a sequenziare l'intero genoma di organismi modello erano spesso affiancati da iniziative per il sequenziamento del trascrittoma nella forma di frammenti di sequenza espressa (ESTs; *expressed sequence tags*). Tali iniziative erano indispensabili per favorire la ricerca, l'identificazione e la caratterizzazione funzionale dei locus genici. Nel 2005 il laboratorio di Bioinformatica (Chiusano, D'Agostino) ha sviluppato una *pipeline*, denominata ParPEST (*Parallel Processing of ESTs*), per ricostruire i trascritti a partire dalle sequenze EST e fornirne una annotazione funzionale preliminare. La disponibilità di questa *pipeline* ha consentito lo sviluppo di banche dati secondarie (i.e., TomatEST, SolEST) che integravano informazioni sulle sequenze EST generate da diverse librerie di più specie di pomodoro e, più in generale, di specie appartenenti alla famiglia delle Solanaceae. Sulla base delle esperienze maturate, il laboratorio ha aderito all'iTAG (*international Tomato Annotation Group*), all'interno del quale si è occupato dell'annotazione strutturale del genoma del pomodoro utilizzando metodi comparativi (allineamento delle EST e dei trascritti ricostruiti lungo il genoma) e ha contribuito alla costruzione di un *dataset* affidabile di geni modello (sviluppando

un *software* ad hoc, GeneModelEST) utilizzato per l'addestramento di metodi di predizione genica *ab initio*. Con la comparsa delle tecniche di sequenziamento di nuova generazione (NGS), il laboratorio ha cominciato a sviluppare metodi, strumenti e strategie per l'analisi dei dati NGS, indirizzati principalmente allo studio dei trascrittomi (*RNA-sequencing*) e alla determinazione dei profili di espressione genica in pomodoro.

Per quanto riguarda le attività del CNR, Istituto di Bioscienze BioRisorse, esse possono essere ricondotte a tre filoni principali:

1. *Genomica strutturale e variabilità genetica: applicazioni per il miglioramento del pomodoro*

Lo sviluppo della tecnologia dei marcatori molecolari e delle mappe genetiche ha promosso una rapida evoluzione dello studio delle basi genetiche dei caratteri importanti per il miglioramento genetico delle colture. Molti di questi caratteri sono quantitativi, pertanto l'identificazione di marcatori molecolari associati ai loci che influenzano tali caratteri poligenici (QTL) ha reso possibile il passaggio dal miglioramento genetico classico basato sull'osservazione del fenotipo a nuove strategie di *breeding* assistito dall'uso di marcatori molecolari. L'evoluzione delle tecniche di sequenziamento ha permesso l'identificazione di polimorfismi e geni candidati che contribuiscono a caratteri d'interesse in specie selvatiche e varietà tradizionali.

Il CNR-IBBR di Portici ha contribuito allo sviluppo della mappa RFLP ad alta densità del pomodoro e all'applicazione del metodo *advanced backcross* QTL, per l'identificazione di numerosi QTL di origine selvatica potenzialmente utili per il miglioramento di varietà *elite* di pomodoro (Grandillo).

La biodiversità naturale presente nelle specie selvatiche e in varietà tradizionali costituisce una preziosa risorsa per il miglioramento genetico del germoplasma coltivato e di *elite*.

Le specie selvatiche, in particolare, possono rappresentare una fonte utile di variabilità genetica anche per il miglioramento di caratteri quantitativi per i quali mostrano fenotipi inferiori. Pertanto, al fine d'incrementare le potenzialità del miglioramento genetico basato sull'introggressione di QTL dalle specie selvatiche al pomodoro coltivato, è stata sviluppata e caratterizzata una collezione di popolazioni inter-specifiche di linee d'introggressione (IL, sub-IL e BIL), derivate da quattro diverse specie selvatiche, e ancorate al genoma del pomodoro. Una delle popolazioni è costituita da un nuovo *set* di IL della specie selvatica *Solanum habrochaites* (acc. LA1777) (SH), le cui introggressioni sono state definite a livello di singolo cromosoma facilitandone l'uso per il miglioramento genetico di numerosi caratteri d'interesse. Alcune delle nuove SH IL hanno rappresentato un valido strumento per

la validazione di QTL per composti volatili del frutto e per l'identificazione di regioni genomiche associate alla resistenza all'insetto *Tuta absoluta*.

Una popolazione di linee IL della specie selvatica *Solanum chimielewskii* è stata utilizzata per studiare le basi biochimiche e molecolari del mutante *y* (buccia trasparente) sul cromosoma 1, che, in combinazione con mesocarpo rosso, determina una colorazione rosa del frutto di pomodoro. L'analisi integrata ha identificando *SLMYB12* quale probabile candidato per la mutazione *y*, che pertanto può essere utilizzato come un efficiente marcatore genetico per selezionare il fenotipo rosa in programmi di miglioramento genetico.

Il sequenziamento del genoma plastidiale di varietà tradizionali campane e di specie selvatiche (*S. pimpinellifolium*, *S. neorickii*) ha dimostrando la scarsa variabilità genetica del pomodoro coltivato anche nel DNA citoplasmatico e l'esistenza di un potenziale collo di bottiglia occorso durante la domesticazione del pomodoro (Scotti).

Inoltre, al fine di identificare geni e varianti alleliche superiori, sono stati risequenziati i genomi delle varietà locali campane Lucariello e Crovarese, che appartengono alla tipologia "pomodoro da serbo" e che presentano tratti di maggiore qualità e conservabilità del frutto e di adattamento a condizioni ambientali subottimali. I risultati hanno dimostrato la presenza in entrambi i genotipi di regioni caratteristiche dei genomi di *S. pimpinellifolium* e *S. pennellii*, e la presenza di polimorfismi in geni coinvolti nella tolleranza a stress e nella maturazione del frutto, inclusi componenti della risposta all'ormone etilene (Grillo, Tucci). La presenza di tali polimorfismi è stata confermata mediante un'analisi SNP array su una più ampia collezione di genotipi Italiani "da serbo". Tale analisi ha inoltre dimostrato che le accessioni di "pomodoro da serbo" del sud Italia si differenziano geneticamente da altre tipologie di pomodoro e ha identificato ulteriori geni candidati come responsabili dei caratteri di qualità e conservabilità del frutto e di tolleranza a stress ambientali di tali "landraces" (Grillo).

2. Genomica funzionale per l'analisi dell'interazione pianta-ambiente

Negli anni sono stati condotti diversi studi volti all'identificazione di geni e allo studio dei meccanismi molecolari utili ai fini del miglioramento genetico per la risposta a stress e per l'interazione con microrganismi benefici.

Lo stress da elevate temperature costituisce una delle principali cause di perdita di produzione in pomodoro, riducendo la vitalità e germinabilità del polline e la fruttificazione. Studi molecolari e proteomici hanno permesso di identificare il ruolo del fattore di trascrizione HsfAII, e di proteine, quali glutamina sintetasi e polifenolo ossidasi, in meccanismi di protezione delle antere in condizioni di stress da caldo (Grillo).

Le risposte a stress idrico sono state investigate in studi molecolari, fisiologici e proteomici, in varietà commerciali, in genotipi mutanti e in ecotipi tradizionali caratteristici del sud Italia, adattati a condizioni di bassa disponibilità idrica, permettendo l'identificazione di geni, proteine e risposte biochimiche associate ai meccanismi di tolleranza. La validazione funzionale di alcuni dei geni candidati identificati è in corso anche attraverso l'utilizzo delle *new breeding technologies* (Batelli).

L'interazione con microrganismi benefici della rizosfera è stata esplorata in diversi studi volti alla comprensione dei meccanismi molecolari elicitati, dimostrando che la promozione della crescita mediata da funghi del genere *Trichoderma* è genotipo-dipendente, e mediata dall'induzione di geni, trascritti e proteine coinvolti nell'acquisizione di nutrienti, nella detossificazione di specie reattive dell'ossigeno e nella difesa da patogeni. Si è inoltre dimostrato che proteine, coinvolte nell'interazione con microrganismi e nella difesa da patogeni fungini, sono rilasciate dall'apparato radicale di pomodoro attraverso vescicole extracellulari, indicando un nuovo meccanismo d'interazione della pianta con l'ambiente circostante (De Palma, Tucci).

3. *Approcci multidisciplinari per il miglioramento della qualità sensoriale del pomodoro*

Una sempre più diffusa insoddisfazione dei consumatori nei confronti del sapore della maggior parte delle varietà di pomodoro commerciali rende necessari studi volti al miglioramento della qualità sensoriale del frutto di pomodoro. A tal fine, sono stati condotti studi multidisciplinari che attraverso l'integrazione di dati fisico-chimici, incluso i volatili, profili sensoriali e preferenze dei consumatori hanno identificato il sapore e la consistenza quali fattori principali nel guidare la scelta dei consumatori. Recentemente, utilizzando un approccio simile è stato condotto uno studio su varietà tradizionali di pomodoro da consumo fresco confrontate con gli omologhi commerciali dal quale è emerso che il miglioramento genetico si sta muovendo nella giusta direzione anche in termini di qualità sensoriale (Grandillo).

MIGLIORAMENTO GENETICO DEL POMODORO PRESSO ISTITUTI SPERIMENTALI
DI RICERCA (IRSA) E CRA/CREA

Il miglioramento genetico del pomodoro presso gli ex Istituti di Ricerca e Sperimentazione Agricola dell'allora Ministero dell'Agricoltura e Foreste oggi CREA (Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria – Ente autonomo che opera sotto il controllo del Ministero per le politiche

Agricole) è iniziato alla fine degli anni '60 con Lelio Uncini. Lelio Uncini era a quel tempo ricercatore presso il Centro Appenninico del Terminillo di Rieti, fondato nel 1949 dal prof. Carlo Jucci dell'Università degli Studi di Pavia. Come noto Jucci fu uno dei pionieri della ricerca genetica in Italia, e Uncini sotto la sua guida avviò un importante programma di miglioramento genetico in diverse specie ortive, tra le quali il pomodoro.

Iniziò collezionando germoplasma di pomodoro proveniente da tutta la penisola e attraverso la sua valutazione avviò un programma di selezione finalizzato alla costituzione di nuove varietà di pomodoro, sia da mensa sia da industria, in quest'ultimo caso puntando su piante a sviluppo determinato. L'individuazione di alcune accessioni e la loro diffusione presso gli agricoltori, incentivarono la produzione del pomodoro da industria nella piana reatina e una accessione "Italo 61" ebbe anche un discreto successo.

Con la nascita degli Istituti Sperimentali e il loro insediamento sui territori, Uncini si trasferì presso Istituto Sperimentale per l'Orticoltura, sede di Monsampolo.

Valorizzazione del germoplasma italiano di pomodoro e costituzione di nuove varietà

All'epoca a San Benedetto del Tronto operavano i più importanti esportatori di pomodoro da mensa italiano, soprattutto verso i mercati del centro e nord Europa. Negli anni '60 il pomodoro esportato era il "Tondo liscio", una tipologia con frutti perfettamente tondi del peso medio inferiore a 100 grammi, raccolto verde. La varietà più coltivata per l'esportazione era la *cultivar* 'Moneymaker'. Si trattava di una varietà con piante poco vigorose e con scarsa copertura dei frutti che venivano diffusamente danneggiati da *blotchy ripening*, inoltre i frutti erano anche poco consistenti e avevano una limitata conservabilità. 'Moneymaker' era una *cultivar* più adatta alle coltivazione sotto serra che a quella in pieno campo ma in Italia, in quel periodo, il pomodoro da mensa veniva coltivato quasi esclusivamente in pieno campo.

Messo di fronte a questa evidenza e sfruttando l'ampia collezione di germoplasma raccolto, Uncini effettuò un articolato programma di incroci e selezionò la varietà 'Picenum', da una delle popolazioni segreganti. 'Picenum' presentava piante vigorose, aveva frutti più grandi di 'Moneymaker' e aveva il fogliame coprente che proteggeva le bacche dalle alte temperature. La *cultivar* 'Picenum' ebbe un grande successo e nel giro di poco tempo sostituì 'Moneymaker' nelle coltivazioni del pomodoro da mensa in Italia.

L'avvento degli ibridi e la concorrenza delle produzioni olandesi e spagnole in coltura protetta indussero Uncini e i suoi collaboratori ad avviare program-

mi di *breeding* che tenessero conto delle nuove esigenze di mercato, ovvero costituire ibridi di pomodoro con piante vigorose, produttive, resistenti ai principali agenti patogeni terricoli, con bacche adatte alla raccolta allo stadio invaiato, consistenti e di lunga conservazione. Tra gli ibridi, costituiti da Uncini 'Giasone' è stato quello che ha riscontrato più successo; infatti per anni è stato l'unico pomodoro tondo da mensa italiano a essere esportato all'estero. Fu ottenuto da linee migliorate tramite incroci intra-specifici resistenti a patogeni, nelle quali furono trasferiti anche i geni *rin* e *nor* che conferirono ai frutti elevata consistenza e una lunga conservabilità in post-raccolta. Per la sua commercializzazione fu costituito anche un consorzio di produttori e per la sua diffusione fu avviata una collaborazione con la ditta Semenco di Cesena. Questa fu anche la prima collaborazione pubblico/privato avviata dal Ministero dell'Agricoltura e Foreste. La collaborazione risultò strategica e fu fondamentale per diffondere altri ibridi di pomodoro tondo da mensa quali: 'Anceo', 'Linceo' e 'Polluce'.

Sempre presso l'Istituto di Monsampolo per iniziativa di Nazzareno Acciarri, a partire dagli anni '90, nel rispetto degli indirizzi politici del MAF e in collaborazione con gli enti locali, iniziò un vasto recupero di accessioni di tipologie locali tradizionali e venne avviato un programma di *breeding* per migliorare i caratteri del frutto, della pianta e per trasferire resistenze genetiche a patogeni. Lo stesso Istituto fu pioniere nel miglioramento genetico degli ecotipi 'Cuor di Bue di Albenga', 'Pera d'Abruzzo', 'Rosa di Sorrento' e altre. Soprattutto il primo si sarebbe diffuso largamente nelle coltivazioni dei pomodori da mensa. Oltre ai finanziamenti pubblici furono essenziali le collaborazioni con varie ditte sementiere quali: Four, Blumen, ISI e altre ancora che per riservatezza contrattuale scelsero di non essere menzionate pubblicamente. I loro finanziamenti e soprattutto il loro supporto tecnico contribuirono a diffondere i risultati di queste ricerche rappresentati principalmente dalla costituzione di numerose varietà di successo ('Cuorbenga', 'Margot', 'Perbruzzo', 'Corallo', 'Costiera', ecc.)

Studio di mutanti e ottenimento di linee partenocarpiche

Sempre negli anni '70 e sempre presso l'Istituto Sperimentale per l'Orticoltura sede di Pontecagnano, anche Gianpiero Soressi avviò un importante programma di miglioramento genetico del pomodoro. Le attività furono principalmente incentrate sullo studio della partenocarpia e dei mutanti monosteli. Tra le attività più importanti va menzionata la costituzione di linee con il gene *pat* responsabile della partenocarpia. Questo carattere fu trasferito in

diverse tipologie di pomodoro, ottenendo genotipi con frutti partenocarpici di elevata qualità, di dimensioni e forma uguali a quelle dei frutti fecondati. Fu anche dimostrato come in ambiente mediterraneo, il gene *pat-2* riusciva a migliorare l'allegagione ma anche il peso del frutto. Le attività riguardarono anche lo sviluppo di nuovi genotipi di pomodoro adatti per colture fuori suolo in serra, idonei per le coltivazioni ad alta densità (10-14 piante/m²) e sistemi colturali a ciclo breve da realizzare senza l'utilizzo di trattamenti con auxina per allegagione. Le attività di ricerca, condotte principalmente tra il 1987 e il 1992, furono concentrate sulla selezione di genotipi partenocarpici monosteli (gene *to-2*) adatti per coltivazioni mediante tecnica NFT (tecnica del film nutritivo). In seguito, le attività di *breeding* furono rivolte allo sviluppo di varietà da industria tipo "ciliegino"; in particolare, va ricordata la varietà 'Parteno' estremamente fertile e di eccellente qualità.

Vanno inoltre riportate le attività di mutagenesi per lo sviluppo di mutanti mediante trattamento dei semi con raggi X e etilmetansolfonato (EMS). Furono ottenuti diversi mutanti tramite irradiazione per caratteri come la germinazione, altezza della piantina, tempo di fioritura e maturazione, dimensione dei frutti e numero di semi per frutto. Diversi mutanti furono ottenuti anche con trattamenti con EMS delle varietà 'San Marzano' e 'Sioux'; in questo caso le mutazioni interessarono più la pigmentazione delle foglie e la struttura dei fiori, particolarmente interessanti furono anche le varianti somaclonali indotte da mutagenesi chimica. Di particolare interesse furono le linee mutate per la colorazione antocianica e per frutti molto amari (bitter fruit, *bf*) ottenute dal trattamento della *cultivar* 'UC82'. Per quest'ultima mutazione, fu individuata una relazione causale tra il gusto amaro e un alto contenuto di tomatina.

Sviluppo di popolazioni ricombinanti

Negli ultimi anni le attività hanno riguardato, soprattutto, la valorizzazione di risorse genetiche e lo sviluppo di popolazioni ricombinanti per diversi caratteri. Infatti, la ricerca condotta da Pasquale Tripodi ha riguardato lo studio delle basi genetiche di caratteri d'interesse agronomico e qualitativo in collezioni presenti presso l'Istituto; nel caso specifico sono stati scelti ecotipi, varietà locali per il consumo fresco e "linee da serbo" dotate di buona conservabilità post-raccolta, varietà tradizionali; sono state incluse nel disegno sperimentale anche linee migliorate, al fine di avere un'ampia collezione di risorse (circa 400 genotipi) in grado di rappresentare la variabilità genetica e fenotipica esistente. Questi materiali sono stati caratterizzati con tecnologie NGS, al fine di investigare in modo fine la diversità genomica e la struttura

di popolazione. La valutazione in pieno campo e in più ambienti e/o anni, ha permesso, e sta permettendo, di identificare nuovi alleli d'interesse mediante analisi GWAS.

Le attività di ricerca si sono realizzate mediante un'interazione sinergica tra le 3 strutture di ricerca situate in Campania permettendo il coinvolgimento di competenze specifiche, di *breeding*, biologia molecolare e *phenotyping*, consentendo infine di instaurare collaborazioni con istituti di ricerca internazionali.

IL MIGLIORAMENTO GENETICO DEL POMODORO PRESSO L'UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DELLA TUSCIA

Il trasferimento di Gianpiero Soressi a Viterbo comportò anche l'avvio di un importante programma di miglioramento genetico del pomodoro. Soressi aveva maturato una grande esperienza in questo settore studiando la partenocarpia e la maschiosterilità, ricorrendo all'impiego della mutagenesi e allo studio dei mutanti, costituendo nuove varietà. All'Università degli Studi della Tuscia continuò e ampliò queste attività insieme ad Andrea Mazzucato. Infatti, le ricerche svolte hanno abbracciato molti campi di studio, includendo la raccolta e conservazione del germoplasma, la sua caratterizzazione (con enfasi per le varietà locali), l'uso delle colture *in vitro*, le tecniche di trasformazione per la resistenza a stress biotici (batteri, funghi e insetti) e abiotici (stress termico e salino), l'analisi genetica per la mappatura e l'isolamento di geni di interesse (mutanti del portamento, mutanti partenocarpici e maschiosterili). Nel campo del *breeding* per la diversificazione del colore e della qualità della bacca sono state realizzate diverse selezioni e costituzioni tra cui l'introgresione di mutazioni in differenti *background* genetici e la costituzione di doppi mutanti con fenotipi innovativi come la bacca verde (Kiwi *tomato*) e nera (Sun BlackTM).

PROSPETTIVE

Con gli inizi degli anni Duemila e il consolidarsi degli studi in genomica e più in generale nelle discipline "omiche", i ricercatori, che si occupavano di questa specie, riorientarono le loro attività di ricerca verso questa nuova branca della biologia molecolare, ottenendo eccellenti risultati e contribuendo al sequenziamento del suo genoma. Oggi i gruppi che utilizzano il pomodoro come pianta modello nelle loro ricerche in genetica e nelle scienze "omiche", sono

cinque: Università degli Studi di Napoli Federico II e IBBR (CNR) a Portici, Università degli Studi della Tuscia a Viterbo, ENEA a Roma e CREA di Ponzanico. Molti di questi ricercatori sono coordinatori d'importanti progetti di ricerca europei e contribuiscono in maniera rilevante al progresso degli studi della biologia dei sistemi in pomodoro. Un altro settore che vede sempre più spesso impegnati ricercatori italiani è quello salutistico- nutraceutico.

LA RICERCA DEI PRIVATI

La coltivazione del pomodoro in Italia era diventata, dopo gli anni '50, sempre più importante e punto di riferimento per tutto il bacino del Mediterraneo. Ciò spinse la Petoseed Co.Inc. (oggi gruppo Bayer), una delle più importanti aziende sementiere americane dell'epoca, a investire in Italia. La ricerca della Petoseed in quel periodo era finalizzata a sviluppare varietà OP (Open-Pollinated) prevalentemente per le aziende di trasformazione dell'Italia settentrionale. Da lì la ricerca si spostò verso la tipologia allungata per la produzione di pelati nelle province di Napoli e Salerno, ottenendo, tramite i primi programmi di reincrocio, varietà OP a frutto allungato su pianta determinata. In questo modo furono costituite le prime varietà a sviluppo determinato, 'Chico III', 'Ventura' e 'Roma' immediatamente accettate dalle industrie di trasformazione per l'ottima qualità dei frutti, in termini soprattutto di sapore, colore e pelabilità.

Trattandosi però di varietà OP, per quanto fossero ad *habitus* determinato e adatte al pieno campo, esse non avevano la produttività, la contemporaneità di maturazione e l'uniformità delle bacche, tutte caratteristiche necessarie a garantire un reddito accettabile per gli agricoltori.

Nel frattempo negli Stati Uniti, prevalentemente in California, si stavano affermando le prime varietà ibride che sfruttavano l'effetto eterotico e l'inserimento di resistenze a diversi patogeni: *Verticillium*, *Fusarium*, *Pseudomonas* e nematodi. Il successo delle varietà ibride di pomodoro, specie autogama, andò oltre ogni più rosea previsione.

Questi risultati convinsero la Petoseed a potenziare la ricerca in Italia, inaugurando un centro di ricerca nei pressi di Latina, per avviare programmi di ricerca finalizzati a soddisfare le esigenze del mercato locale e più in generale di quello del Mediterraneo. Dalla ricerca italiana della Petoseed, nacquero, infatti, i primi ibridi a tipologia allungata; tra questi 'Hypeel 244', divenuto commerciale nel 1980. Tale ibrido divenne dominatore del mercato perché soddisfaceva sia le esigenze dei produttori, superando in media i 1000 q.li/ha, sia quelle delle industrie di trasformazione, che finalmente avevano trovato un prodotto in grado di rispondere perfettamente alle loro esigenze, in termini di

forma, grandezza, uniformità e qualità delle bacche, adattandosi alla pelatura ed alle varie dimensioni dei barattoli da commercializzare (principalmente il ½ chilo, il chilo e i 3 chili).

I nuovi ibridi costituiti a Latina ('Docet', 'Eventus', 'Herdon') rivoluzionarono il panorama varietale dei pelati, per l'adattabilità alla raccolta meccanica, per la qualità e per la potenzialità produttiva. 'Docet', in particolare è stato l'ibrido più venduto negli ultimi quindici anni.

In questi ultimi anni altre aziende sementiere italiane hanno attivato programmi di *breeding* in pomodoro, come La Semiorto Sementi, l'ISI Sementi, la Esasem, la Farao, ottenendo risultati soddisfacenti. In particolare, la Semiorto Sementi, con sede a Sarno, si è interessata soprattutto del recupero e della valorizzazione degli ecotipi campani di pomodoro. L'ISI Sementi, con sede a Fidenza, ha ottenuto importanti risultati nelle tipologie lunghe da pelato, infatti alcuni degli ibridi costituiti ('Mariner', 'Novak', 'Performer') hanno avuto grande successo in Italia. La Farao, anch'essa con sede a Sarno, ha ottenuto buoni risultati sia nella costituzione di ibridi da pelato ('Red Magic') sia nella costituzione della tipologia "ciliegino" ('Rondo', 'Biliardino').

RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano per il loro contributo: Amalia Barone, Maria Raffaella Ercolano, Nunzio D'Agostino (Dipartimento di Agraria, Università degli Studi di Napoli Federico II); Stefania Grillo, Silvana Grandillo, Marina Tucci, Nunzia Scotti (Istituto di BioScienze e Biorisorse CNR); Giovanni Giuliano e Gianfranco Diretto (ENEA); Andrea Mazzuccato (Università degli Studi della Tuscia); Nazareno Acciarri e Pasquale Tripodi (CREA, Centro di ricerca per l'orticoltura ed il florovivaismo); Francesco Saccardo e Giampiero Soressi.

RIASSUNTO

La diffusione della coltivazione del pomodoro in Italia ha portato alla nascita delle prime aziende sementiere che avviarono i primi programmi di selezione. All'inizio del secolo scorso, gli obiettivi di questi programmi erano volti a identificare genotipi che garantissero maggiori rese per ettaro e migliore resa alla trasformazione. I metodi di miglioramento erano basati principalmente sulla selezione massale, e in qualche caso anche su una sorta di selezione per linea pura, sfruttando popolazioni segreganti, ottenute da incroci casuali. Il miglioramento genetico del pomodoro, sulla base del deliberato ampliamento della variabilità genetica attraverso incroci inter- e intra-specifici, cominciò solo all'inizio degli anni '50.

In Italia, nella seconda metà del XX secolo, i gruppi di ricerca pubblici impegnati nel miglioramento genetico del pomodoro erano fondamentalmente tre, uno afferiva al CNEN

(Comitato Nazionale per l'Energia Nucleare, ora ENEA) di Roma e due al MAF (Ministero dell'Agricoltura e Foreste), Istituto Sperimentale per l'Orticoltura (ora CREA): Pontecagnano e Monsampolo del Tronto. In seguito, anche l'Università degli Studi di Napoli Federico II e l'Università degli Studi della Tuscia, avviarono importanti programmi di ricerca sulla genetica e il miglioramento genetico del pomodoro, così come il CNEN, oggi ENEA.

La ricerca dei privati si deve soprattutto alla Petoseed Co.Inc. (oggi gruppo Bayer), una delle più importanti aziende sementiere americane dell'epoca, che investì in Italia, realizzando un centro di ricerca a Latina, ottenendo eccellenti risultati. Da quel centro di ricerca, infatti, nacquero, gli ibridi a tipologia allungata, che hanno rivoluzionato il panorama varietale dei pomodori destinati alla produzione di pelati.

In questi ultimi anni altre aziende sementiere italiane hanno attivato programmi di *breeding* in pomodoro ottenendo risultati egregi.

ABSTRACT

The spread of tomato cultivation in Italy led to the birth of the first seed companies that started the first selection programs. At the beginning of the last century, the objectives of these programs were aimed at identifying genotypes that would guarantee higher yields per hectare and better inclination for processing. The improvement methods were mainly based on mass selection, and in some cases also on a sort of pure line selection, exploiting segregant populations obtained from random crossings. The genetic improvement of the tomato, based on the deliberate widening of genetic variability through inter- and intra-specific crosses, only began in the early 1950s.

In Italy, in the second half of the twentieth century, the public research groups involved in the tomato genetic improvement were basically three, the CNEN (National Committee for Nuclear Energy, now ENEA) in Rome and two under the umbrella of the MAF (Ministry of Agriculture and Forests), Experimental Institute for Vegetable Crops (now CREA): Pontecagnano and Monsampolo del Tronto. Later, also the University of Naples Federico II and the University of Tuscia, started important research programs on genetics and breeding of tomato, as well as CNEN (at present ENEA).

The research carried out by private companies is mainly due to Petoseed Co. Inc. (now Bayer), one of the most important American seed companies of the time, which invested in Italy, creating a research centre in Latina, obtaining excellent results. That research centre, in fact, developed several elongated-type hybrids, which revolutionized the varietal panorama of tomatoes intended for the production of peeled tomatoes.

In recent years, other Italian seed companies have activated tomato breeding programs, obtaining excellent results.

BIBLIOGRAFIA CONSULTATA

ACCIARRI N., ROTINO G.L., TAMIETTI G., VALENTINO D., VOLTATTORNI S., AND SABATINI E. (2007): *Molecular markers for Ve1 and Ve2 Verticillium resistance genes from Italian tomato germplasm*, «Plant Breeding», 126, pp. 617-621.

- ACCIARRI N., SABATINI E., CIRIACI T., ROTINO G.L., VALENTINO D. AND TAMIETTI G. (2010): *The Presence of Genes for Resistance against Verticillium dahliae in Italian Tomato landraces*, «Europ. J. Hort. Sci.», 75 (1), S. 8-14, ISSN 1611-4426.
- ALIBERTI A., OLIVIERI F., GRACI S., RIGANO M.M., BARONE A., RUGGIERI V. (2020): *Genomic dissection of a wild region in a superior Solanum pennellii introgression sub-line with high ascorbic acid accumulation in tomato fruit*, «Genes», 11 (8), art. no. 847, pp. 1-18, doi: 10.3390/genes11080847.
- ALSEEKH S., OFNER I., PLEBAN T., TRIPODI P., DI DATO F., CAMMARERI M., MOHAMMAD A., GRANDILLO S., FERNIE A.R., ZAMIR D. (2013): *Resolution by recombination: breaking up Solanum pennellii introgressions*, «Trends in Plant Science», 8 (10), pp. 536-538.
- BALLESTER A.R., MOLTHOFF J., DE VOS R., HEKKERT B.L., ORZAEZ D., FERNÁNDEZ-MORENO J.P., TRIPODI P., GRANDILLO S., MARTIN C., HELDENS J., YKEMA M., GRANELL A., BOVY A. (2010): *Biochemical and molecular analysis of pink tomatoes: deregulated expression of the gene encoding transcription factor SlMYB12 leads to pink tomato fruit color*, «Plant Physiology», 152, pp. 71-84.
- BALLESTER A.R., TIKUNOV Y., MOLTHOFF J., GRANDILLO S., VÍQUEZ-ZAMORA M., DE VOS R., DE MAAGD R.A., VAN HEUSDEN S., BOVY A.G. (2016): *Identification of loci affecting accumulation of secondary metabolites in tomato fruit of a Solanum lycopersicum × Solanum chmielewskii introgression line population*, «Front Plant Sci», 7, 1428.
- BLANDO F., BERLAND H., MAIORANO G., DURANTE M., MAZZUCATO A., PICARELLA M.E., NICOLETTI I., GERARDI C., MITA G. AND ANDERSEN Ø.M. (2019): *Nutraceutical Characterization of Anthocyanin-Rich Fruits Produced by “Sun Black” Tomato Line*, «Front. Nutr.», 6, 133, doi: 10.3389/fnut.2019.00133.
- CALAFIORE R., ALIBERTI A., RUGGIERI V., OLIVIERI F., RIGANO M.M., BARONE A. (2019): *Phenotypic and molecular selection of a superior solanum pennellii introgression sub-line suitable for improving quality traits of cultivated tomatoes*, «Front. Plant. Sci.», 10, doi: 10.3389/fpls.2019.00190.
- CALAFIORE R., RUGGIERI V., RAIOLA A., RIGANO M.M., SACCO A., HASSAN M.I., FRUSCIANTE L., BARONE A. (2016): *Exploiting genomics resources to identify candidate genes underlying antioxidants content in tomato fruit*, «Front. Plant. Sci.», 7, doi: 10.3389/fpls.2016.00397.
- CAPPETTA E., ANDOLFO G., DI MATTEO A., BARONE A., FRUSCIANTE L., ERCOLANO M.R. (2020): *Accelerating tomato breeding by exploiting genomic selection approaches*, «Plants», 9, art. no. 1236, pp. 1-14, doi: 10.3390/plants9091236.
- CAUSSE M., FRIGUET C., COIRET C., LÉPICIER M., NAVEZ B., LEE M., HOLTHUYSEN N., SINESIO F., MONETA E., GRANDILLO S. (2010): *Consumer Preferences for Fresh Tomato at the European scale: a common segmentation on taste and firmness*, «Journal of Food Science», 75 (9), S531-S541.
- D'AGOSTINO N., AVERSANO M. & CHIUSANO M.L. (2005): *ParPEST: a pipeline for EST data analysis based on parallel computing*, «BMC Bioinformatics», 6, S9, <https://doi.org/10.1186/1471-2105-6-S4-S9>.
- D'AGOSTINO N., AVERSANO M., FRUSCIANTE L., CHIUSANO M.L. (2007): *TomatEST database: in silico exploitation of EST data to explore expression patterns in tomato species*, «Nucleic Acids Research», vol. 35, Issue suppl_1: D901-D905, <https://doi.org/10.1093/nar/gkl921>.
- D'AGOSTINO N., TRAINI A., FRUSCIANTE L. ET AL. (2007): *Gene models from ESTs (GeneModelEST): an application on the Solanum lycopersicum genome*, «BMC Bioinformatics», 8, S9, <https://doi.org/10.1186/1471-2105-8-S1-S9>.

- D'ESPOSITO D., FERRIELLO F., MOLIN A.D. ET AL. (2017): *Unraveling the complexity of transcriptomic, metabolomic and quality environmental response of tomato fruit*, «BMC Plant Biol», 17, 66, <<https://doi.org/10.1186/s12870-017-1008-4>>.
- DE PALMA M., D'AGOSTINO N., PROIETTI S., BERTINI L., LORITO M., RUOCCO M., CARUSO C., CHIUSANO M.L., TUCCI M. (2016): *Suppression Subtractive Hybridization analysis provides new insights into the tomato (Solanum lycopersicum L.) response to the plant probiotic microorganism Trichoderma longibrachiatum MK1*, «J Plant Physiol», 190, pp. 79-94, doi:10.1016/j.jplph.2015.11.005.
- DE PALMA M., SALZANO M., VILLANO C., AVERSANO R., LORITO M., RUOCCO M., DO-CIMO T., PICCINELLI A.L., D'AGOSTINO N., TUCCI M. (2019): *Transcriptome reprogramming, epigenetic modifications and alternative splicing orchestrate the tomato root response to the beneficial fungus Trichoderma harzianum*, «Hort Res», 6 (1), pp. 1-15, doi:10.1038/s41438-018-0079-1.
- ERCOLANO M.R., SACCO A., FERRIELLO F. ET AL. (2014): *Patchwork sequencing of tomato San Marzano and Vesuviano varieties highlights genome-wide variations*, «BMC Genomics», 15, 138, <<https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-138>>.
- ESPOSITO S., CARDI T., CAMPANELLI G., SESTILI S., DÍEZ M.J., SOLER S., PROHENS J., TRIPODI P. (2020): *ddRAD sequencing-based genotyping for population structure analysis in cultivated tomato provides new insights into the genomic diversity of Mediterranean 'da serbo' type long shelf-life germplasm*, «Horticulture Research», <<https://doi.org/10.1038/s41438-020-00353-6>>.
- GIORNO F., WOLTERS-ARTS M., GRILLO S., SCHARF D., VRIEZEN W.H., MARIANI C. (2010): *Developmental and heat stress-regulated expression of HsfA2 and small heat shock proteins in tomato anthers*, «J Exp Bot», 61 (2), pp. 453-462.
- GIULIANO G., BARTLEY G.E., SCOLNIK P.A. (1993): *Regulation of carotenoid biosynthesis during tomato development*, «The Plant Cell», Apr, 5 (4) 379-387, doi: 10.1105/tpc.5.4.379.
- GONZALI S., MAZZUCATO A., PERATA P. (2009): *Purple as a tomato: towards high anthocyanin tomatoes*, «Trends in Plant Science», vol. 14, Issue 5, pp. 237-241, <<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.02.001>>.
- GRANDILLO S., HSIN-MEI KU., TANKSLEY S.D. (1996): *Characterization of fs8.1, a major QTL influencing fruit shape in tomato*, «Molecular Breeding», 2, pp. 251-260.
- GRANDILLO S., TANKSLEY S.D. (1996a): *QTL Analysis of horticultural traits differentiating the cultivated tomato from the closely related species Lycopersicon pimpinellifolium*, «Theoretical and Applied Genetics», 92, pp. 935-951.
- GRANDILLO S., TANKSLEY S.D. (1996b): *Genetic analysis of RFLPs, GATA microsatellites and RAPDs in a cross between L. esculentum and L. pimpinellifolium*, «Theoretical and Applied Genetics», 92, pp. 957-965.
- IOVIENO P., PUNZO P., GUIDA G., MISTRETTA C., VAN OOSTEN M.J., NURCATO R., BOSTAN H., COLANTUONO C., COSTA A., BAGNARESI P., CHIUSANO M.L., ALBRIZIO R., GIORIO P., BATELLI G., GRILLO S. (2016): *Transcriptomic changes drive physiological responses to progressive drought stress and rehydration in tomato*, «Frontiers in Plant Science», 7 (987): R106, doi: 10.3389/fpls.2016.00371.
- LANDI S., NURCATO R., DE LILLO A., LENTINI M., GRILLO S., ESPOSITO S. (2016): *Glucose-6-phosphate dehydrogenase plays a central role in the response of tomato (Solanum lycopersicum) plants to short and long-term drought*, «Plant Physiology and Biochemistry», 105, pp. 79-89, doi: 10.1016/j.plaphy.2016.04.013.
- MAZZUCATO A., TADDEI A.R., SORESSI G.P. (1998): *The parthenocarpic fruit (pat) mutant*

- of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) sets seedless fruits and has aberrant anther and ovule development, «Development», 1 January, 125 (1), pp. 107-114, doi: <https://doi.org/10.1242>.
- PIOMBINO P., SINESIO F., MONETA E., CAMMARERI M., GENOVESE A., LISANTI M.T., MONGNO M.R., PEPARAILO M., TERMOLINO P., MOIO L., GRANDILLO S. (2013): *Investigating physicochemical, volatile and sensory parameters playing a positive or a negative role on tomato liking*, «Food Research International», 50 (1), pp. 409-419.
- RIGANO M.M., RAIOLA A., TENORE G.C., MONTI D.M., DEL GIUDICE R., FRUSCIANTE L., BARONE A. (2014): *Quantitative trait loci pyramiding can improve the nutritional potential of tomato (*Solanum lycopersicum*) fruits*, «J. Agric. Food Chem.», 62 (47), pp. 11519-11527, doi: 10.1021/jf502573n.
- ROSATI C., AQUILANI R., DHARMAPURI S., PALLARA P., MARUSIC C., TAVAZZA R., BOUVIER F., CAMARA B. AND GIULIANO G. (2000): *Metabolic engineering of beta-carotene and lycopene content in tomato fruit*, «The Plant Journal», 24, pp. 413-420, <https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.2000.00880.x>.
- RUGGIERI V., FRANCESE G., SACCO A., D'ALESSANDRO A., RIGANO M.M., PARISI M., MILONE M., CARDI T., MENNELLA G., BARONE A. (2014): *An association mapping approach to identify favourable alleles for tomato fruit quality breeding*, «BMC Plant Biol», 14, pp. 1-15.
- SABATINI E., ROTINO G.L., VOLTATTORNI S. AND ACCIARRI N. (2006): *A novel CAPS marker derived from the ovate gene in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) is useful to distinguish two Italian ecotypes and to recover "pear" shape in marker assisted selection*, «European Journal of Horticultural Science», 71 (5), S. 193-198, ISSN 1611-4426.
- SINESIO F., CAMMARERI M., MONETA E., NAVEZ B., PEPARAILO M., CAUSSE M., GRANDILLO S. (2010): *Sensory quality of fresh French and Dutch market tomatoes: a preference mapping study with Italian consumers*, «Journal of Food Science», 75 (1), S55-S67.
- SU L., DIRETTO G., PURGATTO E. ET AL. (2015): *Carotenoid accumulation during tomato fruit ripening is modulated by the auxin-ethylene balance*, «BMC Plant Biol», 15, 114, <https://doi.org/10.1186/s12870-015-0495-4>.
- TAMBURINO R., SANNINO L., CAFASSO D., CANTARELLA C., ORRÙ L., CARDI T., COZZOLINO S., D'AGOSTINO N., SCOTTI N. (2020): *Cultivated Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Suffered a Severe Cytoplasmic Bottleneck during Domestication: Implications from Chloroplast Genomes*, «Plants», Oct 26, 9 (11), 1443, doi: 10.3390/plants9111443.
- TAMBURINO R., VITALE M., RUGGIERO A., SASSI M., SANNINO L., ARENA S., COSTA A., BATELLI G., ZAMBRANO N., SCALONI A., GRILLO S., SCOTTI N. (2017): *Chloroplast proteome response to drought stress and recovery in tomato (*Solanum lycopersicum* L.)*, «BMC Plant Biol», Feb 10, 17 (1), 40, doi: 10.1186/s12870-017-0971-0.
- THE TOMATO GENOME CONSORTIUM (2012): *The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution*, «Nature», 485 (7400), pp. 635-641.
- TRANCHIDA-LOMBARDO V., AIESE CIGLIANO R., ANZAR I., LANDI S., PALOMBIERI S., COLANTUONO C., BOSTAN H., TERMOLINO P., AVERSANO R., BATELLI G., CAMMARERI M., CARPUTO D., CHIUSANO M.L., CONICELLA C., CONSIGLIO F., D'AGOSTINO N., DE PALMA M., DI MATTEO A., GRANDILLO S., SANSEVERINO W., TUCCI M., GRILLO S. (2018a): *Whole-genome re-sequencing of two Italian tomato landraces reveals sequence variations in genes associated with stress tolerance, fruit quality and long shelf-life traits*, «DNA Research», 25 (2), pp. 149-160, doi: 10.1093/dnares/dsx045.
- TRANCHIDA-LOMBARDO V., MERCATI F., AVINO M., PUNZO P., FIORE M.C., POMA I., PATANÈ C., GUARRACINO M.R., SUNSERI F., TUCCI M., GRILLO S. (2018b): *Genetic*

- diversity in a collection of Italian long storage tomato landraces as revealed by SNP markers array*, «Plant Biosyst», 153 (2), pp. 288-297. doi <<https://doi.org/10.1080/11263504.2018.1478900>>.
- TUCCI M., RUOCO M., DE MASI L., DE PALMA M., LORITO M. (2011): *The beneficial effect of Trichoderma spp. on tomato is modulated by the plant genotype*, «Mol Plant Pathol», 12 (4), pp. 341-354, doi: 10.1111/j.1364-3703.2010.00674.