

Sviluppo di piante per produrre alimenti biofortificati. Casi-studio

G. Mandolino

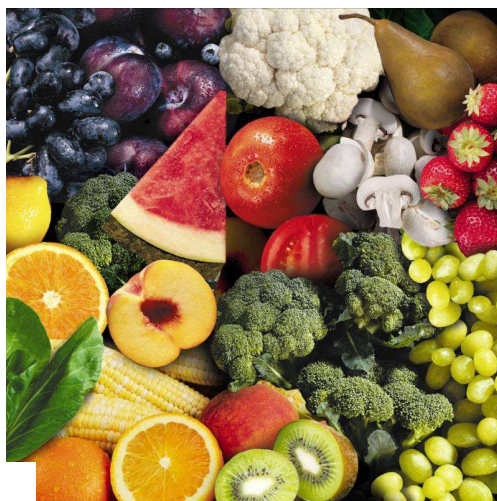
G. Reforgiato



G. Giuliano



Agenzia nazionale per le nuove tecnologie, l'energia
e lo sviluppo economico sostenibile



NUTRISOL

Italian-Israeli initiative for the nutritional
improvement
of Solanaceous crops



Miglioramento delle proprietà
igienico-sanitarie, salutistiche
e funzionali di commodity per
l'alimentazione dell'uomo e/o degli animali



MINISTERO DELLE POLITICHE
AGRICOLE ALIMENTARI
E FORESTALI

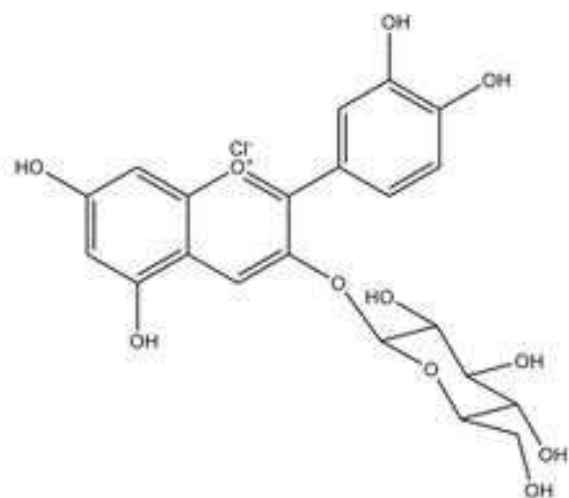


*Quali sono i geni responsabili della sintesi
dei metaboliti di ortaggi e frutta
dotati di effetti positivi per la salute?*

Qual è la struttura di tali geni?

*Quali sono i fattori che regolano la loro
espressione?*

Arancio





ANTOCIANINE

cianidina-3-glucoside

cianidina-3-(6"-malonil)-glucoside

delfinidina-3-glucoside

cianidina-3-soforoside

delfinidina-3-(6"-malonilglucoside)

peonidina-3-(6"-malonilglucoside)

cianidina-3-(6"-diossialilglucoside)

ORIGINAL ARTICLE

Blood orange juice inhibits fat accumulation in mice

L Titta^{1,2}, M Trinei³, M Stendardo¹, I Berniakovich¹, K Petroni⁴, C Tonelli⁴, P Riso², M Porrini², S Minucci^{1,4}, PG Pelicci^{1,4}, P Rapisarda⁵, G Reforgiato Recupero⁵ and M Giorgio¹

¹Department of Experimental Oncology, European Institute of Oncology (IEO), Milan, Italy; ²Department of Food Science and Microbiology (DISTAM), Division of Human Nutrition University of Milan, Milan, Italy; ³Congenia Srl, Milan, Italy; ⁴Department of Biomolecular Sciences and Biotechnology, University of Milan, Milan, Italy and ⁵Research Center for Citric culture and Mediterranean Crops (CRA-ACM), Acireale, Italy

Objective: To analyze the effect of the juice obtained from two varieties of sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck), *Moro* (a blood orange) and *Navelina* (a blond orange), on fat accumulation in mice fed a standard or a high-fat diet (HFD).

Methods: Obesity was induced in male C57/Bl6 mice by feeding a HFD. *Moro* and *Navelina* juices were provided instead of water. The effect of an anthocyanin-enriched extract from *Moro* oranges or purified cyanidin-3-glucoside (C3G) was also analyzed. Body weight and food intake were measured regularly over a 12-week period. The adipose pads were weighted and analyzed histologically; total RNA was also isolated for microarray analysis.

Results: Dietary supplementation of *Moro* juice, but not *Navelina* juice significantly reduced body weight gain and fat accumulation regardless of the increased energy intake because of sugar content. Furthermore, mice drinking *Moro* juice were resistant to HFD-induced obesity with no alterations in food intake. Only the anthocyanin extract, but not the purified C3G, slightly affected fat accumulation. High-throughput gene expression analysis of fat tissues confirmed that *Moro* juice could entirely rescue the high fat-induced transcriptional reprogramming.

Conclusion: *Moro* juice anti-obesity effect on fat accumulation cannot be explained only by its anthocyanin content. Our findings suggest that multiple components present in the *Moro* orange juice might act synergistically to inhibit fat accumulation. *International Journal of Obesity* (2010) 34, 578–588; doi:10.1038/ijo.2009.266; published online 22 December 2009

Keywords: blood orange; orange juice; fat accumulation; anti-obesity; anthocyanins; cyanidin-3-glucoside.



Le antocianine determinano particolari qualità attrattive del frutto per il loro colore rosso brillante, ma esercitano un ruolo ancora più importante per le loro proprietà farmacologiche e antiossidanti.

Contenuto di composti ad effetto benefico sulla salute e attività antiossidante nel germoplasma pigmentato e biondo

	Acido Ascorbico (mg/100mL)	Unità ORAC (μmoliTE/100m)	Polifenoli totali (mg/L)	Antocianine totali (mg/L)
Tarocco	61,4 A	1734,5 C	771,2 BC	16,7 C
Moro	46,2 BC	2839,0 B	817,8 BC	127,3 B
Sanguinello e Doppio Sanguigno	61,5 A	1973,3 C	912,0 B	18,9 C
Navel	51,7 B	1494,6 C	775,5 BC	-
Valencia	57,8 AB	1384,7 C	739,9 BC	-
Vaniglia	29,5 C	1117,8 C	564,8 C	-
Germoplasma pigmentato *	59,4 A	2033,9 A	823,0 a	44,8
Germoplasma biondo **	50,5 B	1428,3 B	744,1 b	-

Geni Strutturali

chs (calcone sintasi)

dfr (diidroflavonol 4-reduttasi)

ans (antocianidina sintasi)

ufgt (UDP-glucose:flavonoid 3-O-glucosiltransferasi)

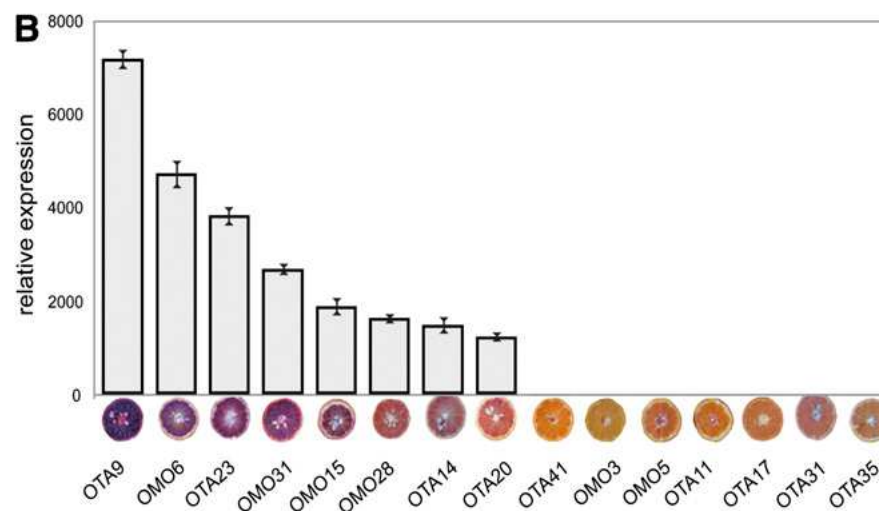
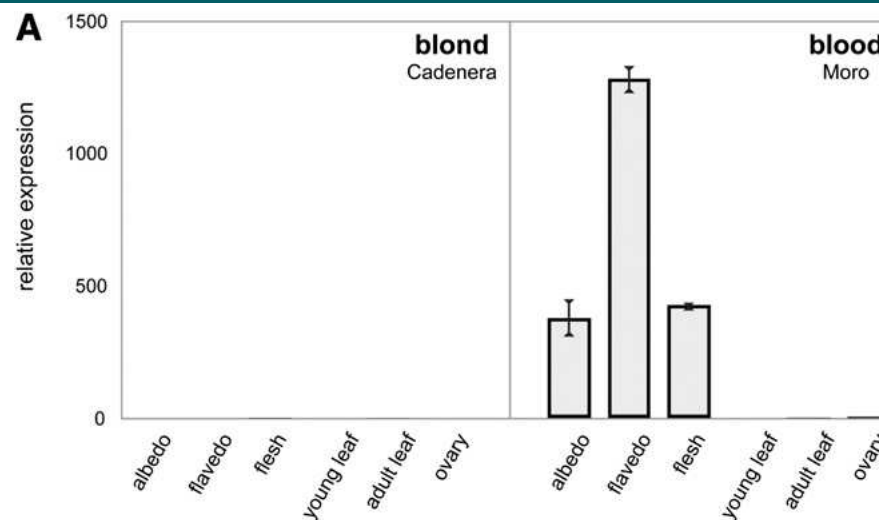
gst (glutathione S-transferasi).

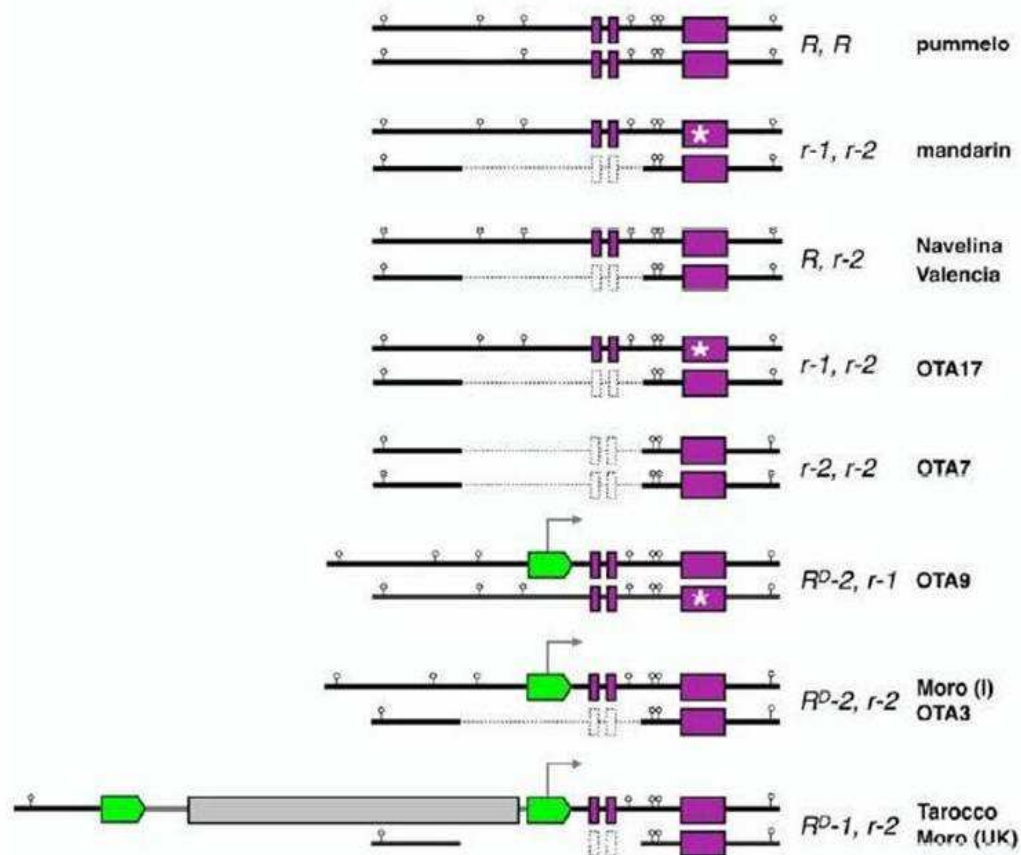


Geni Regolatori

combinazione di due diverse famiglie di fattori trascrizionali, *c-myb* e *bHLH*; l'interazione tra MYB e bHLH e il coinvolgimento di proteine regolatrici con dominio WD40 è il meccanismo attraverso cui si sviluppa la regolazione della biosintesi delle antocianine e delle proantocianidine

L'espressione del gene
regolatore *Ruby* determina
l'accumulo di antocianine nei
frutti

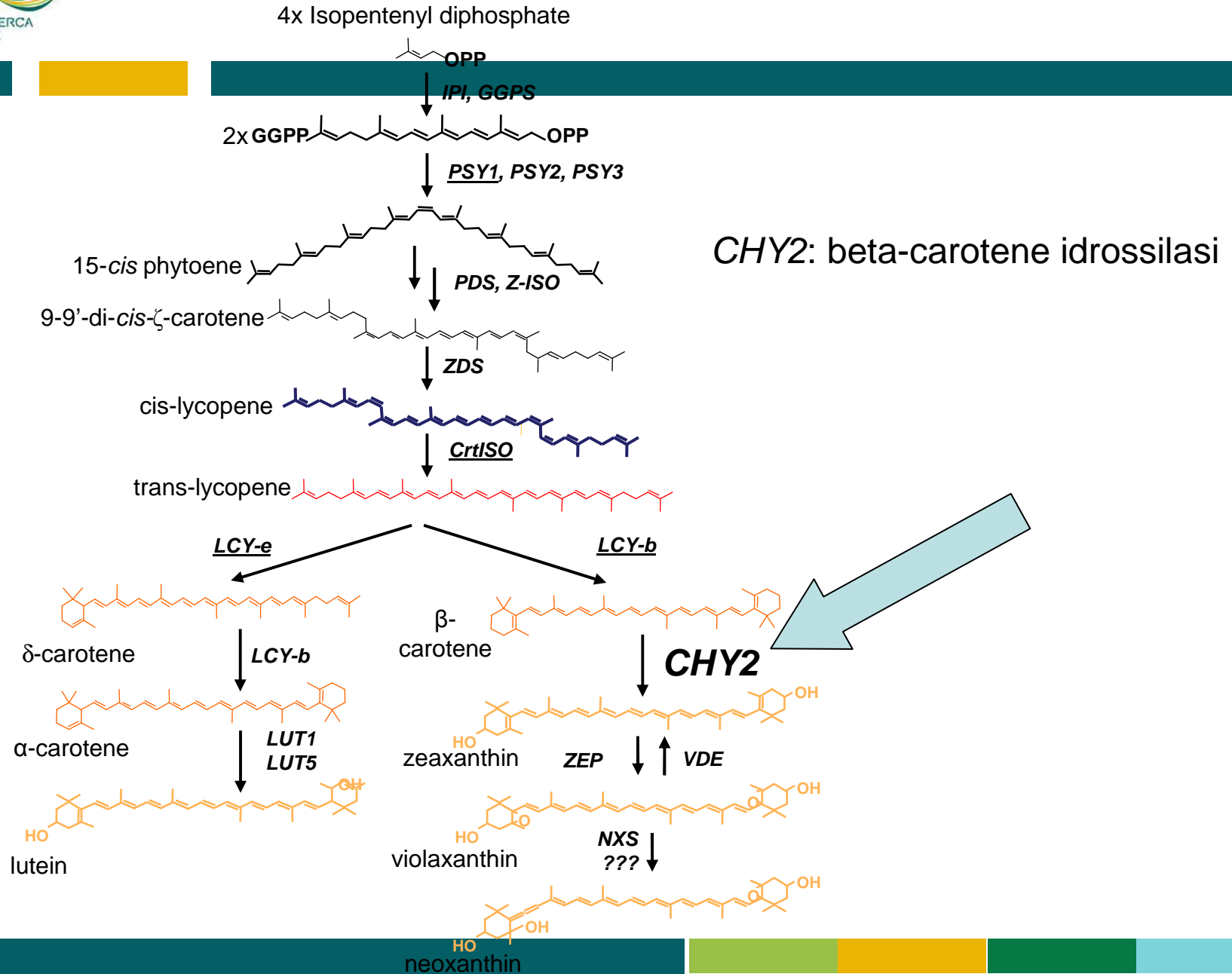


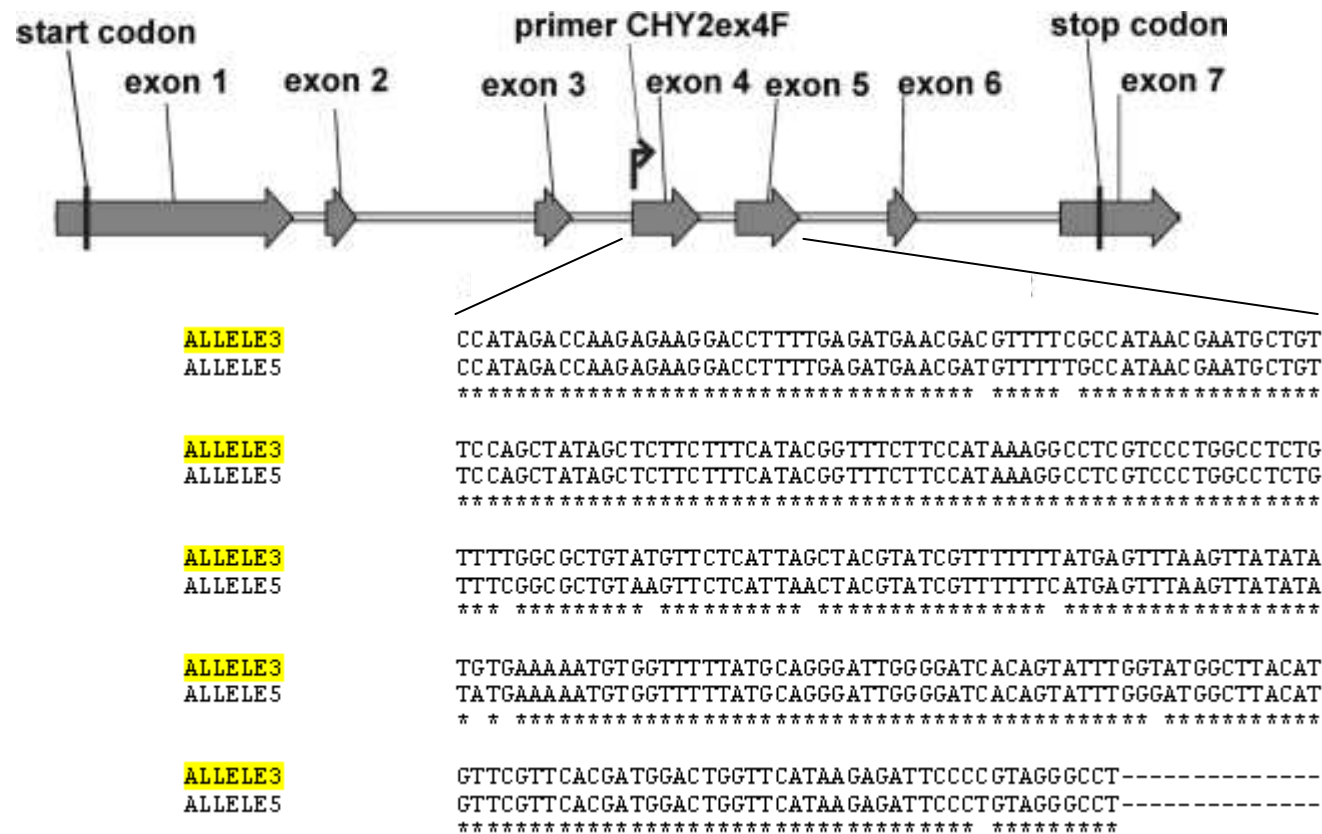


Variazioni alleliche del gene regolatore *Ruby* (in fucsia), del suo retrotrasposone (grigio) e delle LTR (verde) in differenti specie di agrumi, in varie accessioni di arancio e suoi ibridi

Genotipo	Specie	Ploidia	Contenuto di carotenoidi (µg/g DW)
Yema de Huevo	<i>S. phureja</i>	2 n	n.d.
Andean Sunrise	„	„	21.26 ± 1.84
Papa Pura	„	„	29.68 ± 2.21
ISCI 105/7-8	„	„	17.06 ± 1.29
Mayan Gold	„	„	35.25 ± 2.67
E60	<i>S. tuberosum</i>	4 n	16.24 ± 1.81
Fontane	„	„	15.50 ± 2.34
Laura	„	„	30.12 ± 1.98
ISCI 5/03-1	„	„	25.06 ± 1.52
Daifla	„	„	4.74 ± 0.36
<i>S. chacoense</i>	<i>S. chacoense</i>	2 n	1.74 ± 1.07

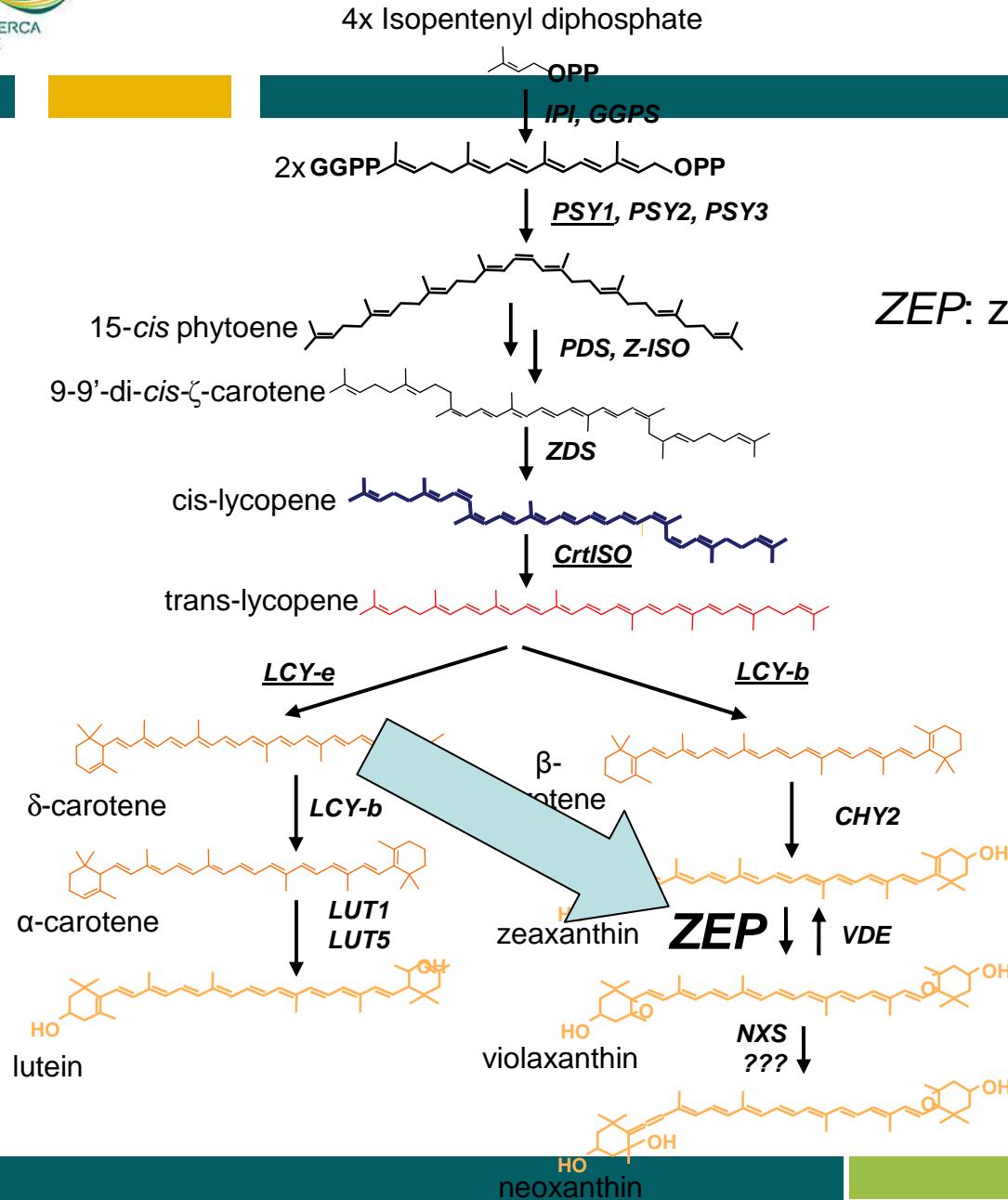






Allele 3, dominante → alto contenuto carotenoidi

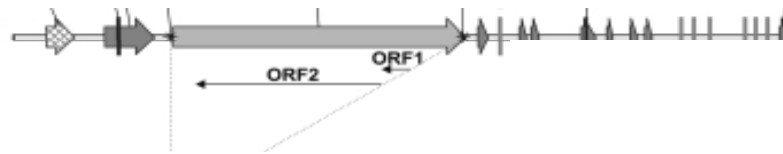
Allele 5, recessivo → basso contenuto carotenoidi



ZEP: zeaxantina epossidasi

Gli alleli al locus *ZEP*, che determinano l'accumulo o meno della zeaxantina

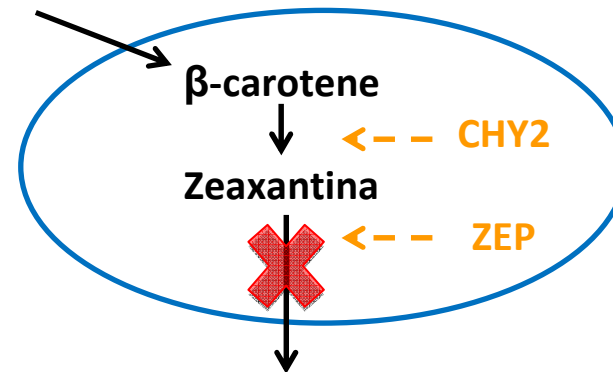
(A)



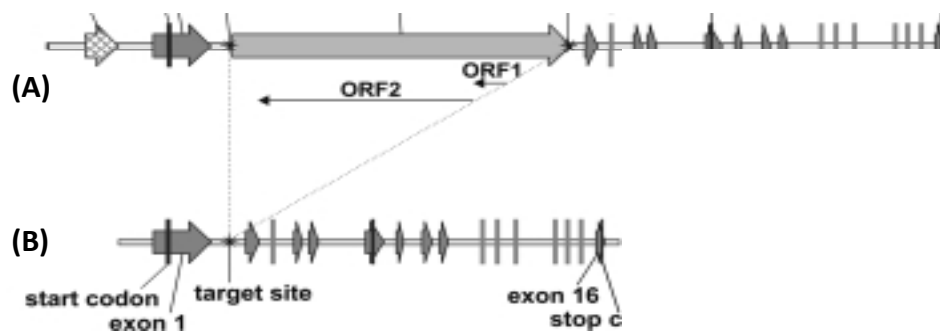
allele *zep 1*, recessivo

Caratterizzato da:

- trasposone di 4102 bp nel primo introne
- delezione di 49 bp nel 4° introne



Gli alleli al locus *ZEP*, che determinano l'accumulo o meno della zeaxantina



allele *zep 1*, recessivo

Caratterizzato da:

- trasposone di 4102 bp nel primo introne
- delezione di 49 bp nel 4° introne

tutti gli altri alleli *Zep* (dominanti)

Caratterizzati da:

- Assenza del trasposone nel primo introne
- Assenza della delezione nel 4° introne

Genotipo	Ploidia	Zeaxantina ($\mu\text{g/g DW}$)	% carotenoidi totali	Aplotipo <i>Chy2 : chy2</i>	Aplotipo <i>Zep : zep</i>
Yema de Huevo	2 n	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Andean Sunrise	„	18.23 + 1,62	85.8	1 : 1	0 : 2
Papa Pura	„	22.23 + 1,74	74.9	1 : 1	0 : 2
ISCI 105/7-8	„	13.02 + 0,83	76.3	1 : 1	0 : 2
Mayan Gold	„	3.45 + 0,18	9.9	1 : 1	1 : 1
E60	4 n	2.38 + 0,12	14.7	3 : 1	4 : 0
Fontane	„	1.52 + 0,23	9.8	2 : 2	4 : 0
Laura	„	1.77 + 0,06	5.9	2 : 2	4 : 0
ISCI 5/03-1	„	2.14 + 0,12	8.5	3 : 1	4 : 0
Daifla	„	0.18 + 0,02	3.8	0 : 4	4 : 0
<i>S. chacoense</i>	2 n	0	0	0 : 2	2 : 0

CRA-ACM

Acireale

Reforgiato Recupero G.

Recupero S.

Russo G.

Licciardello C.

Russo M.P.

Pietro Paolo D.

Rapisarda P.

Fabroni S.

Amenta M.

Rizza G.

Rizzo V.

ENEA Centro

La Casaccia

Roma

Giuliano G.

Diretto G.

Sulli M.

CRA-CIN

Bologna

Mandolino G.

Sturaro M.

Parisi B.

Onofri C.

Pacifico D.

Gruppi di Lavoro

GRAZIE PER L'ATTENZIONE...