

Leggere il genoma di *Tuber*: un filo rosso tra scienza e cibo

Fabiano Sillo*¹, Elisa Zampieri*¹, Antonietta Mello², Raffaella Balestrini², Paola Bonfante^{1,2}

¹Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi, Università di Torino

²Istituto per la Protezione delle Piante del CNR, UOS Torino

* Hanno contribuito egualmente come primi autori.

Il sequenziamento del genoma dei funghi simbiotici è una chiave di svolta per capire la biologia di organismi che stanno acquisendo una crescente importanza come biofertilizzatori e bioprotettori naturali. Decifrare un genoma, presupposto essenziale per lo sfruttamento delle informazioni in esso contenute, non è un compito facile. In un progetto di sequenziamento genomico, oltre alla fase di sequenziamento del DNA e la conseguente annotazione genica (fase essenzialmente bioinformatica), esperimenti mirati sono necessari per arrivare alla caratterizzazione e alla ricerca della funzione biologica delle sequenze di DNA trovate nel genoma. L'integrazione di approcci funzionali, molecolari e cellulari, in una fase di post-genomica, è infatti indispensabile per comprendere più a fondo il ruolo dei geni e delle proteine.

I primi risultati relativi a progetti di sequenziamento su funghi micorrizici sono stati ottenuti su funghi ectomicorrizici e pubblicati nel 2008 e nel 2010 su *Nature*, rispettivamente per *Laccaria bicolor*, che è un Basidiomicete (Martin et al., 2008), e per il tartufo nero pregiato *Tuber melanosporum*, che appartiene agli Ascomiceti (Martin et al., 2010).

I tartufi: importanza gastronomica, economica e scientifica

I tartufi sono funghi ascomiceti ectomicorrizici che grazie alla simbiosi con piante ospiti, quali pioppo, quercia, tiglio, carpino, nocciolo e arbusti appartenenti al genere *Cistus*, producono corpi fruttiferi ipogei di elevato valore commerciale (i tartufi), apprezzati e ricercati nei mercati di tutto il mondo come specialità gastronomiche. Il loro gusto e il penetrante profumo, dovuti alla presenza di un centinaio di diverse sostanze volatili (Giacchini et al., 2005; Splivallo et al., 2011), hanno determinato un successo duraturo per questo prodotto naturale nel corso della storia. Apprezzato sin dagli antichi Greci e Romani per il suo aroma, oggetto di studi accurati fin dal 1564 (*Opusculum de tuberibus*

di Alfonso Ciccarelli), più recentemente al genere *Tuber* è stata dedicata una nuova monografia (Ceruti et al., 2003), che rappresenta un'attenta revisione storica delle specie europee di *Tuber*. Nonostante il termine tartufo nell'uso comune possa indicare numerose specie fungine, accomunate dall'habitat ipogeo (Trappe, 1975), i tartufi propriamente detti appartengono al genere *Tuber*, che fa parte dell'ordine Pezizales (O'Donnell et al., 1997; Percudani et al., 1999). L'importanza economica internazionale dei tartufi, testimoniata anche dal recente interessamento e dagli ingenti investimenti in ambito tartuficolo di paesi quali l'Australia, gli Stati Uniti e la Nuova Zelanda, è in costante crescita. L'Italia rappresenta, assieme alla Francia, e più recentemente anche alla Spagna, una delle aree geografiche più importanti, riconosciuta a livello mondiale, per la produzione e la commercializzazione dei tartufi. Nel nostro paese vengono commercializzati ufficialmente ogni anno circa 200 quintali di tartufi che vengono per la maggior parte esportati negli Stati Uniti, in Giappone, Germania, e Svizzera (Pampanini et al., 2012). Mentre la Francia è il principale produttore ed esportatore del tartufo nero del Perigord (*T. melanosporum* Vittad.), in Italia viene maggiormente raccolto e commercializzato il tartufo bianco pregiato (*T. magnatum* Pico), che ha un elevatissimo valore commerciale.

Oltre ad essere oggetto di interesse da un punto di vista gastronomico e commerciale, i tartufi rivestono un non secondario ruolo ecologico, data la loro natura di funghi simbiotici. Questi funghi sono infatti tra i pochi Ascomycota in grado di formare simbiosi di tipo ectomicorrizico: nella simbiosi micorrizica la pianta ospite fornisce al fungo zuccheri, mentre il fungo rilascia alla pianta preziosi elementi minerali, tra cui fosforo ed azoto. Proprio per la loro importanza ecologica ed economica sono stati definiti un "hot spot" della biodiversità fungina (Bohannon, 2009). Lo studio del tartufo risulta quindi essere all'incrocio di più settori di interesse: la crescente attenzione per i funghi simbiotici da parte di ecologi, ambientalisti, biologi e genetisti italiani e stranieri si aggiunge alle richieste di mercato, sempre crescenti e superiori all'offerta, per questo prodotto, che rappresenta un vero "cult-food" sia come prodotto fresco che come ingrediente di diversi prodotti alimentari (pasta, oli, burri) (Mello et al., 2006).

Negli ultimi 15 anni l'avvento della biologia molecolare ha dato grande impulso agli studi su *Tuber*. Le attuali tecnologie - basate sullo studio del DNA dei tartufi - hanno permesso l'ottenimento di validi strumenti per la loro corretta identificazione e hanno fornito spiegazioni interessanti a problemi di genetica di popolazione, generando informazioni sulla loro distribuzione geografica e variabilità genetica (Mello et al., 2006), sul loro riconoscimento in matrici complesse (Rizzello et al., 2012; Zampieri et al.,

2012), oltre che sull'impatto che essi hanno sui microbiomi del suolo (Napoli et al., 2010). Inoltre lo sviluppo di tecniche di genomica funzionale ha consentito in questi anni di costruire strumenti molecolari, quali librerie genomiche e di cDNA, che hanno permesso l'identificazione e la caratterizzazione di alcuni geni coinvolti nella formazione dei tartufi e delle micorrize (Balestrini et al., 2000; Miozzi et al., 2005), oltre che di ottenere le prime informazioni circa le basi molecolari che controllano la transizione del micelio in corpo fruttifero (Lacourt et al., 2002; Gabella et al., 2005).

Il genoma del tartufo nero pregiato e le attività di post-genomica

Il genoma del tartufo nero del Périgord (*T. melanosporum*) è stato reso pubblico nel 2010, come frutto di un consorzio Italo-Francese, che in Italia ha visto coinvolti ricercatori del Consiglio Nazionale delle Ricerche di Torino e Perugia e delle Università di Parma, Torino, Bologna, L'Aquila, Roma e Urbino (Martin et al., 2010). Con una dimensione pari a 125 Mb, il genoma del tartufo nero è uno dei più grandi e complessi tra quelli dei funghi fino ad oggi sequenziati. Sequenze ripetute riconducibili a elementi genetici mobili (trasposoni), che costituiscono il 58% dell'intero genoma, sono responsabili di questa grande quantità di DNA che, insieme a un ridotto numero di geni (circa 7500) e di famiglie multigeniche fanno del *T. melanosporum* un fungo dai tratti unici. Circa 6000 di questi geni trovano corrispondenza con quelli di altri funghi, mentre diverse centinaia di geni unici del tartufo potrebbero svolgere un ruolo importante nel controllo degli eventi morfogenetici che portano alla formazione del corpo fruttifero e allo sviluppo dell'interazione simbiotica con la pianta ospite. Sono stati inoltre identificati i geni coinvolti nella formazione dei composti volatili che conferiscono al tartufo il suo caratteristico aroma (Martin et al., 2010; Splivallo et al., 2011).

Partendo dai dati ottenuti nell'ambito del progetto di sequenziamento del genoma del tartufo nero *T. melanosporum* (Martin et al., 2010), sono stati sviluppati diversi lavori allo scopo di caratterizzare in modo più approfondito categorie specifiche di geni e/o particolari processi metabolici che avvengono durante le diverse fasi del ciclo vitale. In questo contesto di analisi post-genomiche (Fig. 1), sono stati descritti i cambiamenti nell'espressione genica durante la crescita ifale (Amicucci et al., 2011) oltre che i geni coinvolti nella omeostasi in presenza di metalli (Bolchi et al., 2011) e nel metabolismo dei carboidrati (Ceccaroli et al., 2011), suggerendo un loro possibile ruolo nella formazione dei corpi fruttiferi e nello sviluppo della simbiosi. Ad esempio, la presenza di un gene codificante per un'invertasi acida suggerisce che *T. melanosporum* sia in grado di idrolizzare saccarosio, a differenza di altri funghi ectomicorrizici come *L. bicolor*

(Martin et al., 2010; Ceccaroli et al., 2011). Recentemente è stato verificato un accumulo di trascritti corrispondenti a questo gene nel reticolo di Hartig (che rappresenta l'interfaccia con la pianta ospite), supportando l'idea che *T. melanosporum* sia in grado di utilizzare il saccarosio derivato dalla pianta (Hacquard et al., 2013). Inoltre, attraverso un approccio bioinformatico combinato con un'analisi funzionale in lievito, è stato ottenuto un catalogo dei fattori trascrizionali (TF) di *T. melanosporum*, alcuni dei quali mostrano un'evidente sovra-regolazione nella fase simbiotica, suggerendo un loro ruolo nello sviluppo e nel funzionamento della simbiosi (Montanini et al., 2011).

Grazie agli studi precedenti effettuati su altre specie di tartufi e altri funghi ECM (Martin et al., 1999), il nostro gruppo di ricerca si è focalizzato su alcune categorie di geni, in particolare quelli correlati alla parete cellulare e quelli coinvolti nei meccanismi che ne controllano la sintesi (Balestrini et al., 2012; Sillo et al., 2013) e alle risposte agli stress ambientali (Zampieri et al., 2011). La parete fungina rappresenta la zona di interfaccia con l'ambiente, e può variare la sua composizione e/o la sua struttura durante la crescita ifale. Inoltre, le proteine ad essa correlate vengono coinvolte nel suo rimodellamento durante gli eventi morfogenetici che portano alla formazione dei corpi fruttiferi e/o delle ectomicorrize, ma anche in risposta a stimoli ambientali. Conoscere i geni correlati alla parete cellulare, e i meccanismi che ne controllano la sintesi, è dunque prioritario per capire i processi di crescita e i meccanismi di interazione cellula-cellula durante la fase simbiotica o durante la formazione del corpo fruttifero. Tra i geni coinvolti nella sintesi/modificazione dei diversi componenti della parete cellulare identificati nel genoma di *T. melanosporum*, vi sono i geni deputati alla sintesi e alla degradazione della chitina e dei β -1,3-glucani (i principali componenti della parete fungina) oltre che quelli codificanti per proteine secrete, tra cui alcune idrofobine putative, e una fosfolipasi A2. *TmePLA2*, omologo ad un gene già caratterizzato in *T. borchii* (Soragni et al., 2001), è risultato essere uno dei geni maggiormente sovra-regolati nelle ectomicorrize, confermando i dati di espressione precedentemente ottenuti in *T. borchii* (Miozzi et al., 2005). Le analisi trascrittomiche (microarray, RNAseq, qRT-PCR), che hanno accompagnato il progetto di sequenziamento, hanno inoltre evidenziato una sovra-regolazione di diversi geni codificanti enzimi correlati al metabolismo della parete (e.g., chitinasi e glucanasi) sia nella fase simbiotica che negli ascocarpi (Martin et al., 2010; Balestrini et al., 2012; Sillo et al., 2013), suggerendo un ruolo nel rimodellamento della parete durante il passaggio da una fase ad un'altra del ciclo vitale. Tuttavia, le ectomicorrize, come i corpi fruttiferi, sono organi complessi in cui

sono presenti diversi tessuti. Nel corpo fruttifero ad esempio sono presenti ife vegetative, ma anche aschi contenenti le ascospore (che rappresentano la struttura riproduttiva). Grazie ad un approccio di MicroDissezione Laser (LMD), è stato possibile ottenere popolazioni omogenee di questi due diversi compartimenti e analizzare l'espressione genica (attraverso esperimenti di qRT-PCR) di una famiglia di enzimi coinvolti nel metabolismo dei β -1,3-glucani. I risultati hanno permesso di verificare un'espressione differenziale per i diversi geni nei due compartimenti separati, suggerendo un loro diverso ruolo (Sillo et al., 2013). Una specificità dei due compartimenti era già emersa in *T. borchii* per due diversi geni codificanti chitinsintasi, attraverso esperimenti di ibridazione *in situ* (Balestrini et al., 2000). Anche l'ectomicorriza è un organo complesso, formato non solo da due diversi individui (pianta/fungo), ma anche da due diversi pseudotessuti fungini, facilmente distinguibili al microscopio: il mantello che si sviluppa all'esterno della radice e il reticolo di Hartig che si forma tra le cellule epidermiche e corticali della radice e che è tradizionalmente considerato il sito dove avvengono gli scambi nutrizionali tra i due simbionti. Recentemente è stato possibile separare, attraverso un approccio di LMD, i due compartimenti fungini e verificare quali siano le differenze nel loro profilo trascrittomico attraverso un approccio microarray. E' stata così evidenziata un'espressione differenziale per diversi geni, e tra questi molti trasportatori (Hacquard et al., 2013). Traendo vantaggio dalla disponibilità del genoma di *T. melanosporum* e dalla piattaforma di cDNA array sviluppata nell'ambito del progetto di sequenziamento, è stato anche valutato se il fungo potesse percepire un cambiamento di temperatura (da 25°C a 4°C) e se questo potesse influire sulla produzione dei pregiati corpi fruttiferi. Attraverso un'indagine bioinformatica è stato verificato come nel suo genoma siano presenti le stesse famiglie geniche correlate alla risposta a stress ambientali già descritte in funghi modello, mentre le analisi trascrittomiche hanno permesso di identificare proprio i geni che vengono espressi in modo differenziale nel passaggio dalla temperatura di crescita di 25°C ai 4°C. Tra i geni regolati sono stati individuati quelli codificanti per proteine "heat shock", ma anche un gene codificante per una deidrina (*TmeIDHN1*), che è una proteina con funzione protettiva in condizioni di disidratazione. Risultano essere regolati anche geni correlati alla parete cellulare e al metabolismo lipidico, suggerendo un rimodellamento a livello cellulare. E' stato dunque possibile dimostrare come un periodo di freddo influenzi l'espressione genica globale in *Tuber*, suggerendo un adattamento alle basse temperature. Confrontando i dati trascrittomici di questo lavoro con quelli ottenuti sul corpo fruttifero (Martin et al., 2010),

si può ipotizzare che questo fungo possa percepire segnali ambientali che, in qualche modo, regolano la fruttificazione (Zampieri et al., 2011). Ad esempio, *Tme1DHN1* risulta essere sovra-regolato anche nei corpi fruttiferi, in accordo con i dati ottenuti in passato per il gene omologo di *T. borchii* (Lacourt et al., 2002; Abbà et al., 2006).

In conclusione i dati di post-genomica, ottenuti dopo il 2010, da una parte offrono spiegazioni a numerosi eventi legati alla crescita e allo sviluppo di *T. melanosporum*, ma dall'altra parte offrono una eccellente conferma alle informazioni già disponibili per *T. borchii* nonostante che queste due specie di *Tuber* non siano filogeneticamente vicine (Jeandroz et al., 2008).

La genomica comparativa: confrontare per capire

Il numero sempre più alto dei genomi fungini sequenziati sta fornendo la possibilità di confrontare funghi diversi per appartenenza filogenetica, morfologia, stile di vita e potenziale metabolico (Hertz-Fowler e Pain, 2007), offrendo la grande opportunità di capire come l'evoluzione abbia giocato un ruolo cruciale nell'adattamento ai diversi stili di vita fungini (Pain e Hertz-Fowler, 2008). Da un primo confronto tra i genomi di *L. bicolor* e di *T. melanosporum* si è potuto evidenziare che i due funghi sembrano dialogare con la pianta ospite in modo differente, suggerendo che la simbiosi micorrizica possa avere seguito strade abbastanza diverse nel corso dell'evoluzione (Martin et al., 2010). Sebbene siano state evidenziate alcune caratteristiche comuni, come il fatto che entrambi i funghi mancano di un grosso repertorio di enzimi che degradano la parete cellulare della pianta, sono state riscontrate anche grandi differenze ad esempio nei geni regolati durante la simbiosi (e.g., la secrezione di piccole proteine, le MiSSP, presenti solo in *Laccaria*). Per capire se le differenze tra queste due specie siano dovute alla loro appartenenza filogenetica (Ascomycota vs Basidiomycota), sono in corso, soprattutto grazie ad un grosso sforzo del *DOE Joint Genome Institute (US Department of Energy, Office of Science)*, numerosi progetti di sequenziamento genomico su funghi micorrizici appartenenti a diversi gruppi filogenetici e a diverse nicchie ecologiche (ecto- e endomicorrizici) (http://genome.jgi.doe.gov/programs/fungi/GE_Fungi.jsf#symbiosis).

Tuttavia, per capire se alcune peculiarità ritrovate in *T. melanosporum* siano tipiche della specie o appartengono al genere, sono necessari dati originati dal sequenziamento genomico di altre specie di *Tuber*. A tal fine, è stato lanciato nel 2010 un progetto di sequenziamento del genoma di *T. magnatum*, il tartufo bianco pregiato. Mentre il sequenziamento del genoma è ancora in corso, a causa della complessità dello stesso dovuta alla ricchezza in elementi trasponibili, è stato possibile ottenere un profilo delle

sequenze espresse nel corpo fruttifero, che rappresenta l'unica fase disponibile in quantità sufficiente per ottenere il cDNA necessario per il sequenziamento (pirosequenziamento). I dati così ottenuti ci permettono di fornire, per la prima volta, un catalogo dei geni espressi nel tartufo e di effettuare un primo confronto con il genoma/trascrittoma di *T. melanosporum*. Per avere informazioni su quali di questi geni siano specificatamente espressi nel corpo fruttifero, si è provato ad ottenere quantità sufficiente di materiale da ectomicorrize prodotte in vaso da vivaisti specializzati, ma la percentuale di apici micorrizzati da *T. magnatum* è risultata essere altamente variabile da pianta a pianta, sebbene sempre molto bassa (in accordo con Mello et al., 2001; Murat et al., 2005 e Bertini et al., 2006), oltre al fatto che non è rara la presenza di altre specie ectomicorriziche sulle stesse piante (dati non pubblicati). L'impossibilità di ottenere, una quantità sufficiente di ectomicorrize, così come di micelio cresciuto in coltura pura, non permette al momento di condurre esperimenti di trascrittomica in queste fasi, limitando le informazioni che si possono ottenere sulla biologia di questa specie pregiata.

Conclusioni

Grazie agli studi di post-genomica applicati al tartufo nero è stato possibile caratterizzare più a fondo alcune vie metaboliche e i geni in esse coinvolti, permettendo di ottenere informazioni più approfondite sul coinvolgimento di geni specifici durante le tre fasi del ciclo vitale (micelio, corpo fruttifero, ectomicorrizza). Inoltre, l'avanzamento nelle tecnologie di sequenziamento ha portato ad un rapido aumento del numero dei genomi fungini sequenziati, offrendo l'opportunità di confrontare diverse strategie nutrizionali e nicchie ecologiche.

Ringraziamenti

Parte della ricerca è stata finanziata dal MIUR (PRIN2007), dalla Regione Piemonte e dal CNR (Premio 2009 DAA). Il sequenziamento del genoma di *T. melanosporum* è stato effettuato grazie all'impegno della *Genoscope-CEA* e del *Tuber Genome Consortium*.

Legenda

Figura 1. Schema delle attività svolte a partire dal progetto di sequenziamento del genoma di *T. melanosporum*.

Bibliografia

ABBA' S., GHIGNONE S., BONFANTE P. (2006): *A dehydration-inducible gene in the truffle Tuber borchii identifies a novel group of dehydrins*, «BMC Genomics», 7, pp. 39.

AMICUCCI A., BALESTRINI R., KOHLER A., BARBIERI E., SALTARELLI R., FACCIO A., ROBERSON R.W., BONFANTE P., STOCCHI V. (2011): *Hyphal and cytoskeleton polarization in Tuber melanosporum: a genomic and cellular analysis*, «Fungal Genetics and Biology», 48, pp. 561-572.

BALESTRINI R., MAINIERI D., SORAGNI E., GARNERO L., ROLLINO S., VIOTTI A., OTTONELLO S., BONFANTE P. (2000): *Differential expression of chitin synthase III and IV mRNAs in ascomata of Tuber borchii Vittad*, «Fungal Genetics and Biology», 31, pp. 219-232.

BALESTRINI R., SILLO F., KOHLER A., SCHNEIDER G., FACCIO A., TISSERANT E., MARTIN F., BONFANTE P. (2012): *Genome-wide analysis of cell wall-related genes in Tuber melanosporum*, «Current Genetics», 58, pp. 165-77.

BERTINI L., ROSSI I., ZAMBONELLI A., AMICUCCI A., SACCHI A., CECCHINI M., GREGORI G., STOCCHI V. (2006): *Molecular identification of Tuber magnatum ectomycorrhizas in the field*, «Microbiology Research», 161, pp. 59-64.

BOHANNON J. (2009): *Rooting around the truffle genome*, «Science», 323, pp. 1006-1007.

BOLCHI A., RUOTOLO R., MARCHINI G., VURRO E., SANITA DI TOPPI L., KOHLER A., TISSERANT E., MARTIN F., OTTONELLO S. (2011): *Genome-wide inventory of metal homeostasis-related gene products including a functional phytochelatin synthase in the hypogeous mycorrhizal fungus Tuber melanosporum*, «Fungal Genetics and Biology», 48, pp. 573-84.

CECCAROLI P., BUFFALINI M., SALTARELLI R., BARBIERI E., POLIDORI E., OTTONELLO S., KOHLER A., TISSERANT E., MARTIN F., STOCCHI V. (2011): *Genomic profiling of carbohydrate metabolism in the ectomycorrhizal fungus Tuber melanosporum*, «New Phytologist», 189, pp. 751-764.

CERUTI A., FONTANA A., NOSENZO C. (2003): *Le specie europee del genere Tuber: una revisione storica*, a cura di Regione Piemonte, Museo Regionale di Scienze Naturali, Torino, p. 467.

GABELLA S., ABBA S., DUPLESSIS S., MONTANINI B., MARTIN F., BONFANTE P. (2005): *Transcript profiling reveals novel marker genes involved in fruiting body formation in Tuber borchii*, «Eukaryotic Cell», 4, pp. 1599-1602.

GIOACCHINI A.M., MENOTTA M., BERTINI L., ROSSI I., ZEPPA S., ZAMBONELLI A., PICCOLI G., STOCCHI V. (2005): *Solid-phase microextraction gas chromatography/mass spectrometry: a new method for species identification of truffles*, «Rapid communications in mass spectrometry», 19, pp. 2365-2370.

HACQUARD S., TISSERANT E., BRUN A., LEGUÉ V., MARTIN F., KOHLER A. (2013): *Laser microdissection and microarray analysis of Tuber melanosporum ectomycorrhizas reveal functional heterogeneity between mantle and Hartig net compartments*, «Environmental Microbiology», doi: 10.1111/1462-2920.12080.

HERTZ-FOWLER C., PAIN A. (2007): *Specialist fungi, versatile genomes*, «Nature», 2, pp. 332-333.

JEANDROZ S., MURAT C., WANG Y., BONFANTE P., LE TACON F. (2008): *Molecular phylogeny and historical biogeography of the genus Tuber, the 'true truffles'*, «Journal of Biogeography», 35, pp. 815-829.

LACOURT I., DUPLESSIS S., ABBÀ S., BONFANTE P., MARTIN F. (2002): *Isolation and characterization of differentially expressed genes in the mycelium and fruit body of Tuber borchii*, «Applied and Environmental Microbiology», 68, pp. 4574-4582.

MARTIN F., LAURENT P., DE CARVALHO D., VOIBLET C., BALESTRINI R., BONFANTE P., TAGU D. (1999): *Cell wall proteins of the ectomycorrhizal basidiomycete Pisolithus tinctorius: identification, function, and expression in symbiosis*, «Fungal Genetics and Biology», 27, pp.161-74.

MARTIN F., AERTS A., AHRÉN D., BRUN A., DANCHIN E.G., DUCHAUSSOY F., GIBON J., KOHLER A., LINDQUIST E., PEREDA V., ET AL. (2008): *The genome of Laccaria bicolor provides insights into mycorrhizal symbiosis*, «Nature», 452, pp. 88-93.

MARTIN F., KOHLER A., MURAT C., BALESTRINI R., COUTINHO P.M., JAILLON O., MONTANINI B., MORIN E., NOEL B., PERCUDANI R. ET AL. (2010): *Périgord black truffle genome uncovers evolutionary origins and mechanisms of symbiosis*, «Nature», 464, pp. 1033-1038.

MELLO A., FONTANA A., MEOTTO F., BONFANTE P. (2001): *Molecular and morphological characterization of Tuber magnatum mycorrhizas in a long-term survey*, «Microbiological Research», 155, pp. 279-284.

MELLO A., MURAT C., BONFANTE P. (2006): *Truffles: much more than a prized and local fungal delicacy*, «FEMS Microbiology Letters», 260, pp. 1-8.

MIOZZI L., BALESTRINI R., BOLCHI A., NOVERO M., OTTONELLO S., BONFANTE P. (2005): *Phospholipase A2 up-regulation during mycorrhiza formation in Tuber borchii*, «New Phytologist», 167, pp. 229-38.

MONTANINI B., LEVATI E., BOLCHI A., KOHLER A., MORIN E., TISSERANT E., MARTIN F., OTTONELLO S. (2011): *Genome-wide search and functional identification of transcription factors in the mycorrhizal fungus Tuber melanosporum*, «New Phytologist», 189, pp. 736–750.

MURAT C., VIZZINI A., BONFANTE P., MELLO A. (2005): *Morphological and molecular typing of the below-ground fungal community in a natural Tuber magnatum truffle-ground*, «FEMS Microbiology Letters», 245, pp. 307-313.

NAPOLI C., MELLO A., BORRA A., VIZZINI A., SOURZAT P., BONFANTE P. (2010): *Tuber melanosporum, when dominant, affects fungal dynamics in truffle-grounds*, «New Phytologist», 185, pp. 237-247.

O'DONNELL K., CIGELNIK E., WEBER N.S., TRAPPE J.M. (1997): *Phylogenetic relationships among ascomycetous truffles and the true and false morels inferred from 18S and 28S*

ribosomal DNA sequence analysis, «Mycologia», 89, pp. 48-65.

PAIN A., HERTZ-FOWLER C. (2008): *Genomic adaptation: a fungal perspective*, «Nature», 6, pp. 572-573.

PAMPANINI R., MARCHINI A., DIOTALLEVI F. (2012): *Il mercato del tartufo fresco in Italia tra performance commerciali e vincoli allo sviluppo: il contributo delle regioni italiane*, «MPRA», 43278, pp. 11-28.

PERCUDANI R., TREVISI A., ZAMBONELLI A., OTTONELLO S. (1999): *Molecular phylogeny of truffles (Pezizales: Terfeziaceae, Tuberaceae) derived from nuclear rDNA sequence analysis*, «Molecular phylogenetics and evolution», 13, pp. 169-180.

RIZZELLO R., ZAMPIERI E., VIZZINI A., AUTINO A., CRESTI M., BONFANTE P., MELLO A. (2012): *Authentication of prized white and black truffles in processed products using quantitative real-time PCR*, «Food Research International», 48, pp. 792-797.

SILLO F., GISSI C., CHIGNOLI D., RAGNI E., POPOLO L., BALESTRINI R. (2013): *Expression and phylogenetic analyses of the Gel/Gas proteins of Tuber melanosporum provide insights into the function and evolution of glucan remodeling enzymes in fungi*, «Fungal Genetics and Biology», 10.1016/j.fgb.2013.01.010.

SORAGNI E., BOLCHI A., BALESTRINI R., GAMBARETTO C., PERCUDANI R., BONFANTE P., OTTONELLO S. (2001): *A nutrient-regulated, dual localization phospholipase A(2) in the symbiotic fungus Tuber borchii*, «EMBO Journal», 20, pp. 5079-90.

SPLIVALLO S., OTTONELLO S., MELLO A., KARLOVSKY P. (2011): *Truffle volatiles: from chemical ecology to aroma biosynthesis*, «New Phytologist» 189, pp. 688-699.

TRAPPE J.M. (1975): *Generic synonyms in the Tuberales*, «Mycotaxon», 2, pp. 109-122.

ZAMPIERI E., BALESTRINI R., KOHLER A., ABBÀ S., MARTIN F., BONFANTE P. (2011): *The*

Perigord black truffle responds to cold temperature with an extensive reprogramming of its transcriptional activity, «Fungal Genetics and Biology», 48, pp. 585-91.

ZAMPIERI E., RIZZELLO R., BONFANTE P., MELLO A. (2012): *The detection of mating type genes of Tuber melanosporum in productive and non productive soils*, «Applied Soil Ecology», 57, pp. 9-15.

Riassunto

Il progetto di sequenziamento del genoma del tartufo nero del Périgord (*T. melanosporum*) è stato lanciato nel 2007 ad opera di un consorzio Italo-Francese e i dati sono stati resi pubblici nel 2010 sulla rivista Nature. Partendo dai dati ottenuti dal progetto di sequenziamento, che ha previsto una fase di annotazione automatica seguita da una manuale, sono stati sviluppati una serie di lavori specifici tesi alla caratterizzazione più approfondita di categorie specifiche di geni. Questo ha permesso di avere, insieme ai dati trascrittomici ottenuti durante il progetto di sequenziamento, numerose informazioni sui processi metabolici presenti nelle diverse fasi del complesso ciclo vitale di un fungo simbiote, quale *Tuber*. Lo scopo di questa presentazione è quello di evidenziare il lavoro che è stato fatto nella fase di post-genomica, per meglio comprendere i meccanismi alla base dell'interazione di questo fungo con la pianta ospite e/o della formazione dei pregiati tartufi.

Abstract

The project related to the genome sequencing of the black truffle of Périgord (*T. melanosporum*) was launched in 2007 by an Italian-French consortium and the data were published in 2010 in Nature. Starting from the sequencing project, which included automatic and manual annotation steps, specific studies were developed, in order to focus on specific gene categories (e.g., cell wall related genes, carbohydrate metabolism, environmental response genes, etc.) and, among them specific gene families. This has allowed us to obtain, together with the transcriptomic data developed during the sequencing project, new knowledge on metabolic processes that happen during the complex life cycle of a symbiotic fungus, such as *Tuber*. The aim of this short review is to highlight the work that has been done in post-genomic stage, to better understand the molecular mechanisms occurring during the interaction of this fungus with the host plant, as well as, those involved in the formation of precious truffles.