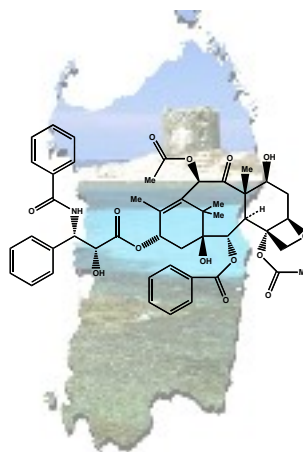




## SardiniaChem2008

GIORNATA DI STUDIO DEDICATA  
ALLA CHIMICA ORGANICA  
DELLE MOLECOLE BIOLOGICAMENTE ATTIVE

30 Maggio 2008, Aula Magna della Facoltà di Scienze – Sassari



### Comitato Scientifico:

Giampaolo Giacomelli, *Univ. Sassari*; Giovanna Delogu *CNR Sassari*; Salvatore Cabiddu, *Univ. Cagliari*; PierPaolo Piras, *Univ. Cagliari*

### Comitato Organizzatore:

Andrea Porcheddu, *Univ. Sassari*; Roberto Dallochio, *CNR Sassari*;  
Stefania De Montis *Univ. Cagliari*

### Sponsor

hanno contribuito alla realizzazione del convegno:

[UNIVERSITA' di Sassari-Dipartimento di Chimica](#); [UNIVERSITA' di Sassari-Facoltà di Scienze MFN](#); [CNR-Istituto di Chimica Biomolecolare, Sassari](#); [UNIVERSITA' di Cagliari](#);  
[SAPIO s.r.l.](#); [SIGMA-ALDRICH s.r.l.](#); [CARLO ERBA Reagenti](#);  
[MEDINLAB s.r.l.](#); [VWR International s.r.l.](#)

**VALUTAZIONE DELLA EFFICACIA DI UN VETTORE DI SILENZIAMENTO  
GENICO PER MODULARE L'ESPRESSIONE DEI GENI *TRI6* E *TRI5* COINVOLTI  
NELLA BIOSINTESI DEL DEOSSINIVALENOLO NEL FUNGO FITOPATOGENO  
*FUSARIUM CULMORUM***

[Marcella Orrù<sup>1</sup>](#), [Barbara Scherm<sup>1</sup>](#), [Virgilio Balmas<sup>1</sup>](#), [Emanuela Azara<sup>2</sup>](#),  
[Giovanna Delogu<sup>2</sup>](#) e [Quirico Migheli<sup>1</sup>](#)

<sup>1</sup>Dipartimento di Protezione delle Piante - Unità di ricerca Istituto Nazionale Biostrutture e Biosistemi, Università degli Studi di Sassari, Via E. De Nicola 9, I-07100 Sassari, Italy. <sup>2</sup>CNR Istituto di Chimica Biomolecolare, Sezione di Sassari, Traversa La Crucca 3, Località Baldinca, Li Punti, I - 07040 Sassari, Italy.

Il deossinivalenolo (o DON o vomitossina) è una micotossina appartenente al gruppo dei tricoteceni prodotta da alcune specie di *Fusarium* (*Fusarium graminearum*, *F. culmorum*, ecc..) e rappresenta uno dei più diffusi contaminanti degli alimenti e dei mangimi, insieme a zearalenone e tossina T-2, soprattutto nei cereali quali grano, orzo e mais. Lo scopo di questo studio è stato quello di analizzare l'espressione differenziale di geni preposti alla biosintesi dei tricoteceni (*TRI5* e *TRI6*) e valutare la produzione di micotossina (DON e il suo derivato acetilato 3Acetil DON) in un ceppo selvaggio di *Fusarium culmorum* e in ceppi mutanti generati per inserzione di un vettore di silenziamento genico. Questo vettore è basato su un costrutto a forcina (stem-loop) recante la sequenza del gene *tri6*, che a sua volta regola l'espressione del gene *tri5*, una trichodiene synthase coinvolta nella biosintesi dei tricoteceni. A tal fine, i ceppi di *F. culmorum* sono stati fatti sviluppare *in vitro* su un substrato idoneo a garantire la produzione ottimale di DON. Sono state così stabilite le condizioni di sviluppo ed è stato determinato il volume minimo di substrato in grado di permettere la crescita del patogeno e la produzione di DON. La determinazione quantitativa dell'espressione genica è stata ottenuta mediante la tecnica di "Real-Time RT-PCR", mentre la concentrazione di micotossine nei filtrati colturali è stata determinata mediante un sistema di cromatografia liquida interfacciata alla spettrometria di massa (HP1100 Agilent Technologies).

Il metodo è stato applicato utilizzando una colonna C18 e la fase mobile costituita da eluente A (acido acetico in soluzione acquosa 0,01%) ed eluente B (acetonitrile). I risultati preliminari di questa indagine hanno dimostrato che la maggior produzione di micotossina si è avuta tra i 7 e i 10 giorni di incubazione, e il massimo livello di espressione genica dopo 7 giorni.