



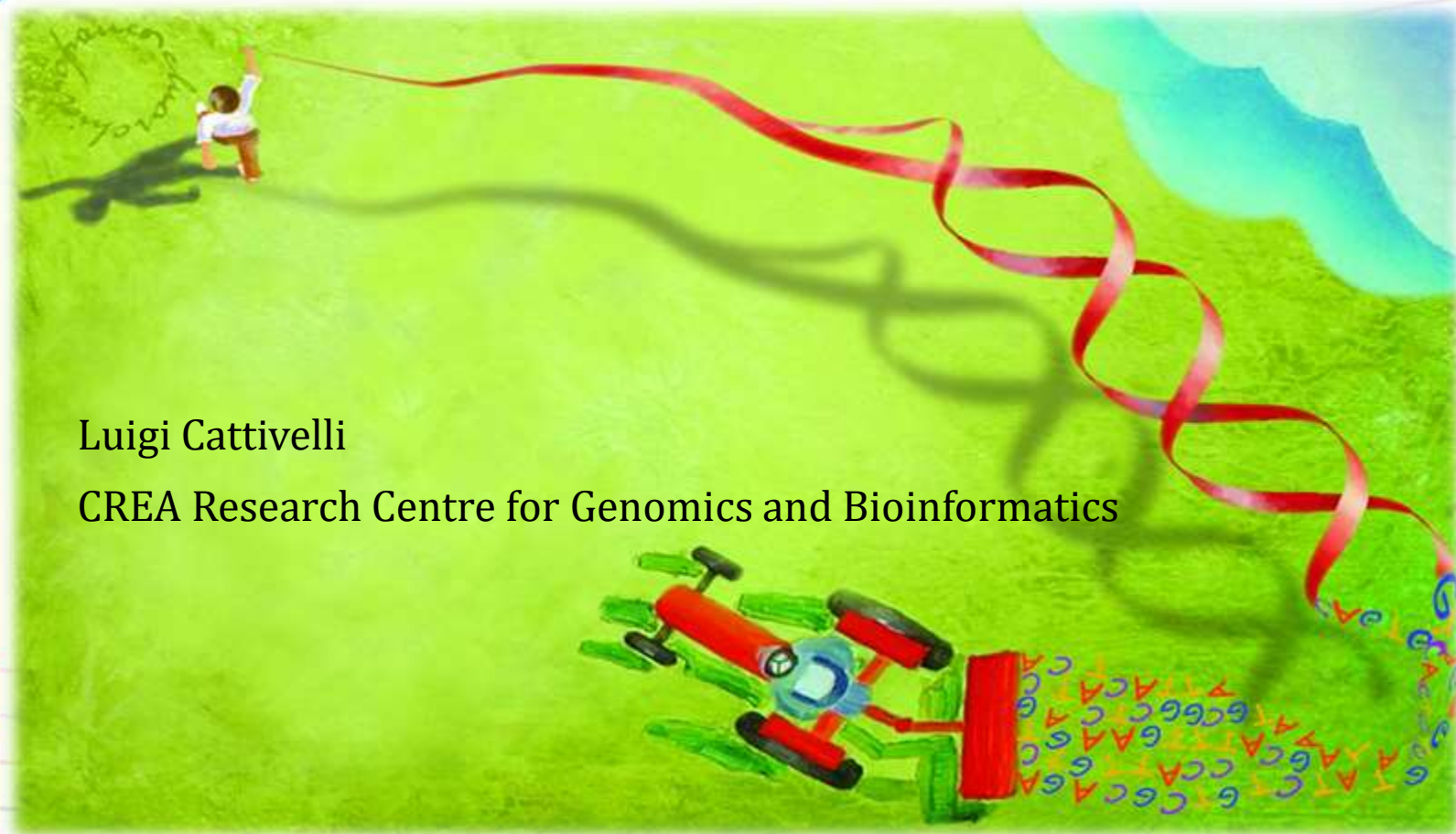
crea

Consiglio per la ricerca in agricoltura
e l'analisi dell'economia agraria

BIOTECH: Biotecnologie sostenibili per l'agricoltura italiana

Luigi Cattivelli

CREA Research Centre for Genomics and Bioinformatics



- BIOTECH è un programma strategico per lo sviluppo delle biotecnologie sostenibili in Italia (2018-2021)
- BIOTECH è il primo programma nazionale dedicato alla genomica vegetale dopo gli anni '90
- BIOTECH è coordinato dal CREA e dispone di un budget totale di 6 milioni di euro (1,5 milioni destinati ad altre istituzioni pubbliche di ricerca)
- BIOTECH applica genome editing e cisgenesi alle piante per sviluppare nuove conoscenze e nuove potenziali varietà



- ❧ BIOTECH è organizzato in 13 sotto-progetti, ciascuno dei quali è focalizzato su una o poche specie per un totale di 16 colture che rappresentano i prodotti più rappresentativi dell'agricoltura Italiana
- ❧ BIOTECH affronta 4 tematiche principali: incremento della produttività, **resistenza a stress biotici**, resistenza a stress abiotici, qualità dei prodotti
- ❧ BIOTECH è stato predisposto nel pieno rispetto della legislazione vigente
- ❧ BIOTECH non prevede alcun tipo di prova in campo per piante editate o cisgeniche



🌿 Cisgenesi

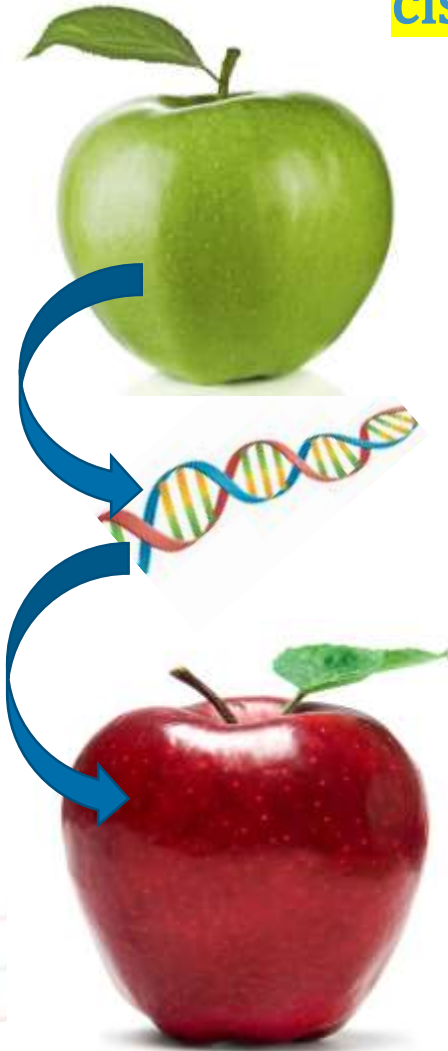
- 🌱 Frumento duro // ruggine
- 🌱 Pero // colpo di fuoco batterico
- 🌱 Vite // peronospora
- 🌱 Melo // ticchiolatura

✓ Genome editing

- ✓ Basilico // peronospora
- ✓ Pesco // sharka
- ✓ Pomodoro // orobanche
- ✓ Kiwi // cancro batterico



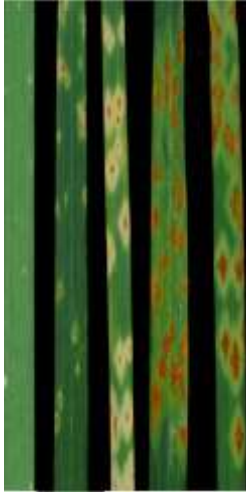
Se limitiamo la transgenesi ad un trasferimento di geni tra piante della stessa specie, abbiamo la **cisgenesi**



- La barriera tra le specie è pienamente rispettata
- E' un risultato analogo a quello che si ottiene con un incrocio
- Ma il trasferimento riguarda uno ed uno solo gene

1. Frumento duro // ruggini (*Puccinia* spp.)

Puccinia graminis
f.sp.tritici
RUGGINE NERA



Puccinia recondita
f.sp.tritici
RUGGINE BRUNA



Puccinia
striiformis
RUGGINE GIALLA



Blumeria graminis
f. sp. tritici
OIDIO



***Lr67(Yr46/Sr55/Pm46)* trasportatore degli esosi dall'apoplasto al cytosol, l'allele resistente conferisce una resistenza durevole senza effetti negative sulla produttività**

CREA Cerealicoltura Colture Industriali (Foggia)
Anna Maria Mastrangelo
Daniela Marone

Lr67Sus allele

MPGGGFAVSAPSGVEFEAKITPIVIISCIMAATGGLMF
 GYDVGISGGVTSMDDFLREFFPAVLRRRKNQDKESNY
 CKYDNQGLQLFTSSLYLAGLTATFFASYTTRRLGRRL
 TMLIAGVFFIIGVIFNGAAQNLAMLIIGRILL **G**EGVGFA
 NQAVPLFLSEIAPTRIRGGLNILFQLNVTIGILFANLVN
 YGTSKIHPWGWRLSLSLAGIPAAMTLGALFVTDTPN
 SLIERGHLEEGKAVLKRIRGTDNVEPEFNEIVEASRIA
 QEVKHPFRNLLQRRNRPQLVIAVLLQIFQQFTGINAIM
 FYAPVLFNTLGFKSDASLYSAVITGAVNVLATLVSVYA
 VDRAGRALLLEAGVQMFLSQVVIAVVLGIKVTDKSD
 NLGHGWAILV **V**~~IMVCTYVASEFAWSWGPLGWLIPSEI~~
 FPLETRSAGQSVTVCVNLLFTFLIAQAFLSMLCHLKF
 AIFIFFSAWVLVMSVFVLFLLPETKNVPIEEMTDKVKW
 QHWFWKRFMDDDDQHHNIANGKNAT

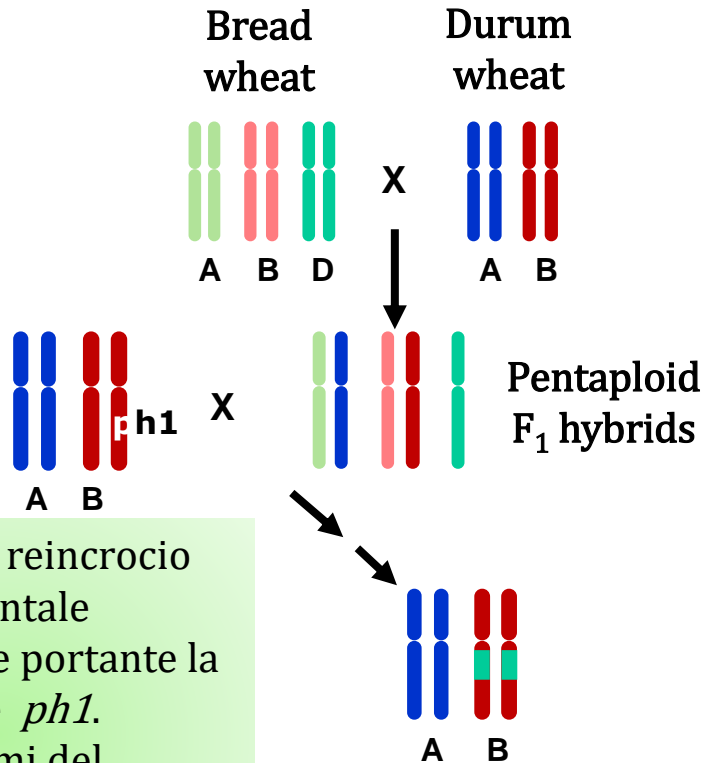
Lr67Res allele

G144R

V387L

Lr67Res ha una diminuita affinità con il glucosio e potrebbe determinare una limitazione nutrizionale ai funghi che si nutrono tramite austoria (oppure attivare un signalling della difesa)

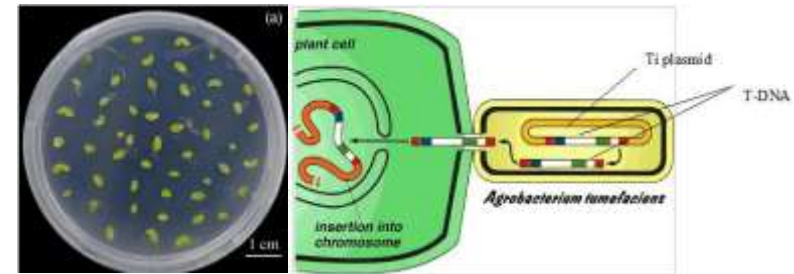
Chr 4 **D**



- Più cicli di reincrocio con il parentale tetraploide portante la mutazione *ph1*.
- I cromosomi del genoma D possono ricombinare con quelli dei genomi A e B

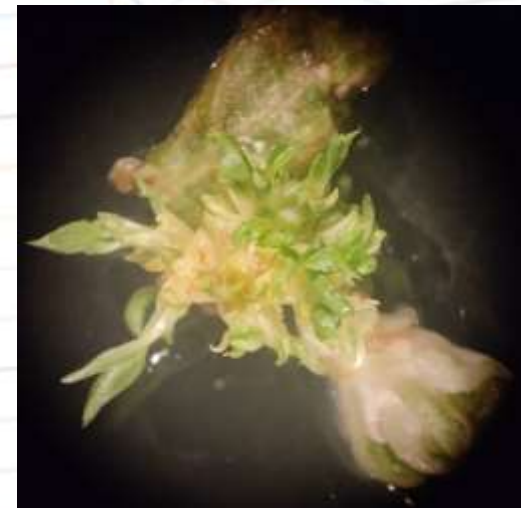
Selezione di linee tetraploidi portanti l'introgressione del segmento di chr. 4D portante *Lr67*

Trasformazione con il gene *Lr67* di frumento tenero



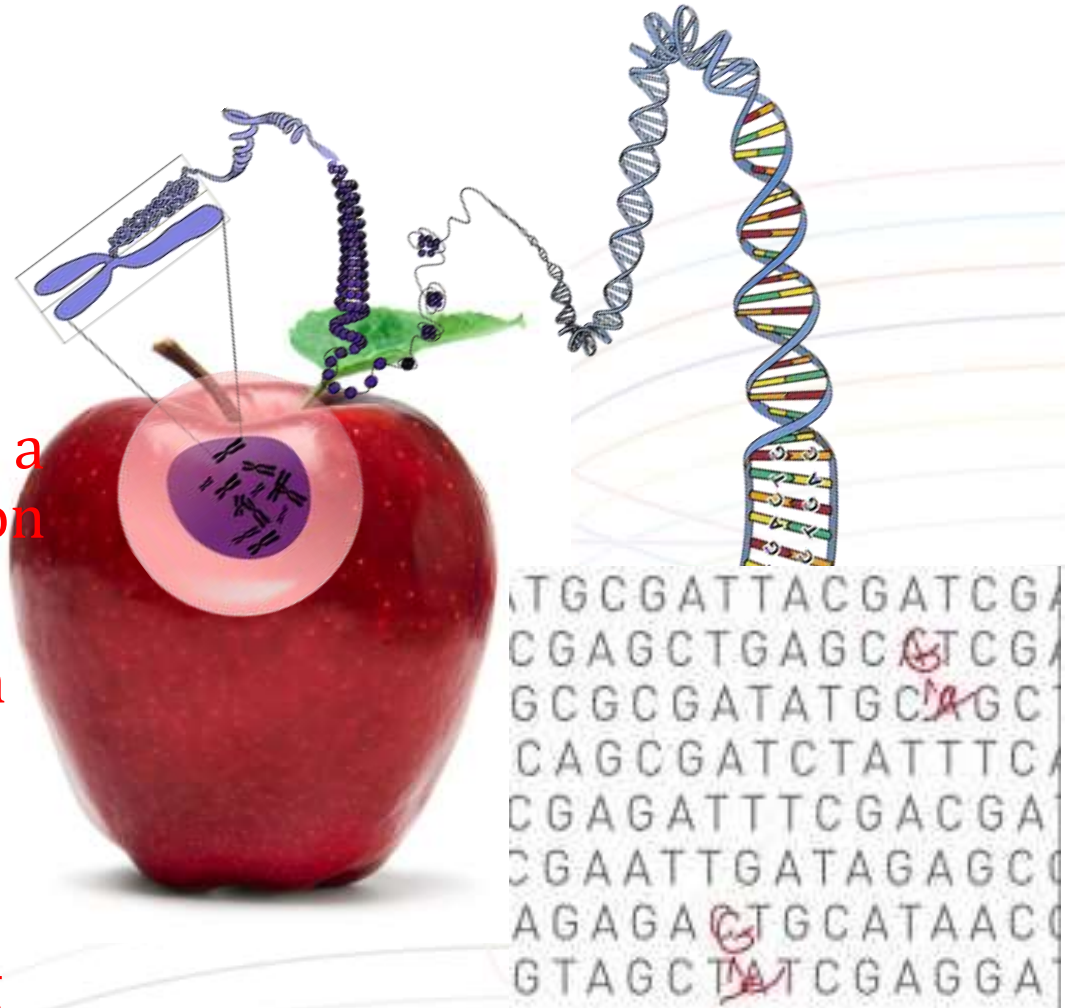


- Geni di resistenza al colpo di fuoco batterico clonati solo in melo: 1) Gene CC-NBS-LRR da *Malus x robusta*; 2) Gene RLK da *Malus x fusca*
- Interfertilità melo/pero dimostrata da Fisher et al. 2014
- È in corso la trasformazione del pero con i geni di resistenza



Primi germogli dai
calli trasformati

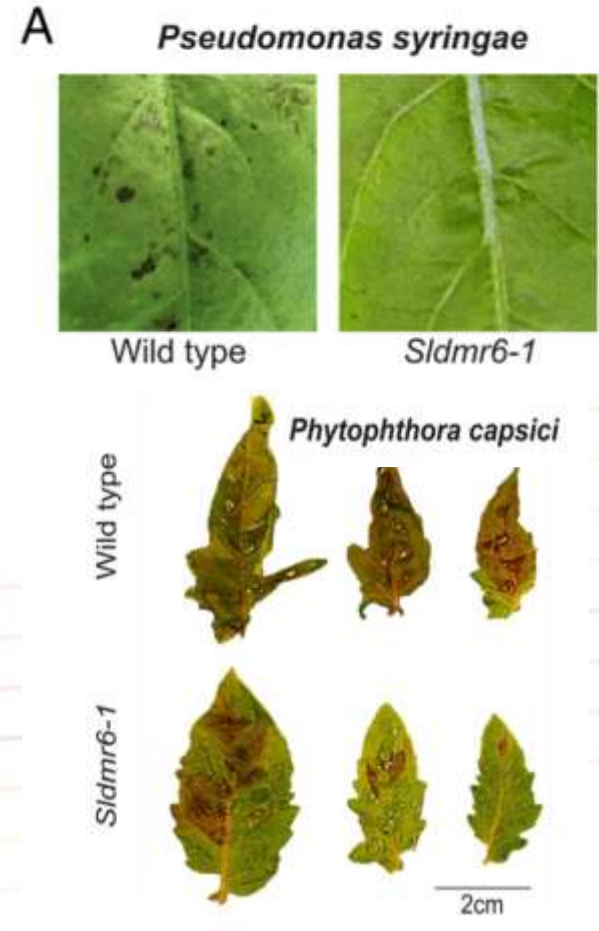
- Genome editing: modificare un gene all'interno della specie target (senza inserire nessun gene esterno).
- E' un risultato analogo a quello che si ottiene con la mutagenesi
- La mutazione riguarda un solo gene definito a priori
- Dopo la mutazione il meccanismo di editing viene rimosso



DMR6 (Downy Mildew Resistance 6) è un gene di suscettibilità (soppressore dell'immunità) la cui mutazione conferisce resistenza a malattie causate da oomiceti in *Arabidopsis* e pomodoro (Thomazella et al. 2016)



- DMR6 è conservato in molte specie
- È stato isolato il gene omologo in basilico ed è in corso l'induzione di mutazioni tramite genome editing



CREA Orticoltura e
Floricoltura (Sanremo)
Marco Savona
Marina Laura

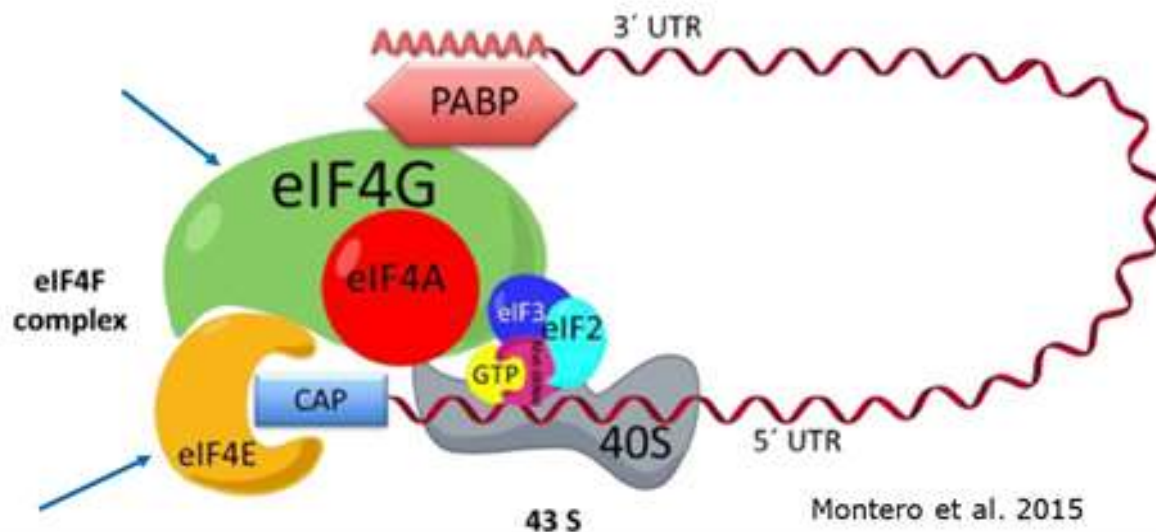
- Sono state ottenute piante di basilico mutate al gene *DRM6* mediante genome editing
- Saggi resistenza in corso



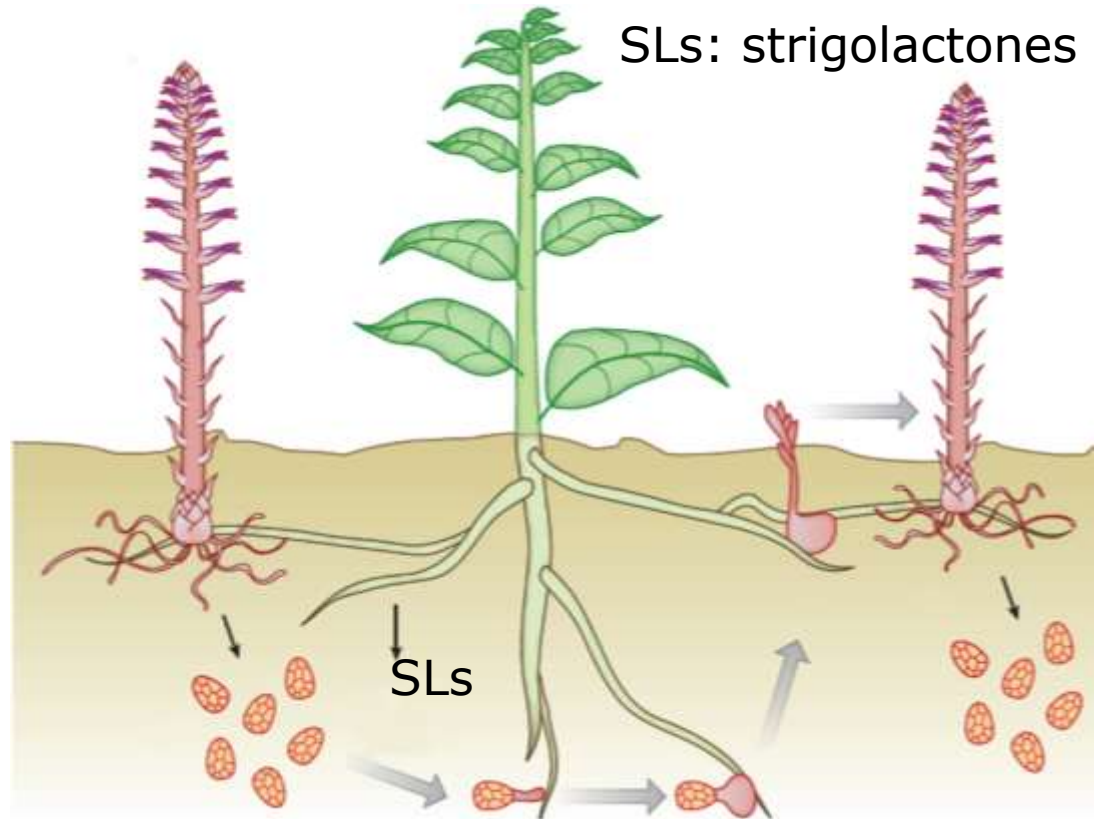
```

C:\Users\laura.CRA-FSO\Desktop\ANALISI SEQUENZE DRM6 8 9 20\Allineam seq e HR editate 7 10 20v3.fas
Courier New 11 B 7 total sequences
Mode: Edit Selection: 178 Sequence Mask: None Start ruler a
Position: 6: HR5 205 Numbering Mask: None
I D I D G/D +> GAT GAT TAG CAT CAT :E:
130 140 150 160 170 180 190
>Seq DRM6 WT GAGGGATTAcTCAGGCTTCATTGCTACCCCTTGGAGAATTATGTTCC-TGAATGGCCTTCTAATCC
17A GAGGGATTACCTCAGGCTTCATTGCTACCCCTTGGAGAATTATGTTCC-TGAATGGCCTTCTAATCC
8A GAGGGATTACCTCAGGCTTCATTGCTACCCCTTGGAGAATTTTGTT-TGAATGGCCTTCTAATCC
9B GAGGGATTACCTCAGGCTTCATTGCTACCCCTTGGAGAATTTTGTTCC-TGAATGGCCTTCTAATCC
45C GAGGGATTACCTCAGGCTTCATTGCTACCCCTTGGAGAATTTTGTTCC-TGAATGGCCTTCTAATCC
HR5 GAGGGATTACCTCAAGCTTCATTGCTACCCCTTGGAGAATTTTGTTCC-TGAATGGCCTTCTAATCC
HR6_colBT7 GAGGGATTACCTCAGGCTTCATTGCTACCCCTTGGAGAATTTTGTTCC-TGAATGGCCTTCTAATCC
  
```

- **Geni di suscettibilità:** fattori di inizio della traduzione negli eucarioti (*eIF*). Sono proteine dell'ospite necessarie alla replicazione virale (interazione con la viral genome-linked protein, VPg)
- La modifica di un gene di suscettibilità è attesa determinare una resistenza alla virosi
- Genome editing sui geni *eIF4E*, *eIF4G*

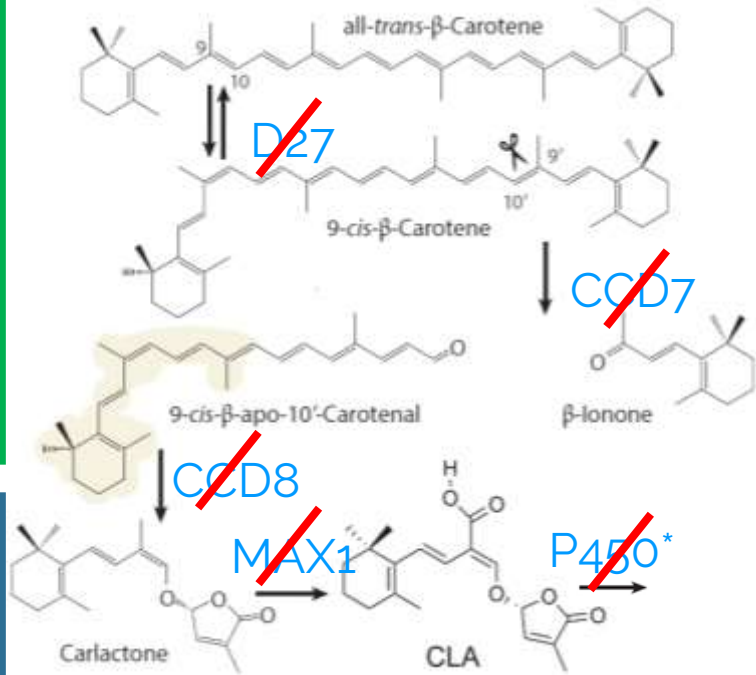


CREA Olivicoltura
frutticoltura
agrumicoltura (Roma)
Sabrina Micali
Ignazio Verde



Modified from Xie et al. 2010

**CREA Orticoltura e
Floricoltura
(Pontecagnano)
Alessandro Nicolia
Teodoro Cardì**



Modified from Al-Babili S. and Bouwmeester H. J. 2015



Mutazione nei
geni della
biosintesi di SL



Ridotta
secrezione di SL



Ridotta
germinazione
delle orobanche



Test di germinazione con *Phelipanche aegyptiaca*

Test di infezione con *Phelipanche ramosa*

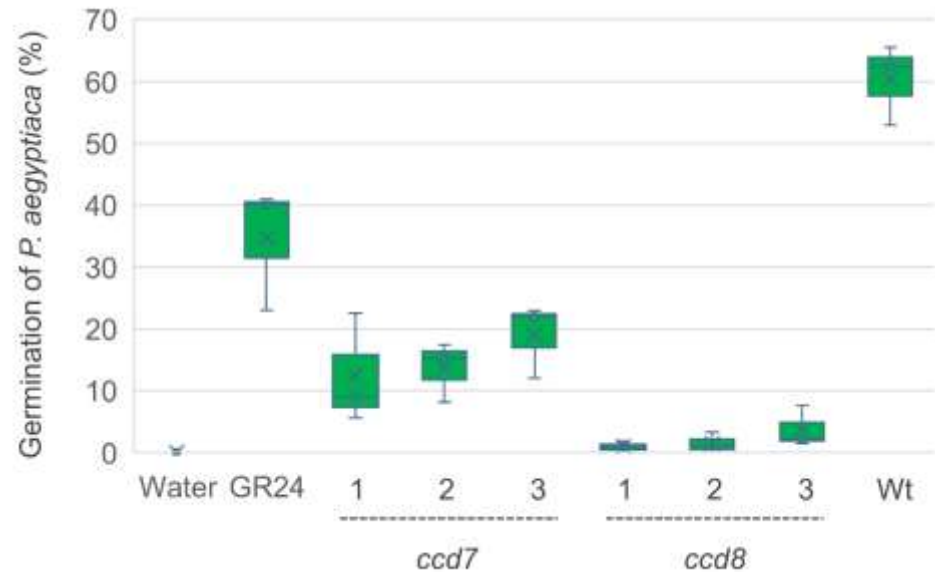
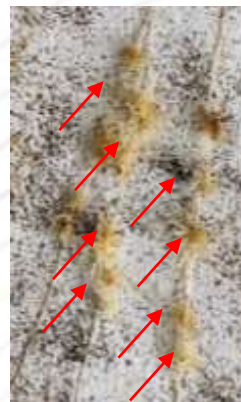
ccd7



ccd8



Wt



In collaborazione con
Ehime University - Japan
e CNR - ISPA (Bari)

Strigolattoni: effetti collaterali



Nest
WT

Portinnesto editato
(es *ccd8*)

- Genome editing e cisgenesi hanno una grande potenzialità nella creazione di fonti di resistenza capaci di limitare l'uso di fitofarmaci
- Genome editing e cisgenesi si basano su approfondite conoscenze dei genomi e della funzione dei geni