

Gene editing in pomodoro per l'ottenimento di piante tolleranti a Peronospora

Andrea Moglia

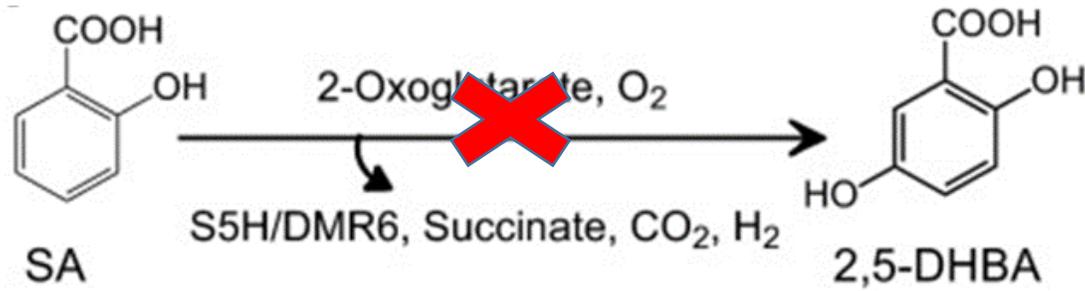


WORKSHOP - 27 GIUGNO 2022

TECNICHE DI EVOLUZIONE ASSISTITA (TEA) PER IL MIGLIORAMENTO GENETICO DELLE PIANTE AGRARIE

CUNEO - SPAZIO INCONTRI FONDAZIONE CRC

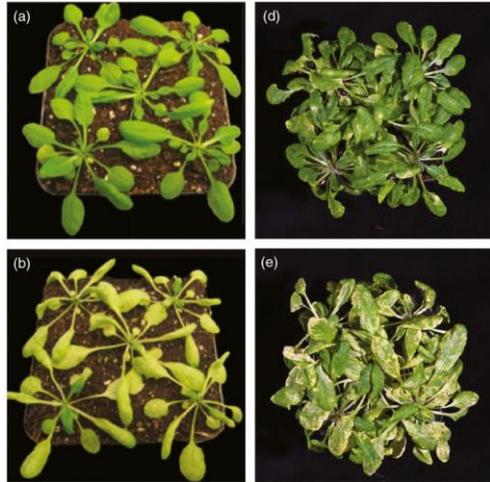
Il gene di suscettibilità DMR6



↑ Acido salicilico

↑ Resistenza a batteri, funghi e oomiceti

Arabidopsis



Resistenza a *Hyaloperonospora arabidopsidis*

Basilico

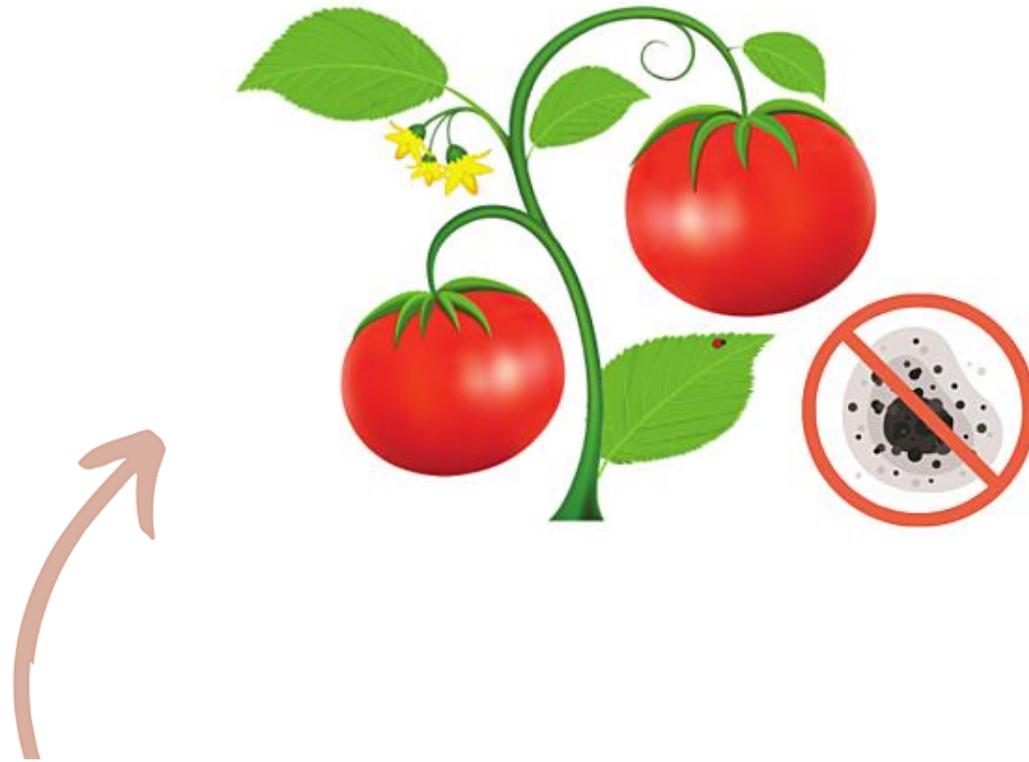


Resistenza a *Peronospora belbahrii*

Patata



Resistenza a *Phytophthora infestans*



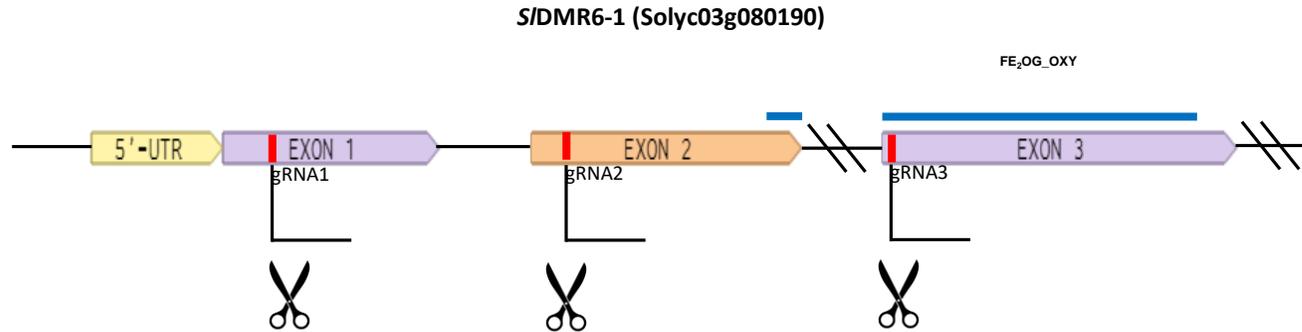
Varietà tolleranti a
Peronospora

Spegnimento del gene
di suscettibilità DMR6

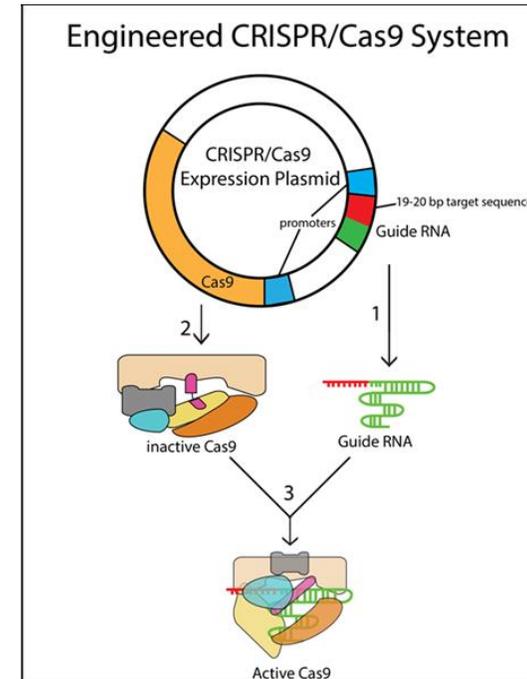


Spegnimento del gene di suscettibilità DMR6

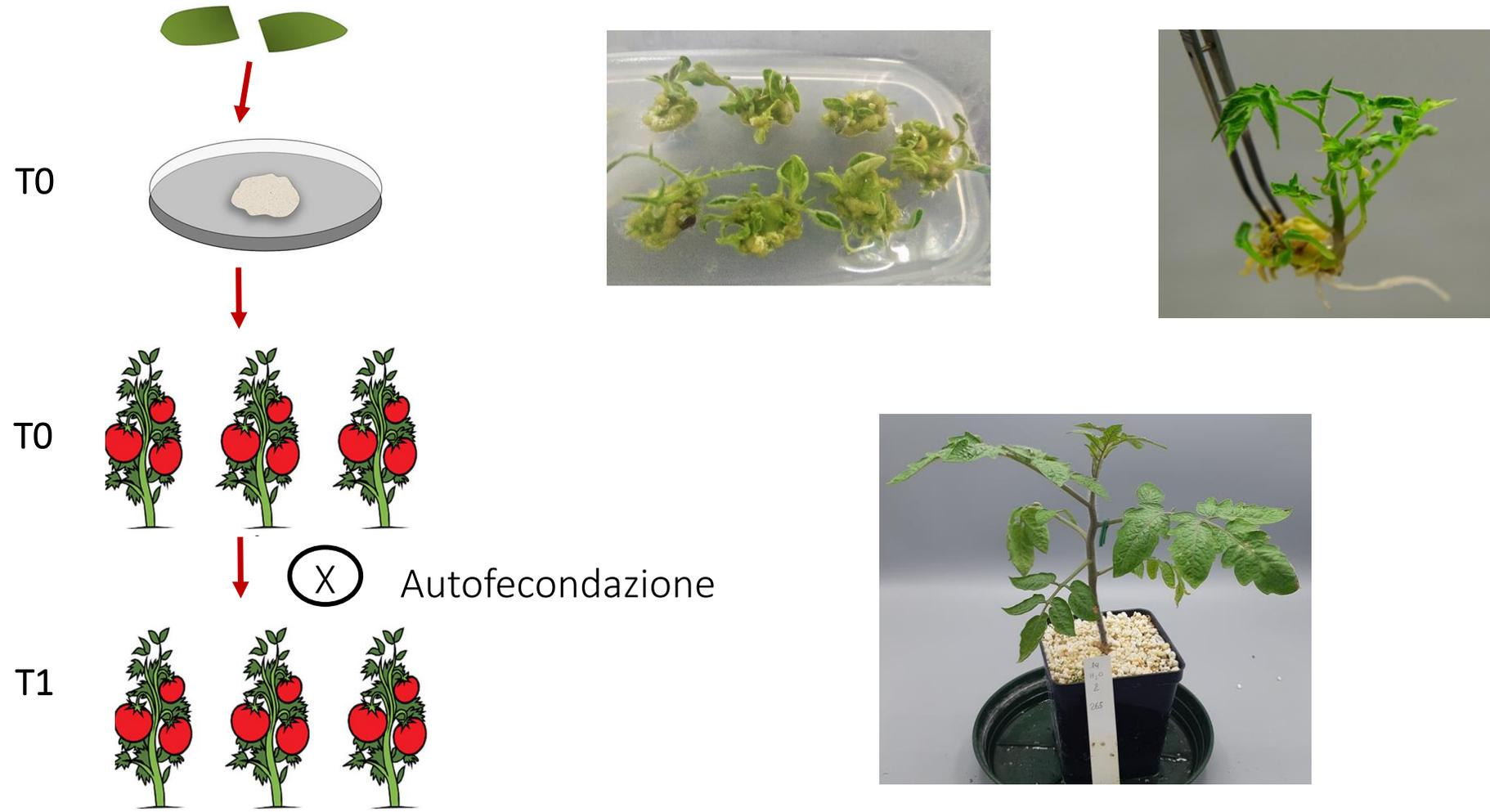
- Disegno di tre gRNA in grado di riconoscere differenti porzioni del gene



- Trasformazione Genetica della Cv. San Marzano

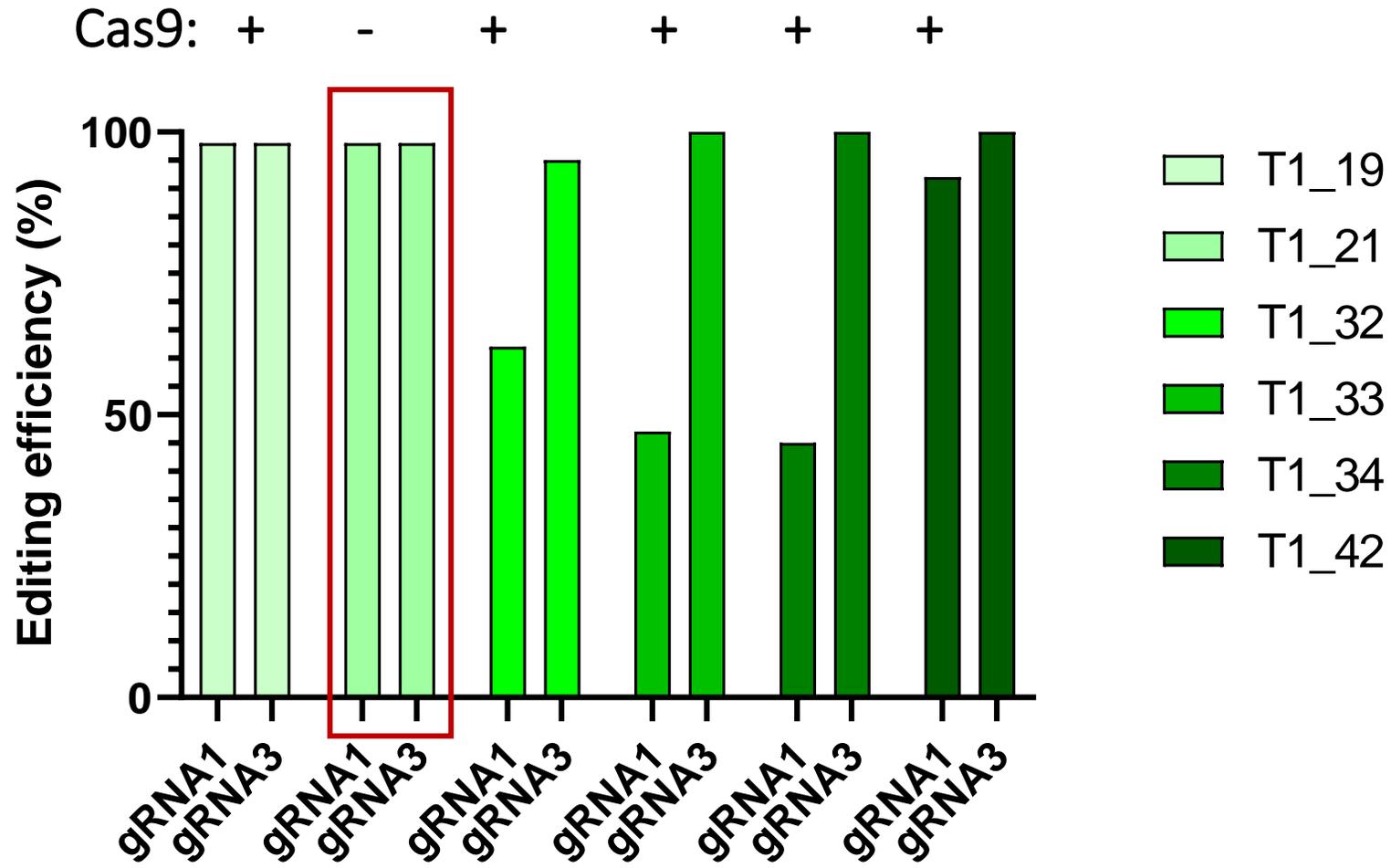


Step per l'ottenimento di linee mutanti

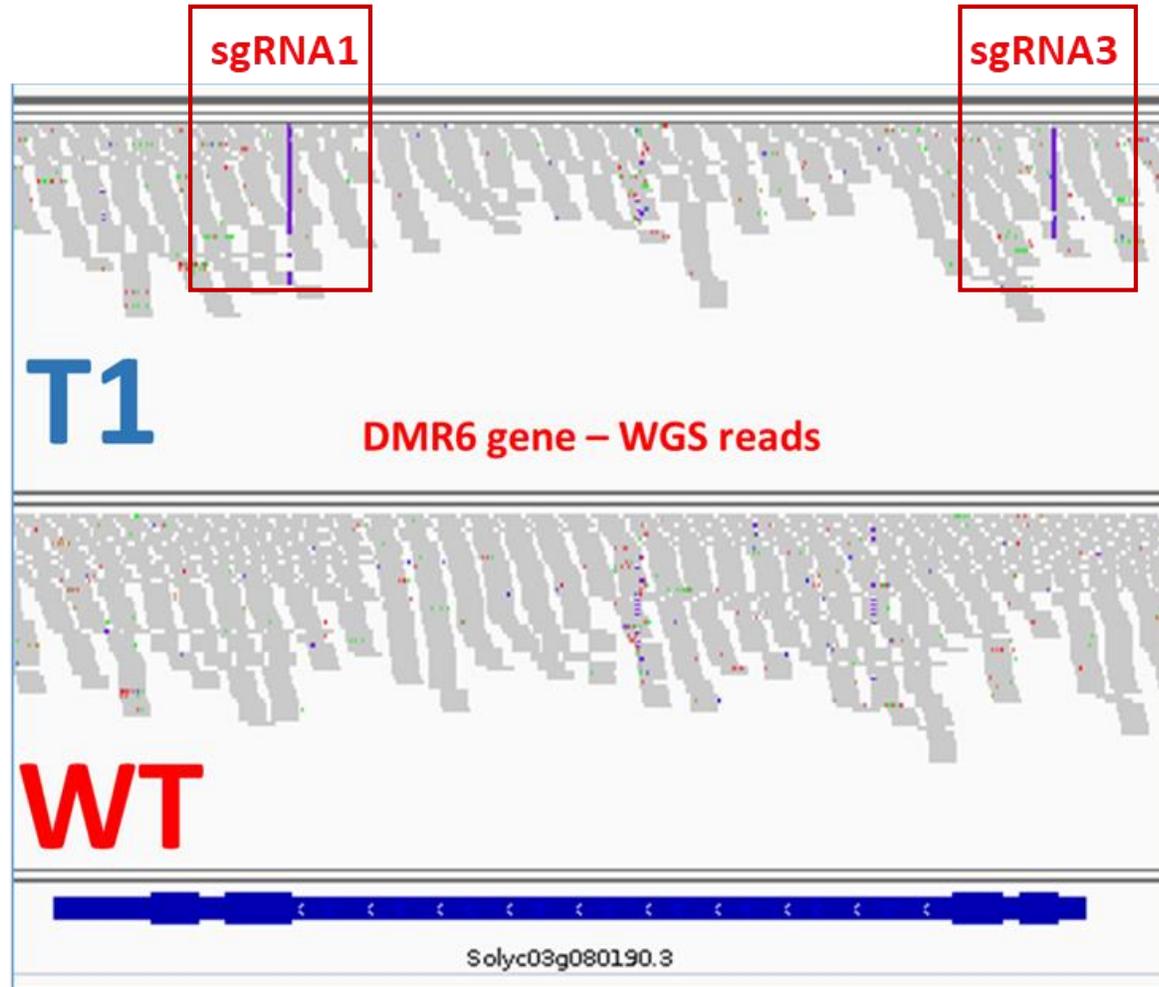


Piante mutate senza alcuna traccia di DNA esogeno

Analisi molecolari delle linee T1

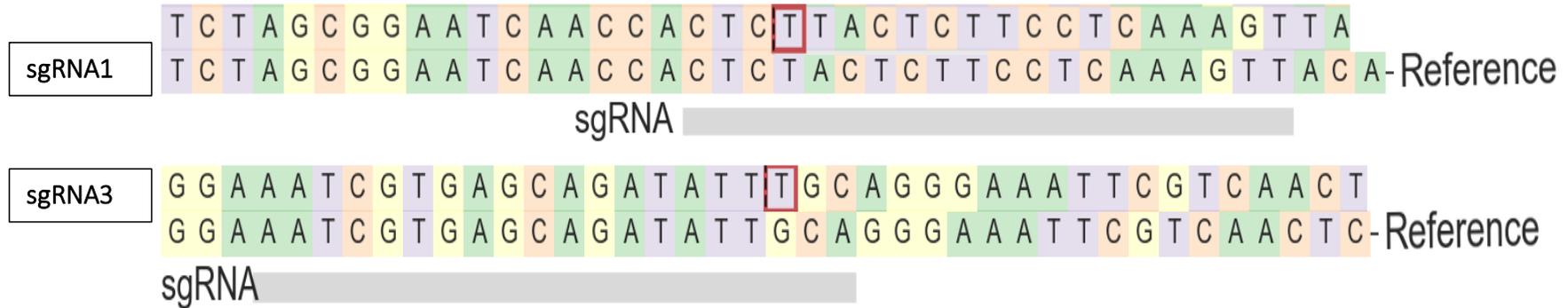


Sequenziamento del genoma della linea T1_21

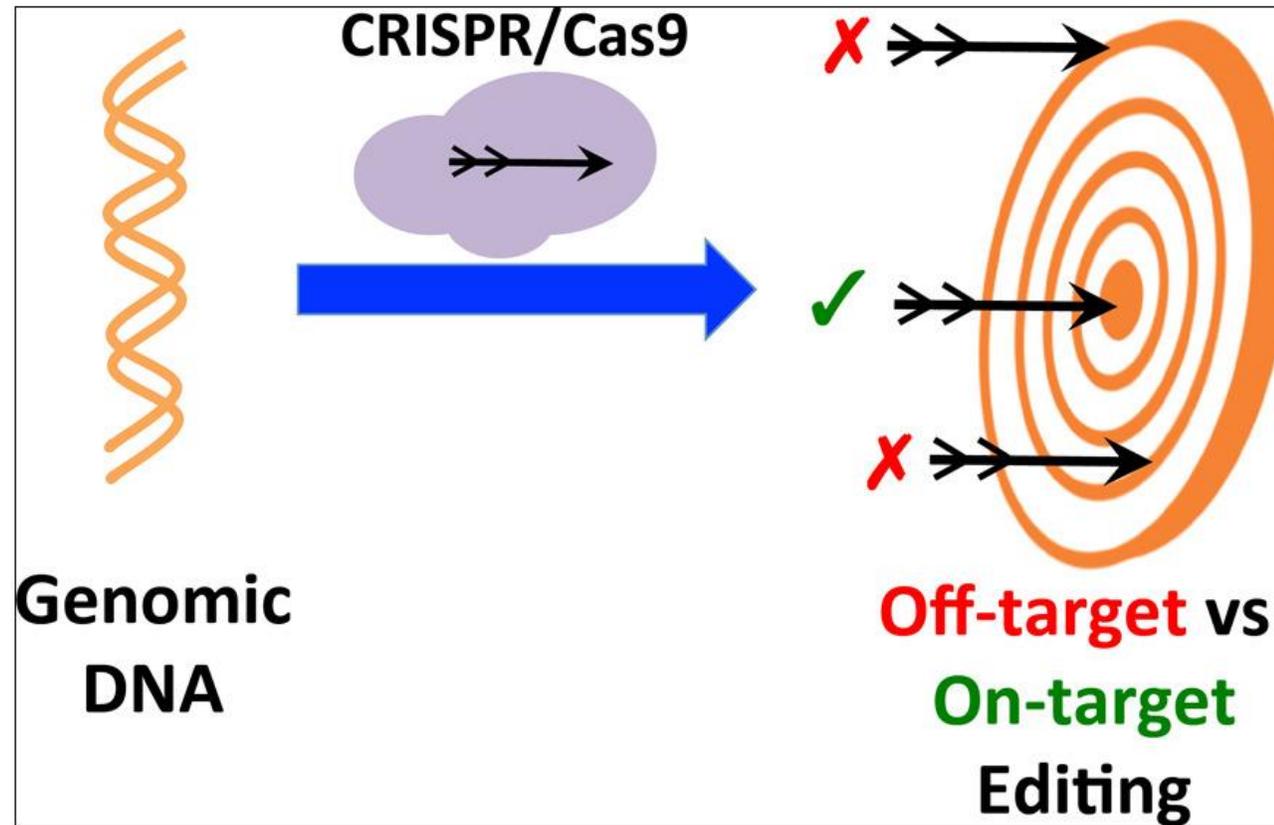


sgRNA DETAILS

Sequenziamento del genoma della linea T1_21

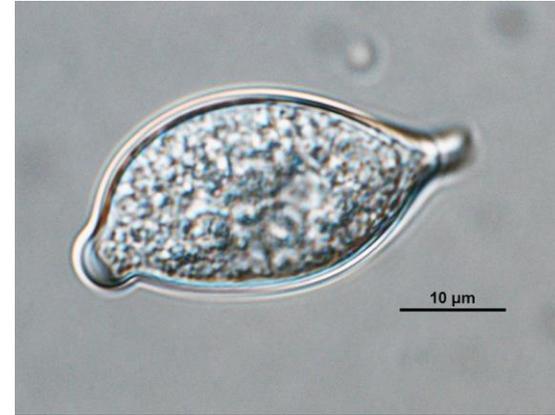


Assenza di DNA esogeno e mutazione in omozigosi a livello del gene dmr6



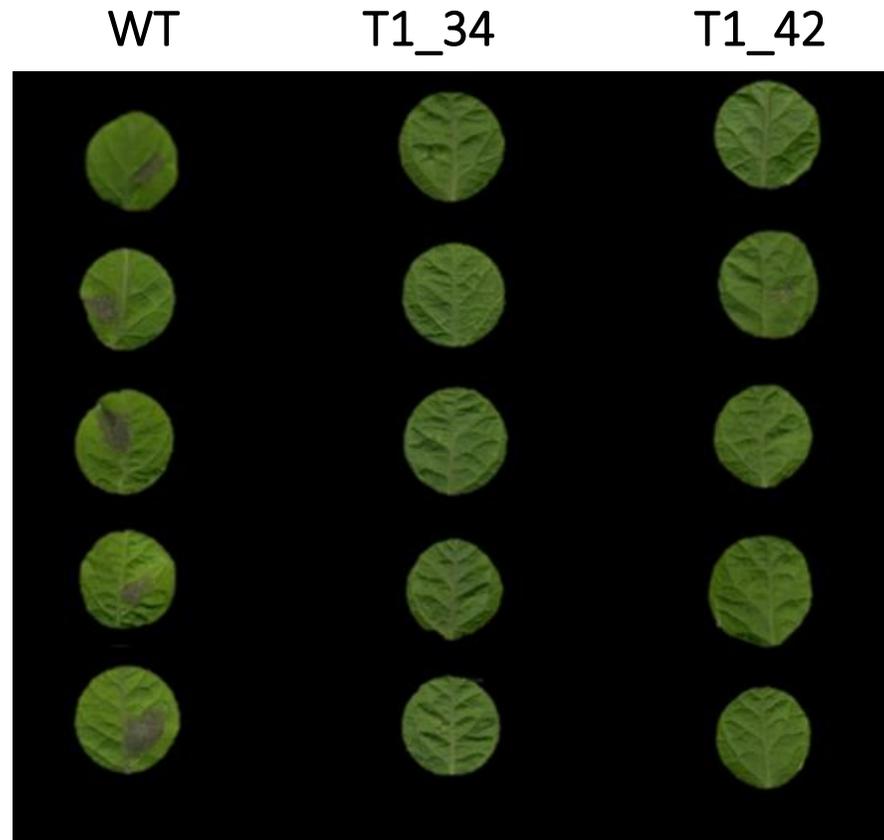
sgRNA	Number of off target in the genome	In coding	Non coding	SNP/Indel
gRNA1	21	2	19	0
gRNA3	10	1	9	0
total	31	3	28	0

Peronospora in pomodoro

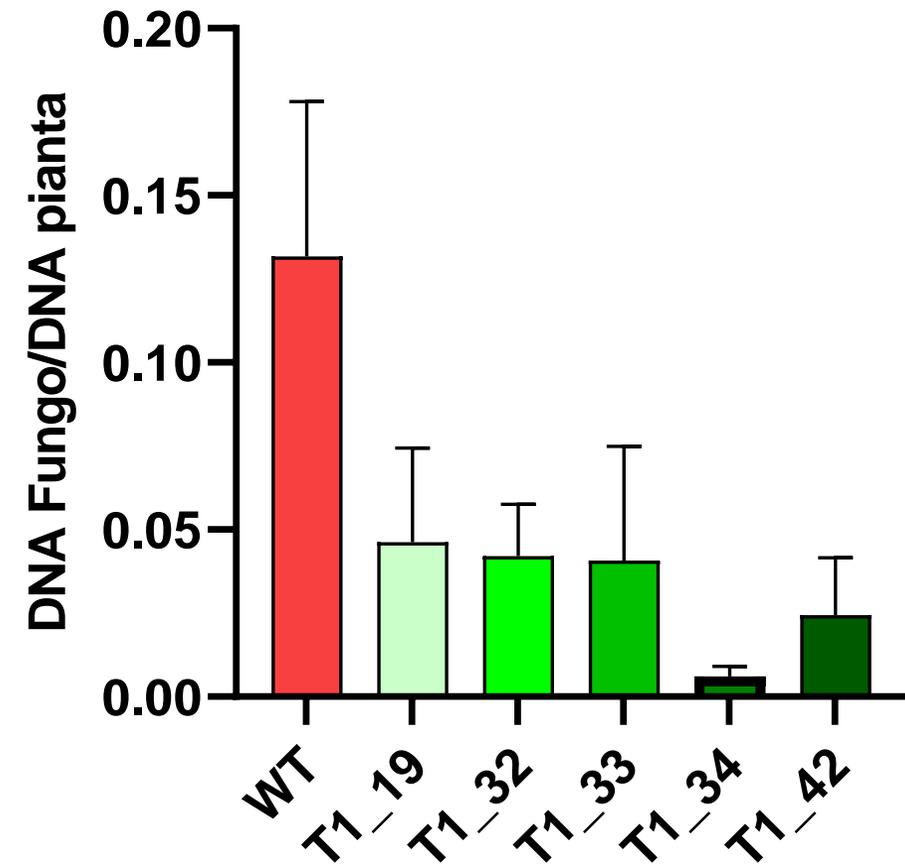


Phytophthora infestans

Valutazione della tolleranza a Peronospora

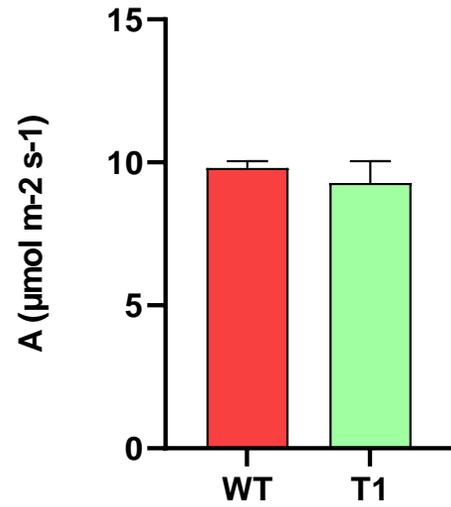


Detached leaf assay

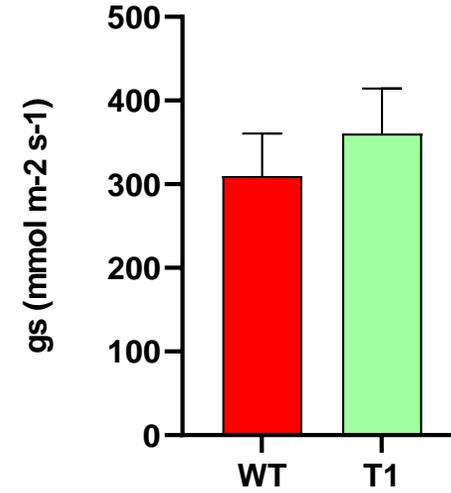


Performance fisiologiche

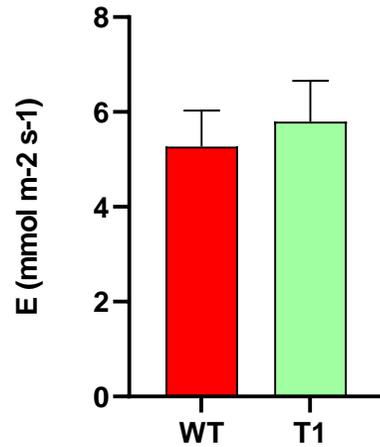
Assimilazione



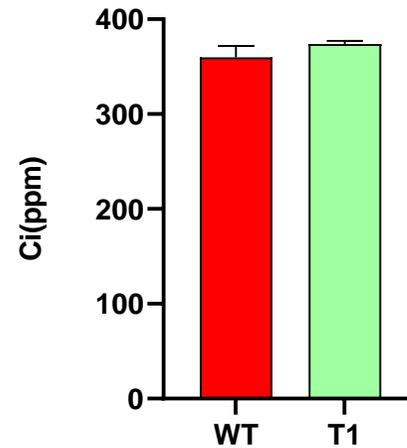
Conduttanza Stomatica (gs)



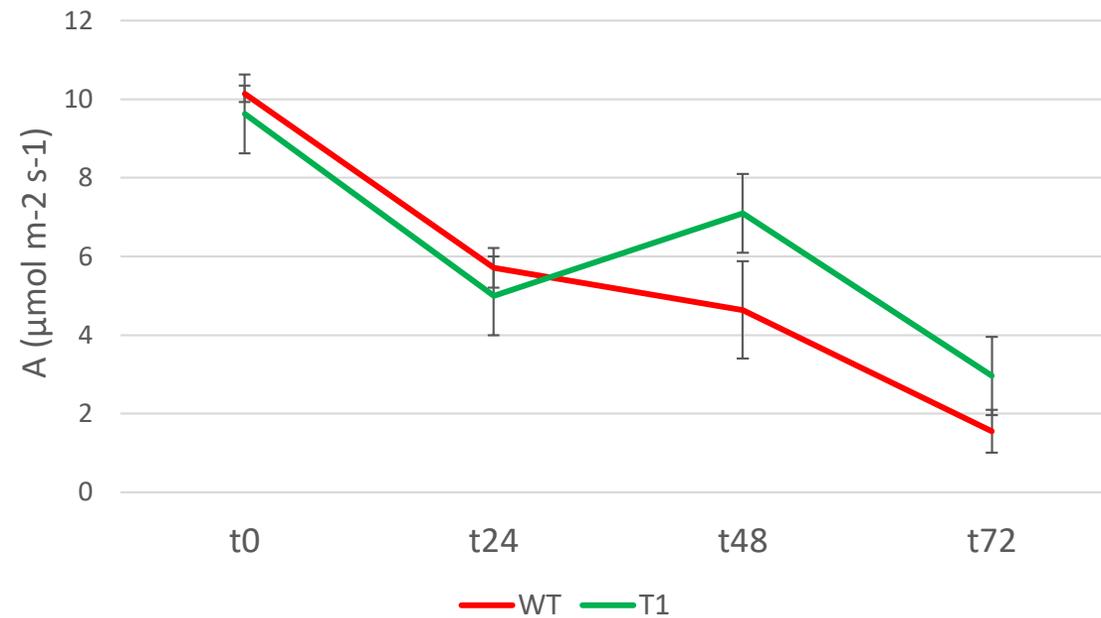
Traspirazione



Concentrazione intercellulare di CO2 (Ci)



Valutazione della tolleranza a stress idrico



Assimilazione

La linea di breeding selezionata all'interno del nostro progetto:

- ✓ si distingue dalla pianta controllo solamente per piccole mutazioni puntiformi a livello del locus genico DMR6 (2 nucleotidi su un miliardo di basi)
- ✓ può essere utilizzata sia come varietà d'élite o per programmi di miglioramento genetico
- ✓ risulta indistinguibile dalle piante che potrebbero essere ottenute a seguito di mutazioni spontanee

prima i geni LIBERIAMO IL FUTURO
DELL'AGRICOLTURA

Tesi #9

Il genome editing è un passo avanti decisivo. Ma solo perché rende molto più facile quello che abbiamo sempre fatto.

