

Dottorato

Sustainable Agricultural and Forestry Systems and Food Security

Titolo

Approcci di genome editing per il miglioramento della tolleranza agli stress biotici e abiotici in patata e pomodoro

Proponente tutor

Dr Antonio Di Matteo – SSD AGR/07

Prof. L. frusciante (co-tutor cofinanziatore)

Obiettivi del progetto di ricerca nel triennio e collaborazioni interdisciplinari

(max 2000 caratteri spazi inclusi)

Patata e pomodoro sono piante agrarie di importanza globale e sono diventate oggetto di ricerca in genetica come piante modello rispettivamente per lo sviluppo e la maturazione del frutto e lo sviluppo del tubero. Recentemente, l'avanzamento tecnologico e la disponibilità della sequenza genomica in queste due specie hanno aumentato le opportunità del miglioramento genetico di rispondere ai fabbisogni della filiera. In particolare, i cambiamenti climatici in corso fanno prevedere incrementi della frequenza e dell'intensità degli stress ambientali che spesso incidono negativamente sulle rese produttive e sulla qualità delle materie prime. Per esempio, un ridotto livello di restituzione idrica in pomodoro riduce le rese, la conservabilità dei frutti, il contenuto in solidi solubili ed il livello di antiossidanti. Pertanto, lo sviluppo di varietà tolleranti agli stress multipli può risultare strategico nella promozione di agro-ecosistemi più resilienti in grado di rispondere con una maggiore stabilità produttiva al riscaldamento globale. Le “glutathione S-trasferasi” (GST) rappresentano una risposta condivisa della pianta agli stress biotici e abiotici. In alcuni casi, la sovraespressione di geni *gst* è stata associata all'incremento della tolleranza agli stress multipli, spesso attraverso la modulazione del metabolismo antiossidativo. L'obiettivo prioritario di questo progetto consiste nello sviluppo di piante mutazioni nei loci microRNA che regolano negativamente l'espressione dei geni *gst* in patata e pomodoro mediante genome editing (tecnologia CRIPR/Cas9) allo scopo di indurre la sovraespressione dei geni *gst* ed ottenere piante più tolleranti agli stress multipli biotici ed abiotici. L'impatto sul metabolismo delle piante editate sarà saggiato in collaborazione con i colleghi della Chimica Agraria mentre la tolleranza agli stress sarà verificata in collaborazione con i colleghi della Fisiologia Vegetale e della Patologia Vegetale.

Elementi di innovazione e/o originalità del progetto rispetto allo stato dell'arte

(max 2000 caratteri spazi inclusi)

La ricerca proposta rispetta le indicazioni del programma EU Horizon 2020 in quanto è tesa a promuovere la produttività, la stabilità e la qualità come risultato dell'interazione tra genotipo ed ambiente attraverso soluzioni sostenibili per non compromettere i bisogni delle generazioni future, alle quali devono essere consegnate nuove opportunità e condizioni migliori delle attuali.

Lo studio della risposta condivisa della pianta agli stress combinati biotici e abiotici rappresenta un filone di ricerca innovativo con ricadute applicative sull'uso di geni

regolatori che siano in grado di potenziare nelle piante sia la risposta agli stress ambientali che agli attacchi di patogeni e parassiti e quindi di promuovere agro-ecosistemi più resilienti. Inoltre, in futuro le informazioni ed i dati ottenuti in questo progetto potrebbero essere utilizzati per ottenere risultati simili in altre colture. In un mercato sempre più globale ogni nuova conoscenza, qualsiasi nuovo gene, così come ogni nuovo metodo di miglioramento genetico può risultare fondamentale per essere competitivi. Attraverso un approccio multidisciplinare, che combina le competenze in campo genomico e molecolare con metodologie di chimica agraria e fisiologia vegetale il progetto mira ad accrescere la conoscenza e proporre soluzioni innovative. In particolare, la tecnologia Crispr/Cas9 è un sistema di mutagenesi innovativo, scoperto solo da pochi anni. Il sistema, grazie alla sua efficienza, la specificità e la flessibilità è diventato subito uno strumento chiave del genoma-editing delle piante di interesse agrario.

Nel progetto, per la prima volta si propone di modulare l'espressione dei geni *gst* rimuovendo l'inibizione operata da specifici microRNA attraverso mutazioni deleterie indotti negli stessi loci microRNA mediante tecnologia CRISPR/Cas9.

Disponibilità fondi (finanziamenti a sostegno delle attività di ricerca previste)
Convenzione Italpatate (Responsabile scientifico Prof. Luigi Frusciante)

Collaborazioni con istituzioni straniere

(max 500 caratteri spazi inclusi)

Prof. Massimo Iorizzo – Assistant Professor

Small Fruit and Vegetable Breeding and Genomics Department of Horticultural Science - Plants for Human Health Institute - 600 Laureate Way Kannapolis, NC 28081

Nell'ambito dei tre anni di dottorato è previsto un periodo di formazione presso i laboratori del Prof. Massimo Iorizzo per il disegno *in silico* degli esperimenti di genome editing.

Title

Genome editing approaches for breeding tomato and potato for enhanced nutritional quality

Proposing tutor

Dr Antonio Di Matteo – SSD AGR/07

Prof. Luigi Frusciante (co-funding co-tutor)

Objectives of the research project and interdisciplinary collaborations (max 2000 characters)

Potato and tomato are crops of global importance and have become the subject of research in genetics as model plants for fruit development and ripening and tuber development, respectively. Recently, advancements in genomics technologies and the availability of the genomic sequence in these two species have increased the opportunities for breeding to respond to the needs of the food supply chains. As a result of global warming and climate changes scientists predict increases in the frequency and intensity of environmental stresses that often negatively affect the quality of plant produces. In fact, it has been shown that drought stress in tomato causes a reduction in yield, shelf-life and soluble solids and in the overall level of antioxidants. Therefore, the development of varieties that are tolerant to multiple stresses can be a successful strategy in promoting more resilient agro-ecosystems responding to the global warming with a more yield stability. In plants, the "glutathione S-transferases" (GSTs) represent a shared response of the plant to biotic and abiotic stresses. In some cases, the overexpression of *gst* genes has been associated with increased tolerance to multiple stresses, often occurring by regulating the antioxidant metabolism. The main objective of this proposal consists in the development of mutant plants with deleterious lesions in the microRNA loci that normally negatively regulate the expression of the *gst* genes in potato and tomato by means of genome editing (CRIPR / Cas9 technology). This would inhibit the microRNA expression thus leading to the overexpression of the *gst* genes with potential increases in stress tolerance to multiple biotic and abiotic stresses. The metabolic effects of mutations in the tomato fruits and the potato tubers of the edited plants as well as their tolerance to stresses will be tested in collaboration with colleague's experts in chemistry, plant physiology and pathology.

Innovation and originality of the project in relation to the state of the art (max 2000 characters)

The proposed research is consistent with the indications of the EU Horizon 2020 program as it is aimed at promoting yield, stability and quality of agro-ecosystems. The study of the shared plant response to combined biotic and abiotic stresses represents a line of innovative research with applicative implications on the use of regulatory genes that are able to enhance the response to both environmental stresses and attacks by pathogens and parasites in plants therefore to promote more resilient agro-ecosystems. Moreover, the enhanced resilience would result from the interaction between genotype and environment through sustainable solutions in order not to compromise the needs of future generations, to which they must be deliver new opportunities and better conditions than today.

Furthermore, in the future the information and data obtained in this project could be used to obtain similar results in other crops. In an increasingly global market every new knowledge, any new gene, as well as any new method of genetic improvement

can be fundamental to be competitive. Through a multidisciplinary approach, which combines genomic and molecular skills with chemistry and plant physiology and plant pathology methodologies, the project aims to increase knowledge and propose innovative solutions. In particular, the Crispr / Cas9 technology is an innovative mutagenesis system, discovered only a few years ago. The system, thanks to its efficiency, specificity and flexibility, has immediately become a key tool for genome-editing plants of agricultural interest.

In the project, for the first time it is proposed to modulate the expression of *gst* genes by removing the inhibition operated by specific microRNAs through deleterious mutations induced in the same microRNA loci by CRISPR / Cas9 technology.

Grant availability (funds to support the research activities)

Funding by Italpatate (Principal Investigator Prof. Luigi Frusciante)

Collaborations with foreign institutions (max 500 characters)

Prof. Massimo Iorizzo – Assistant Professor

Small Fruit and Vegetable Breeding and Genomics Department of Horticultural Science - Plants for Human Health Institute - 600 Laureate Way Kannapolis, NC 28081

As part of the three-year PhD program, a period of training will be provided in the laboratories of Prof. Massimo Iorizzo for the *in-silico* design of genome editing experiments.