

SCHEDA FINALE PROGETTO DI RICERCA N. 42

SURF “SELEZIONE E SVILUPPO DI MATERIALI GENETICI PER LA RESISTENZA ALLE VIROSI DEL FRUMENTO”

Il progetto SURF mirava a selezionare e sviluppare materiali genetici di frumento duro per la resistenza a virus, individuando e utilizzando caratteri di resistenza attraverso l'utilizzo di moderni approcci sperimentali e tecnologie scientifiche all'avanguardia.

Durata: 42 mesi, dal 1° luglio 2020 al 31 dicembre 2023

Gli attori

- Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR) – Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria (IBBA): capofila del progetto. Responsabile Scientifico: Aldo Ceriotti. Project Manager: Elena Baldoni
- CNR – Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante (IPSP): partner di progetto. Responsabile di Unità: Gian Paolo Accotto
- CNR – Istituto dei Materiali per l'Elettronica e il Magnetismo (IMEM): partner di progetto. Responsabile di Unità: Michela Janni

Gli obiettivi

L'obiettivo generale del progetto SURF è stato lo sviluppo di conoscenze in frumento duro per la resistenza a virus attraverso l'identificazione di linee di frumento duro resistenti, l'individuazione di loci genici coinvolti nella risposta a infezioni virali e strategie innovative di miglioramento genetico.

In particolare, gli obiettivi specifici del progetto sono stati:

- l'identificazione di materiale genetico di frumento duro resistente al virus del mosaico comune del frumento (SBCMV);
- l'identificazione di regioni genomiche associate con loci di resistenza al SBCMV;
- lo sviluppo di linee di frumento duro portanti la resistenza a bymovirus;
- lo sviluppo di modelli predittivi per la stima della resistenza al SBCMV utilizzando informazioni genotipiche;
- lo sviluppo di un biosensore in grado di monitorare, in continuo e in modo dinamico, i cambiamenti della composizione della linfa della pianta *in vivo* in seguito ad infezione virale.

Il progetto si è avvalso delle conoscenze pervenute dal progetto di sequenziamento di frumento duro, di cui IBBA è stato uno dei partner principali, nell'ambito del progetto InterOmics. Le attività del progetto SURF sono state attivamente collegate alla *Wheat Initiative*, un'iniziativa internazionale pubblico-privata di cooperazione che vuole facilitare le attività di ricerca sul frumento.

I risultati ottenuti e le nuove conoscenze acquisite

Il progetto SURF ha ottenuto risultati scientifici altamente innovativi, che avranno importanti ricadute sia nell'ambito della conoscenza biologica sia nell'ambito del miglioramento genetico del frumento.

Innanzitutto, sono state caratterizzate e identificate diverse linee di frumento duro resistenti al virus del mosaico comune del frumento (SBCMV), che potranno essere utilizzate per programmi di miglioramento genetico. L'analisi di associazione genotipo-fenotipo ha permesso di individuare una lista di geni candidati putativamente coinvolti nella resistenza, mentre lo sviluppo di un modello di predizione per la resistenza al virus rappresenta uno strumento innovativo per lo studio genetico della resistenza alle virosi in

frumento. Tali nuove conoscenze potranno essere utilizzate dalla comunità scientifica e dai *breeder* per la caratterizzazione di materiale genetico già utilizzato e per lo sviluppo di nuove varietà resistenti di frumento.

L'interazione tra pianta di frumento, virus e vettore è tuttora poco caratterizzata, in quanto la sua natura tripartita rende complesso lo studio del meccanismo biologico alla base dell'infezione. I risultati del progetto SURF rappresentano un importante passo avanti in questo campo. Sono stati caratterizzati i ceppi di SBCMV e WSSMV (virus della striatura fusiforme del frumento) maggiormente presenti in pianura padana, e la loro sequenza genetica è stata depositata nella banca dati internazionale di riferimento. Sono state messe a punto due tecniche per l'infezione delle piante di frumento in condizioni controllate che potranno essere utilizzate per lo studio dell'interazione pianta-vettore-virus. Inoltre, lo sviluppo del biosensore Bioristor per il monitoraggio dell'infezione virale rappresenta un'importante tecnologia innovativa che potrà essere utilizzata per campagne di monitoraggio e per lo studio dell'interazione pianta-virus.

Sono stati inoltre sviluppati due protocolli per la *detection* dei virus SBCMV e WSSMV direttamente in campo, che hanno portato alla stesura di due manoscritti per riviste scientifiche internazionali, uno dei quali è stato già pubblicato (<https://doi.org/10.3390/v15010140>), mentre l'altro è tuttora accettato con revisioni minori dalla rivista *PlosOne*. Questi protocolli pratici, veloci ed economici rappresentano uno strumento efficace per campagne di rilevamento del virus. Ad oggi, i dati relativi alla diffusione di questi virus nei campi agricoli italiani sono molto scarsi. L'avvio di campagne di rilevamento sarebbe di grande importanza, in quanto una mappatura dei virus porterebbe all'utilizzo di varietà maggiormente resistenti dove necessario, con un considerevole aumento delle rese.

L'aspetto di innovazione del progetto SURF è legato anche allo sviluppo di un protocollo di trasformazione mediante tecnologia CRISPR/CAS9 in frumento duro. È noto che la tecnologia del *genome editing* (o Tecnologie di Evoluzione Assistita – TEA) rappresenta la più importante frontiera degli ultimi anni sia in campo biologico che in campo agrario. Per questo motivo, lo sviluppo di un protocollo efficiente per la produzione di piante editate di frumento duro è un risultato di grande successo, che potrà dare un forte impulso al miglioramento genetico del frumento italiano. Nell'ambito del progetto SURF sono state ottenute le prime piante con le modifiche genetiche prestabilite nel gene di interesse, coinvolto nella resistenza a bymovirus. Questo risultato rappresenta lo *starting point* per lo sviluppo di piante resistenti *transgene free*. Una volta fissato il carattere di interesse e confermata l'assenza di materiale genetico esogeno, queste piante potranno essere utilizzate per prove di resistenza sia in ambiente controllato che in campi sperimentali, poichè le recenti normative a livello europeo e italiano stanno aprendo alla possibilità di costituire prove sperimentali in campo con piante editate non transgeniche. I risultati ottenuti e le nuove conoscenze conseguite con il progetto SURF sono stati divulgati sia in ambito scientifico, attraverso la partecipazione a convegni nazionali e internazionali con poster e presentazioni orali, sia agli stakeholder, attraverso l'organizzazione di due giornate divulgative, organizzate a metà e fine progetto. Inoltre, il sito del progetto (<https://progetto-surf.it/>) è stato utilizzato per comunicare i risultati conseguiti, i convegni in cui tali risultati sono stati disseminati, e per presentare in modo divulgativo le moderne tecniche di ricerca utilizzate nel progetto e le loro ricadute, dagli studi di associazione *genome-wide* alla tecnologia del *genome editing*.

In conclusione, il progetto SURF ha dato un importante contributo allo sviluppo di nuove conoscenze innovative relative alla resistenza alle virosi *soil-borne* in frumento, che potranno essere utilizzate per sviluppare nuove strategie di difesa da tali virosi, con un'attenzione alla sostenibilità ambientale e alla salute di tutti gli attori coinvolti nella filiera.

Altre informazioni

Valore totale progetto	€ 510.923,33
Spesa a carico del bilancio regionale	€ 310.019,96
Compartecipazione	€ 200.903,37
Anno di approvazione 2020	Decreto n. 2955

Allegati:

- 1) Marra et al. 2023 – pubblicazione relativa allo sviluppo del protocollo di detection per SBCMV
- 2) Abstract **"Genome-wide association study to identify chromosomal regions related to the resistance to the soil-borne cereal mosaic virus in durum wheat"** - Accotto G.P., Pirona R., Marian D., Matic S., Pierro R., Vaira A.M., Ceriotti A., Baldoni E. - Presentazione poster alla conferenza virtuale "Plant Science for Climate Emergency" <https://www.vibconferences.be/events/plant-science-for-climate-emergency> organizzata dall'Istituto per le Biotechnologie "Vlaams Instituut voor Biotechnologie" (VIB, Ghent, Belgio), 7-9 giugno 2021.
- 3) Abstract **"Soil-borne virus diseases in wheat: A threat that struggles to be fully recognized"** - Marra M., Matic S., Vaira A.M., Ceriotti A., Baldoni E., Matic S., Ratti C., Ravaglia S., Giordano M., Accotto G.P. – Comunicazione orale al convegno "Thinking differently about soil-borne disease management", organizzato dalla *Association of Applied Biologists* (UK), che si è tenuto online il 10 novembre 2021.
- 4) Abstract **"Fast and Sensitive Detection of Soil-Borne Cereal Mosaic Virus in Leaf Crude Extract of Durum Wheat"** - Marra, M.; D'Errico, C.; Montemurro, C.; Ratti, C.; Baldoni, E.; Matic, S.; Accotto, G.P. - Comunicazione orale al convegno "International Advances in Plant Virology 2022, Ljubljana, Slovenia, 5-7 ottobre 2022.
- 5) Abstract **"Exploiting the potential of global durum panel for plant and human health"** - Pirona R., Tafuri A., Marra M., Fricano A., Ravaglia S., Mazzucotelli E., Matic S., Accotto G.P., Ceriotti A., Baldoni E. Congress From Seed to Pasta IV – Bologna, ottobre 2022.
- 6) Abstract **"Exploiting the potential of global durum panel for plant and human health"** - Pirona R., Tafuri A., Accotto G.P., Fricano A., Ravaglia S., Giordano M., Marian D., Matic S., Marra M., Vaira A.M., Mazzucotelli E., Ceriotti A., Rhogayeh N., Baldoni E. – Presentazione poster al LXIV Convegno Annuale della Società italiana di Genetica Agraria (SIGA), che si è tenuto in modalità online dal 14 al 16 settembre 2021
- 7) Abstract **"Browsing in the global durum panel for resistance to soil-borne viruses"** - Marra M., Pirona R., Baldoni E., Matic S., Ceriotti A., Accotto G.P. - Presentazione poster al LXV Convegno Annuale della Società italiana di Genetica Agraria (SIGA), che si è tenuto a Piacenza dal 6 al 9 settembre 2022.
- 8) Abstract **"Editing of the durum wheat PDIL5-1 gene to increase resistance to soil-borne bymoviruses"** - Mallardi A., Liberatore C., Baldoni E., Ceriotti A., Lauria M. - Presentazione poster al LXV Convegno Annuale della Società italiana di Genetica Agraria (SIGA), che si è tenuto a Piacenza dal 6 al 9 settembre 2022.
- 9) Abstract **"Wheat viruses transmitted through the soil: how important for Italian durum wheat?"** - Marra M., Mussano P., Baldoni E., Montemurro C., Ratti C., Matic S., D'Errico C., Accotto G.P. - Presentazione poster al IV Convegno AISSA#under40, che si è tenuto a Fisciano il 12-13 luglio 2023.
- 10) Abstract **"Editing of the durum wheat PDIL5-1 gene to increase resistance to soil-borne bymoviruses"** Mallardi A., Liberatore C., Baldoni E., Ceriotti A., Lauria M. - Presentazione poster al LXVI Convegno Annuale della Società italiana di Genetica Agraria (SIGA), che si è tenuto a Bari dal 5 al 8 settembre 2023.
- 11) Abstract **"Testing a subset of the global durum wheat panel collection for resistance to soil-borne cereal mosaic virus"** - Marra M., Pirona R., Montemurro C., Ceriotti A., Baldoni E., Accotto G.P. - Presentazione poster al LXVI Convegno Annuale della Società italiana di Genetica Agraria (SIGA), che si è tenuto a Bari dal 5 al 8 settembre 2023.