Confagricoltura Cuneo

OP ASCOPIEMONTE

Foto Silvia Faraone

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

# PROGETTO DI RICERCA:
# Tecnologie innovative per il miglioramento del nocciolo (*Corylus avellana*)

Finanziamento richiesto a: Fondazione CRC
In attesa di valutazione

# PROPONENTI

- **Partner Operativi**

Confagricoltura Cuneo - Unione Provinciale Agricoltori,
(Roberto Abellonio, Direttore; Enrico Allasia, Presidente)

Ascopiemonte s.c.;
(Gianluca Griseri, Responsabile tecnico)

- **Partner Scientifico Italiano**

CREA, Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria
(Andrea Allavena, Ricercatore)

- **Partner Scientifici Stranieri**

Environmental and Plant Biosciences (EPB), School of Biological science, University of Essex, Gran Bretagna
(Professor Philip Mark Mullineaux)

Department of Plant Science, College of Biological Sciences, China Agricultural University, Beijing, China
(Professor Qi-Jun Chen)

**Perché, ora, un progetto di ricerca sul nocciolo**

La ricerca richiede tempi lunghi;
Necessità di produrre le conoscenze che permettano di operare velocemente  in futuro, in caso di emergenza.

## Obiettivi

L'obiettivo generale di questa proposta è mettere a punto tecniche innovative di miglioramento genetico del nocciolo, cultivar "Tonda Gentile Trilobata" tenendo in considerazione:

- le esigenze del mondo produttivo,

- le informazioni sulla biologia riproduttiva della specie,

- le informazioni genetiche e genomiche disponibili e da produrre,

- le più recenti conoscenze dei sistemi di correzione del DNA.

**VOI** produttori, industriali, commerciali, consumatori indicherete i problemi da risolvere

**NOI** ricercatori individueremo gli strumenti per dare delle risposte e proporremo delle soluzioni

# PERCHE’

## le tecnologie innovative per il miglioramento del nocciolo

| Anno | Tecnologie convenzionali | Tecnologie innovative |
|---|---|---|
| 0 | Incroci | Mutagenesi sito specifica |
| 5 | fioritura | |
| 8 | termine valutazione su pianta singola | |
| 9 | | Termine valutazione su piante ripetute |
| 10 | | Attività vivaistica |
| 16-17 | termine valutazione su piante ripetute | |
| 18 | Attività vivaistica | |

**COME SI OPERA**

con le tecnologie innovative di miglioramento

Si produce una correzione **puntiforme ed unica** nel DNA del nocciolo che determina la modifica di un carattere della pianta o del prodotto.

## QUALI CARATTERI POSSONO ESSERE MODIFICATI

Qualsiasi carattere della pianta ad eredità semplice: la resistenza alle malattie, agli insetti, agli stress; i componenti allergenici , i grassi del seme, l’autocompatibilità, numerosi altri caratteri.

Grazie per l’attenzione

## Attività prevista nel progetto

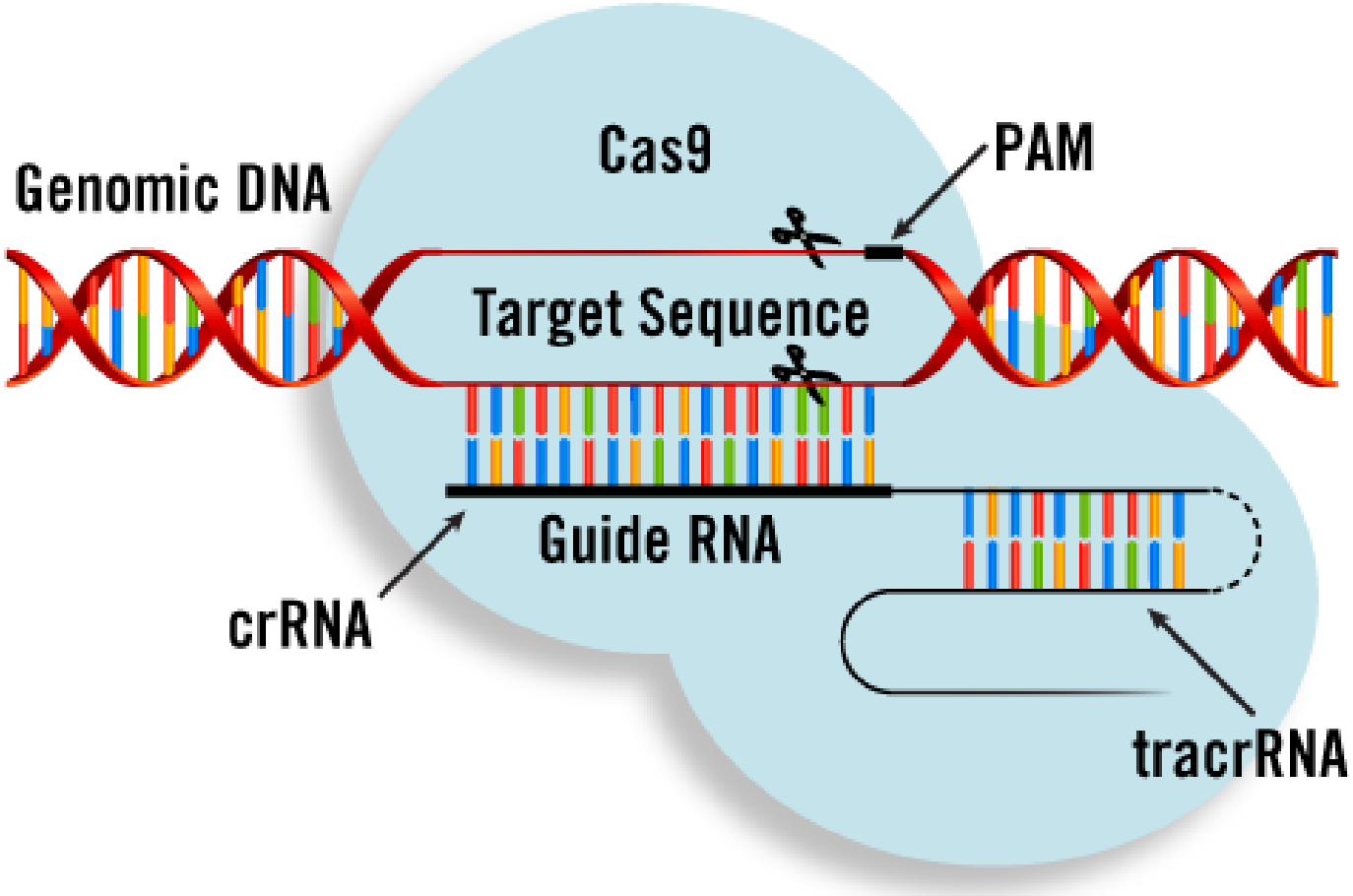
1) Creazione di databases del **trascrittoma di quattro tessuti** selezionati della cultivar proposta “Tonda Gentile Trilobata”. I quattro tessuti sono: gemme in attiva crescita, foglie, radici e frutti in sviluppo. In caso di abbassamento dei costi per il sequenziamento, sarà sequenziato in aggiunta il trascrittoma di fiori maschili e femminili.

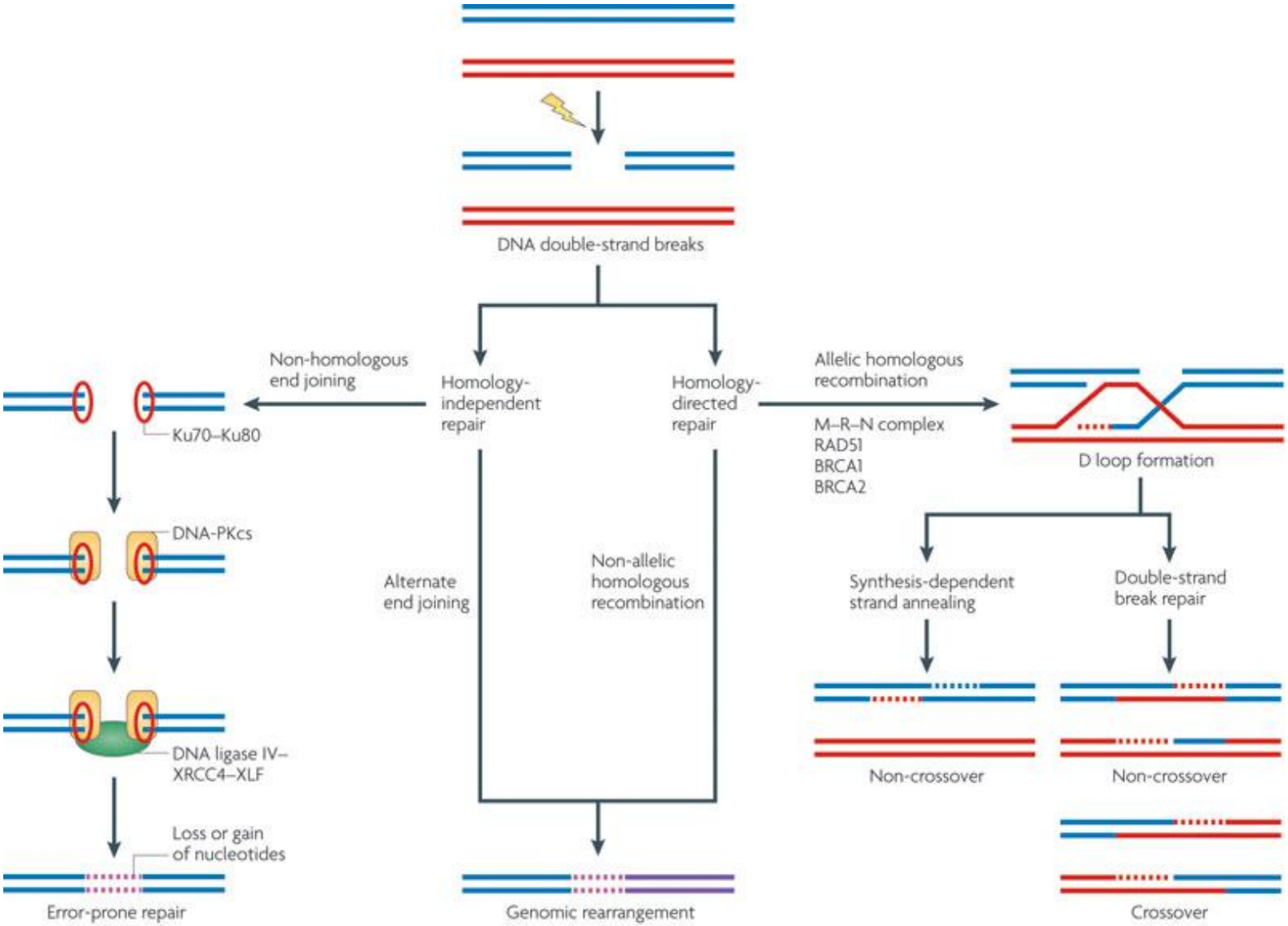
2) Messa a punto di un **metodo molecolare** di facile esecuzione e facile e veloce **per distinguere** il materiale di propagazione della “**Tonda Gentile Trilobata**” da altre cultivars e per identificare la percentuale di “Tonda Gentile Trilobata” in una partita di nocciole e nelle derrate alimentari.

3) Messa a punto di **metodi per l’espressione genica transiente** in *C. avellana* mediante infezione con *Agrobacterium tumefaciens (agroinfezione),* CPPs ricchi in arginina, peptoidi o vettori virali.

## Attività prevista nel progetto

4) Messa a punto di un metodo di **coltura di tessuti** per rigenerare piante da cellule somatiche.
5) Messa a punto di un metodo basato sulla **tecnologia CRISPR/Cas** per mutare geni di *C. avellana*.
6) Messa a punto di un metodo molecolare per **identificare le cellule target mutate**.
7) **Mutagenesi** sito-specifica **di almeno un gene di interesse** e recupero di piante complete.
8) I materiali vegetali derivati dalla mutazione sito specifica saranno controllati accuratamente per verificare **l'integrazione non intenzionale di DNA** esogeno nelle cellule di *C. avellana.*


Cas9
PAM
Genomic DNA
Target Sequence
Guide RNA
crRNA
tracrRNA

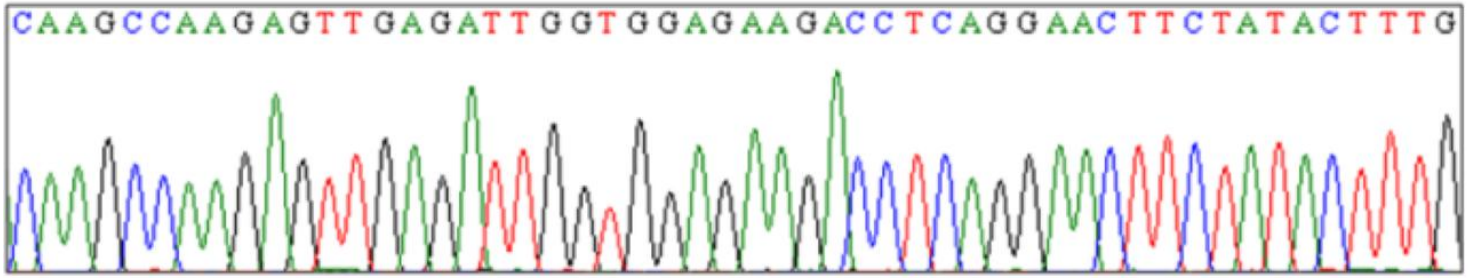



Nature Reviews | Genetics

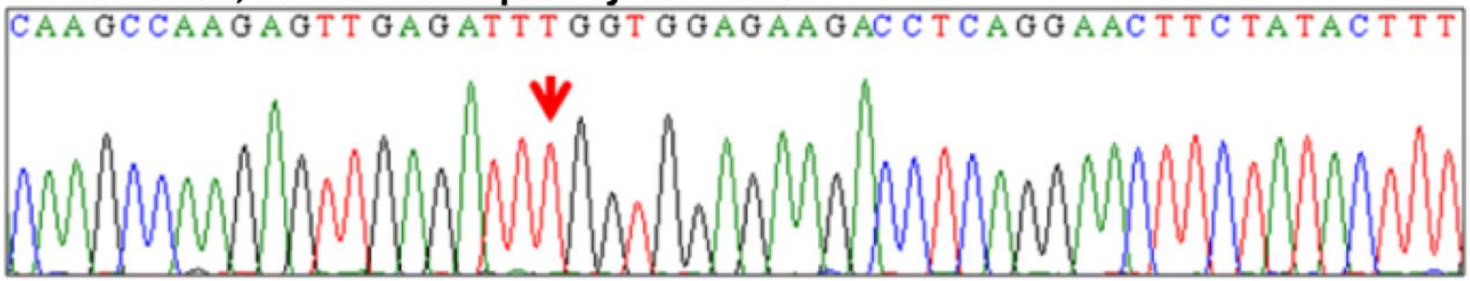
**b**

| | | Frequency (n=46) |
|---|---|---|
| GGTTCAAAACAAGCCAAGAGTTGAGAT TGGTGGAGAAGACCTCAGGAACTTCTATACTTTG | WT | |
| GGTTCAAAACAAGCCAAGAGTTGAGATTTGGTGGAGAAGACCTCAGGAACTTCTATACTTTG | +1 | 20 |
| GGTTCAAAACAAGCCAAGAGTTGAGATATGGTGGAGAAGACCTCAGGAACTTCTATACTTTG | +1 | 1 |
| GGTTCAAAACAAGCCAAGAGTTGAGAT -GGTGGAGAAGACCTCAGGAACTTCTATACTTTG | -1 | 4 |
| GGTTCAAAACAAGCCAAGAGTTGAGA- -GGTGGAGAAGACCTCAGGAACTTCTATACTTTG | -2 | 1 |
| GGTTCAAAACAAGCCAAGAGTTGAGAT ----GGAGAAGACCTCAGGAACTTCTATACTTTG | -4 | 1 |
| GGTTCAAAACAAGCCAAGAGTTG---- --GTGGAGAAGACCTCAGGAACTTCTATACTTTG | -6 | 2 |
| GGTTCAAAACAAGCCAAGAGTTGAGAT ---------AGACCTCAGGAACTTCTATACTTTG | -9 | 1 |
| GGTTCAAAACAAGCCAAGAGTTG---- ------AGAAGACCTCAGGAACTTCTATACTTTG | -10 | 1 |
| GGTTCAAAACAAGCCAAGAGTTGAGAT ----------ACTTTG | -28 | 1 |

**WT**




**+1 insertion; the most frequently identified**



Coloro che vogliono che il mondo continui ad essere quel che è, non vogliono che il mondo continui ad essere.

Those who want the world to continue as it is, do not want the world to continue.