

Convegno

LA FILIERA DEL RISO E LE SFIDE DELLA RAZIONALITA'

14 Settembre 2023

**Aula Maggiore della Facoltà di Scienze Agrarie e Alimentari
Via Celoria 2 – Milano**

**Biotecnologie e introduzione di
resistenze in riso**



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO

VITTORIA BRAMBILLA



DiSAA

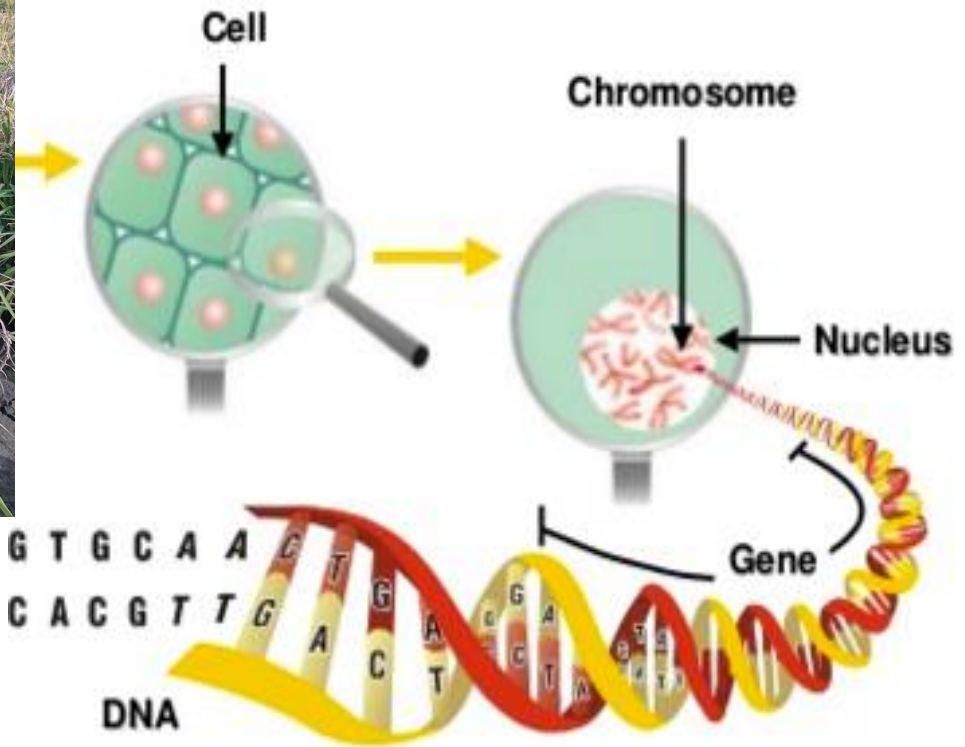
DIPARTIMENTO
di SCIENZE
AGRARIE e
AMBIENTALI

il più pericoloso patogeno del riso è
Pyricularia oryzae, che causa il brusone



Foto: Vercelli settembre 2020

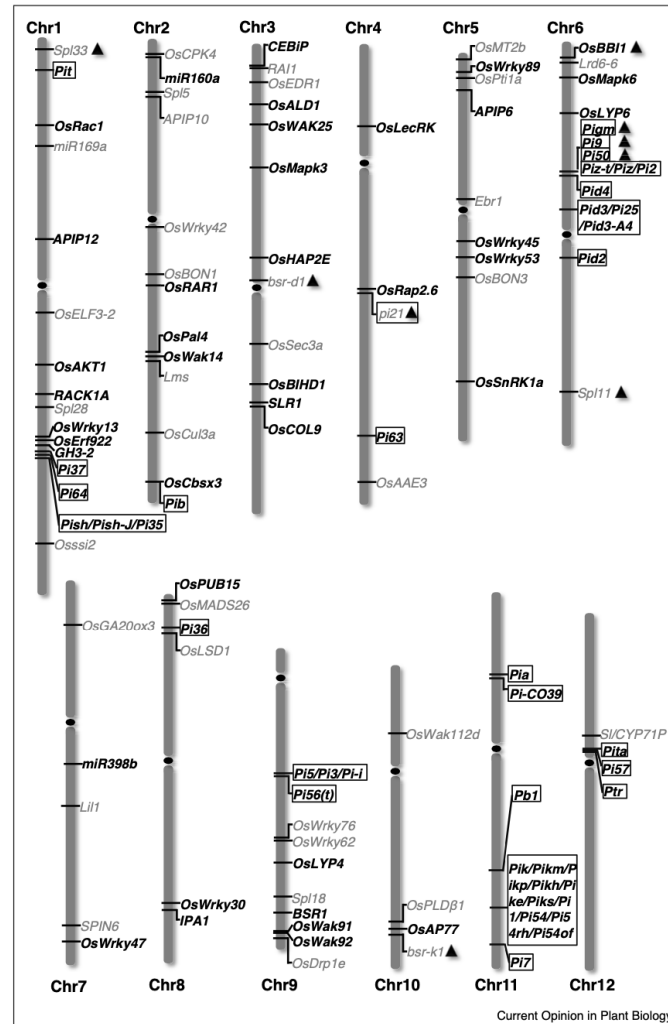
E' NECESSARIO INTRODURRE RESISTENZA GENETICA A BRUSONE NELLE VARIETA'



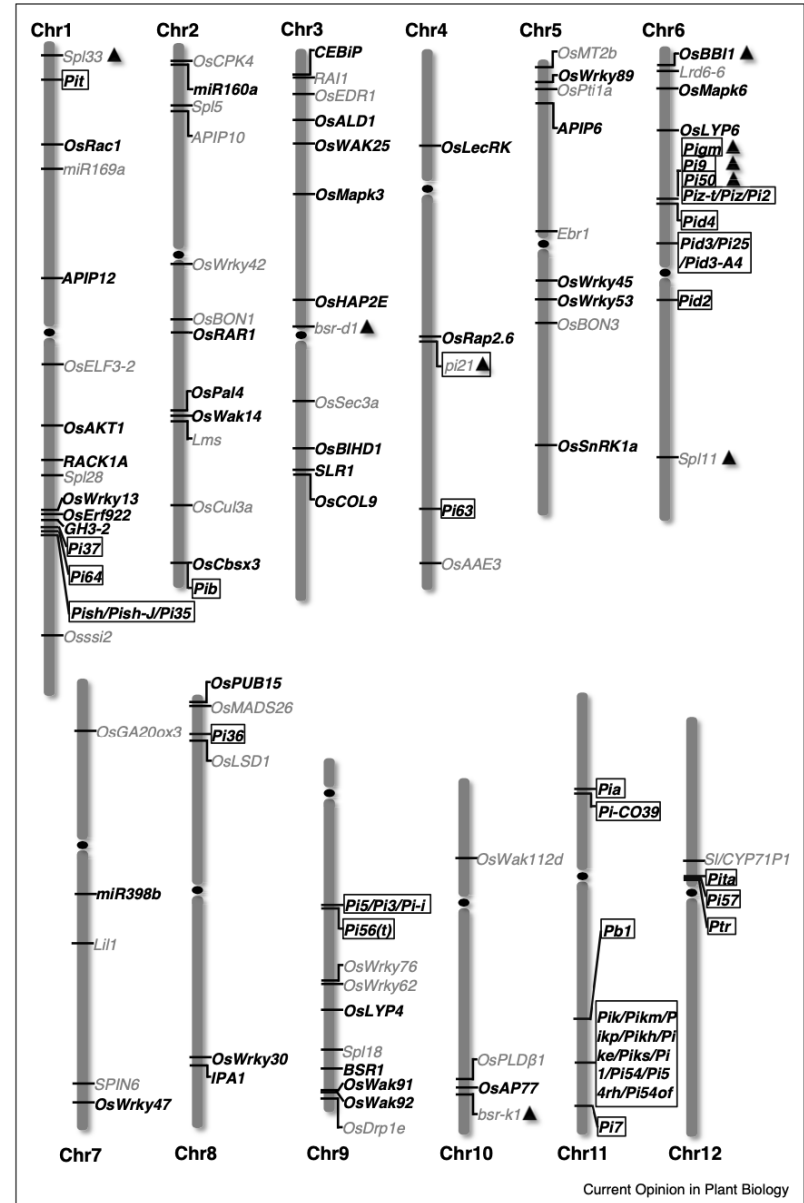
Riso: genoma diploide di 450Mb su 12 cromosomi

conosciamo le basi genetiche della resistenza

- Al momento sono noti circa 100 geni e 500 QTL associati alla resistenza a brusone
 - ALCUNI LOCI CONFERISCONO RESISTENZE AD AMPIO SPETTRO
- per circa 25 geni si conosce la FUNZIONE



- il fungo supera solitamente una singola resistenza in 3-5 anni
- è necessario introdurre resistenze multiple
- è importante introdurre resistenza senza causare un abbassamento della resa

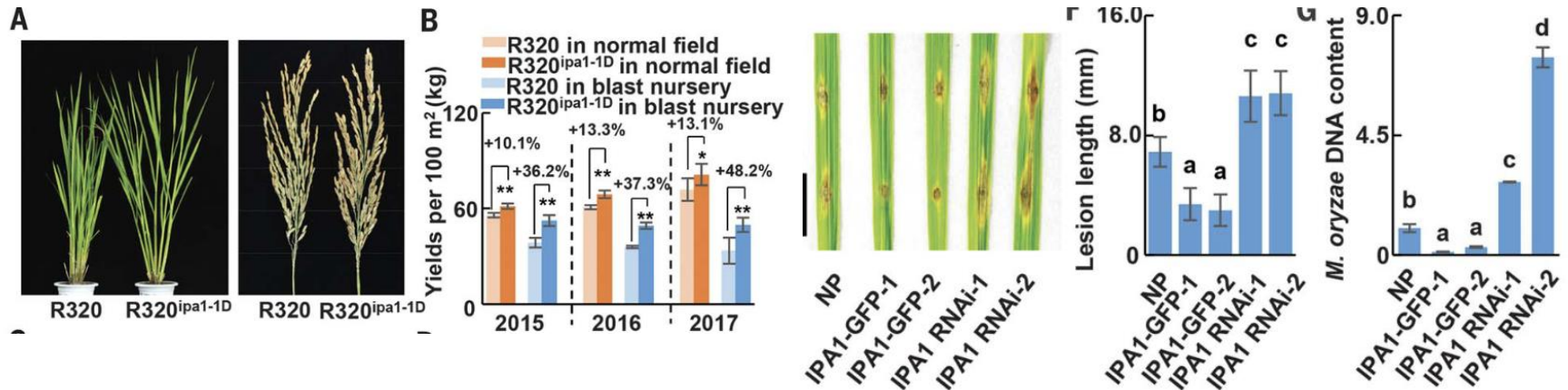


è importante introdurre resistenza genetica a brusone senza causare un abbassamento della resa

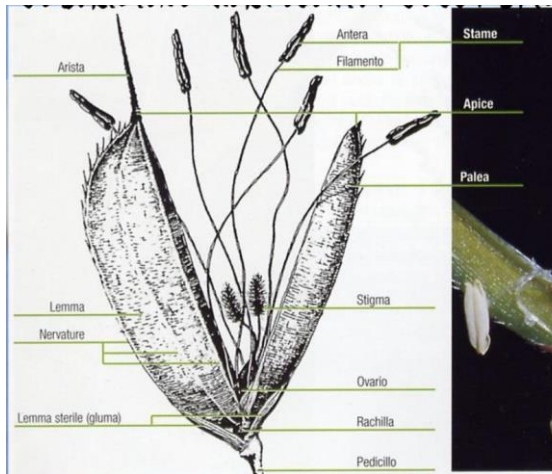
RESEARCH

PLANT SCIENCE

A single transcription factor promotes both yield and immunity in rice



COME INTRODURRE LE RESISTENZE? per incrocio



in riso: ci vogliono circa 8 anni per ottenere
una nuova varietà per incrocio – è complesso
introdurre resistenze multiple

grazie a:

1) la conoscenza dei geni

2) le TEA -

- Tecniche di Evoluzione Assistita-

possiamo produrre una varietà con
resistenze multiple **IN UNA SOLA**
GENERAZIONE

Le TEA hanno avuto crescente importanza negli ultimi anni.

Per TEA intendiamo:

1) CISGENESI

2) Genome editing

1) CISGENESI

inserimento di un tratto di DNA da una specie sessualmente compatibile



permette di inserire varianti

Emmanuelle Charpentier

2) Genome Editing

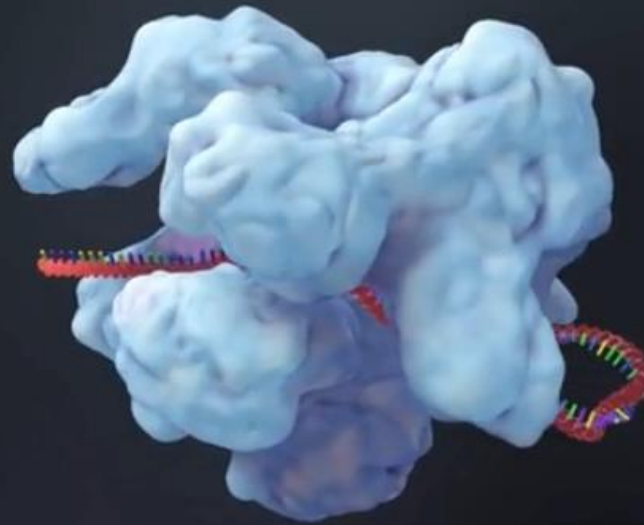
CRISPR/Cas9

Premio Nobel per
la Chimica 2020



Jennifer Doudna

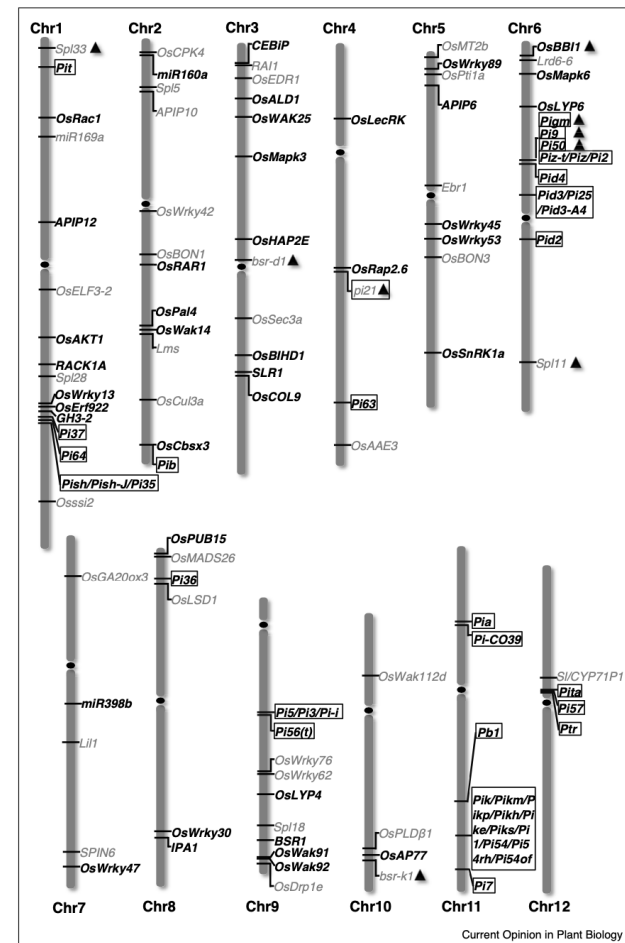
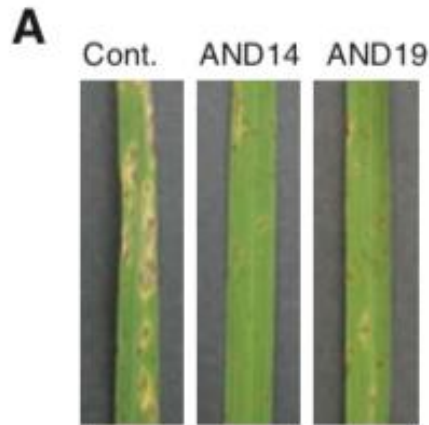
Cas9 Complex



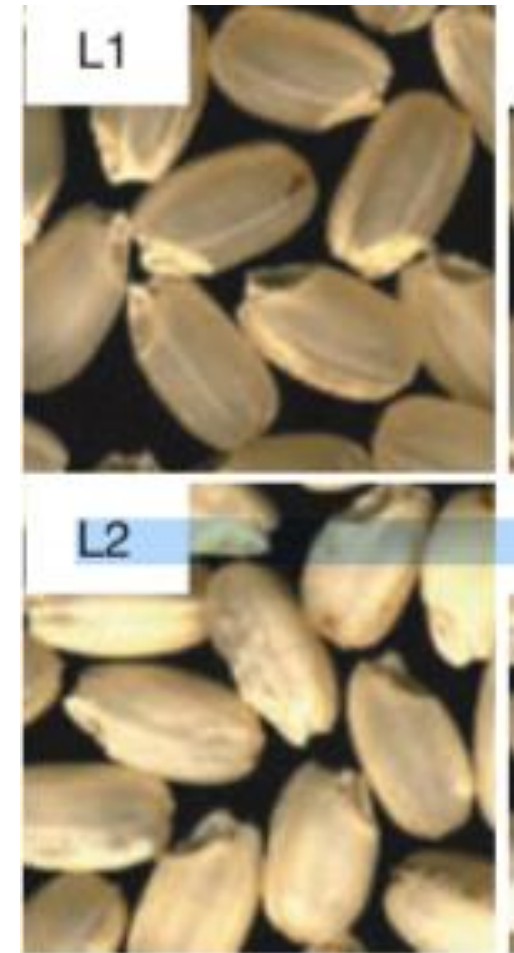
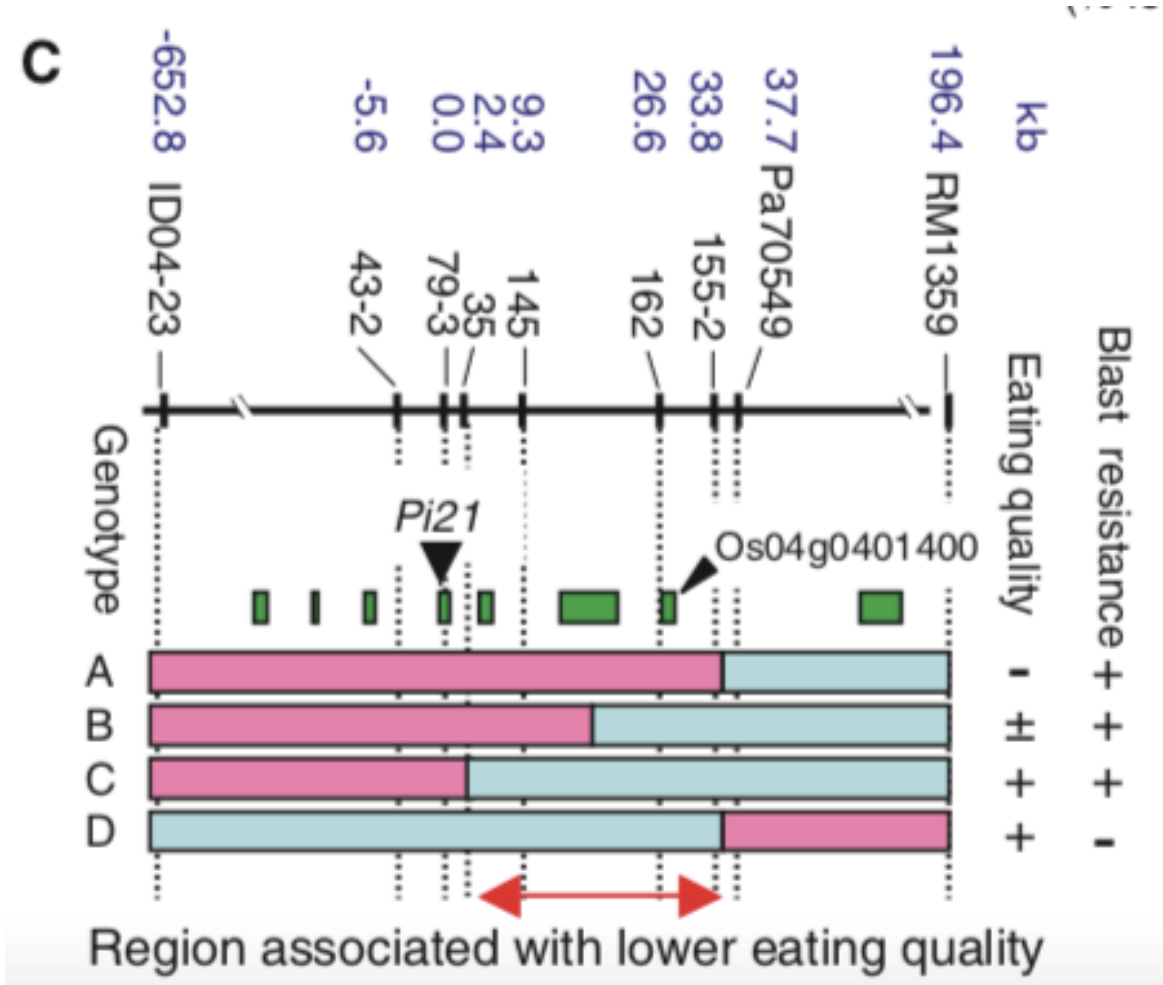
da molti anni è noto un allele recessivo in *Pi21* che conferisce resistenza durevole a brusone

Loss of Function of a Proline-Containing Protein Confers Durable Disease Resistance in Rice

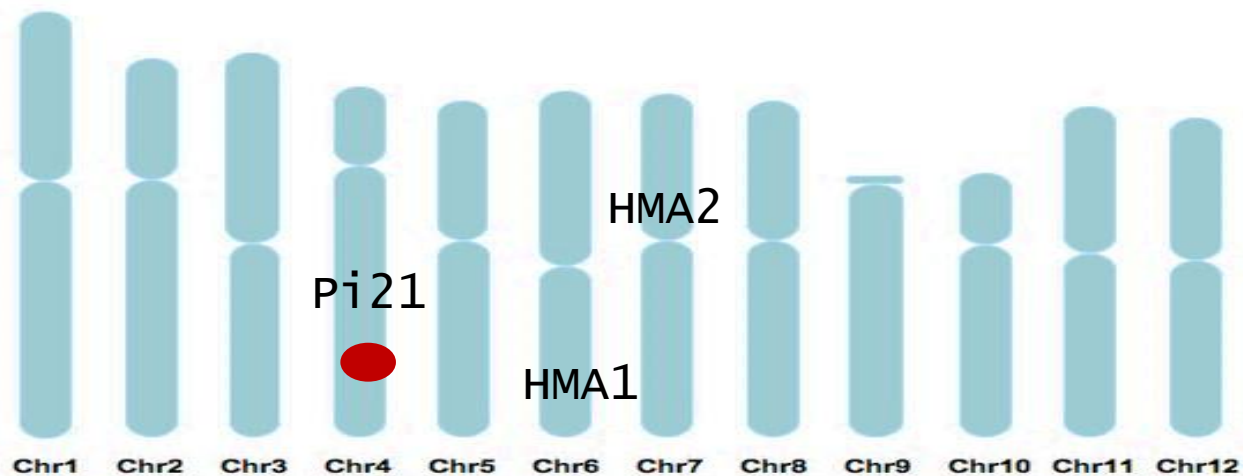
Shuichi Fukuoka,^{1*} Norikuni Saka,² Hironori Koga,³ Kazuko Ono,¹ Takehiko Shimizu,⁴ Kaworu Ebana,¹ Nagao Hayashi,⁵ Akira Takahashi,⁵ Hirohiko Hirochika,⁶ Kazutoshi Okuno,⁷ Masahiro Yano¹



Pi21 non è stato utilizzato dai breeder perché associato ad una granello di cattiva qualità



nel 2017 abbiamo inserito con CRISPR la mutazione in *Pi21* e altri due geni simili in una varietà tipo Arborio



● influisce negativamente sulla qualità della granella



SENZA ALTERARE LA
QUALITA' DELLA GRANELLA

TheSainsburyLaboratory
TSL

confidiamo di fare le prime
sperimentazioni in campo nel 2024



FONDAZIONE BUSSOLERA BRANCA

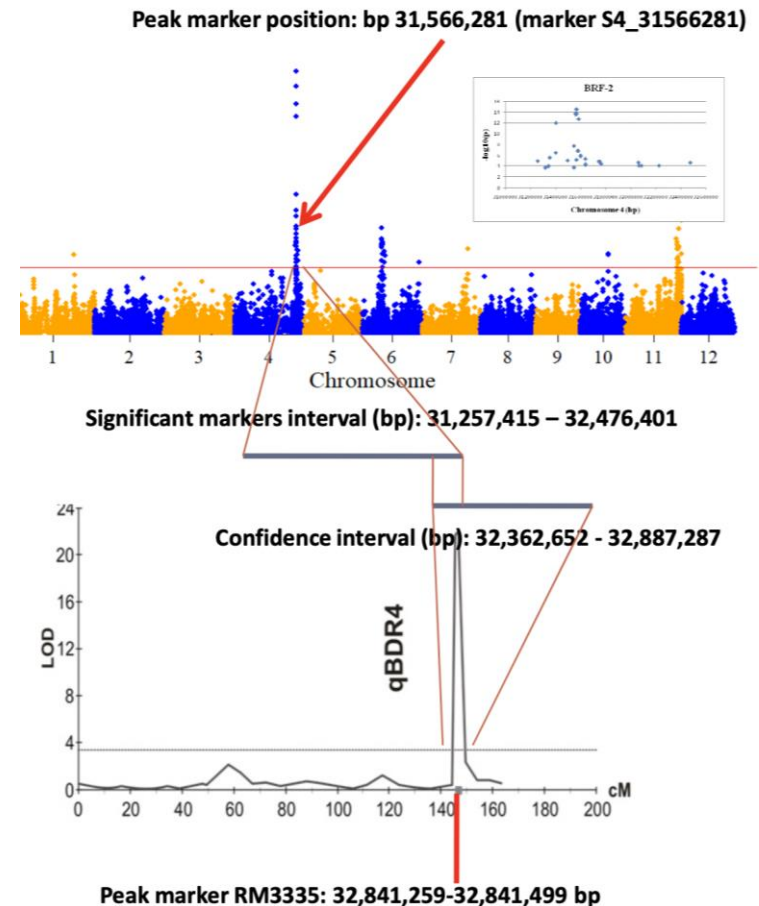
Un altro gene probabilmente coinvolto nella resistenza a brusone

identificato da:

- Giampiero Valè Università del Piemonte Orientale, Vercelli
- Blanca San Segundo CRAG, Barcellona, Spagna



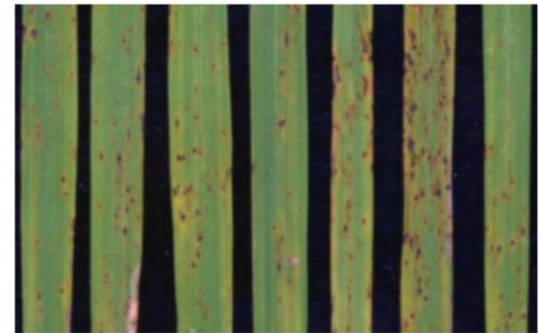
UNIVERSITÀ DEL PIEMONTE ORIENTALE



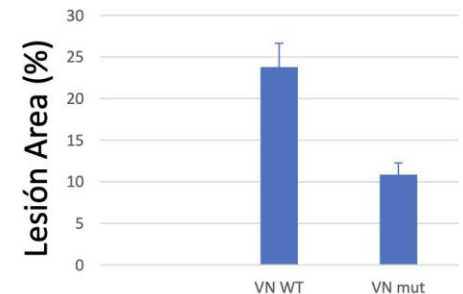
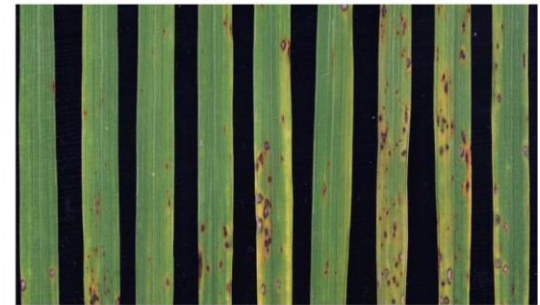
Un altro gene probabilmente coinvolto nella resistenza a brusone

LINEE CRISPR FATTE DA Giulia Ave Bono sembrano essere più resistenti

VN
(Azy)



CRISPR



Altri patogeni: resistenza ad ampio spettro a *Xantomonas oryzae*








ARTICLES

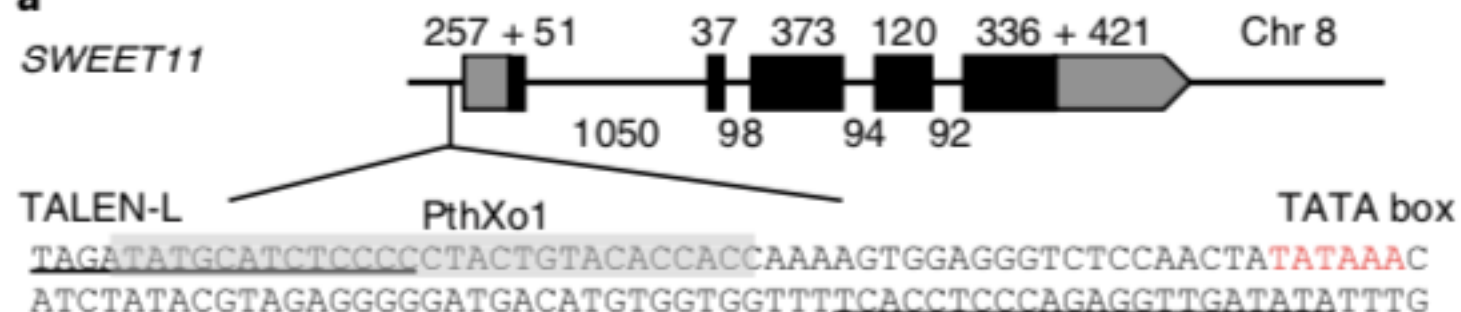
<https://doi.org/10.1038/s41587-019-0267-z>

nature
biotechnology

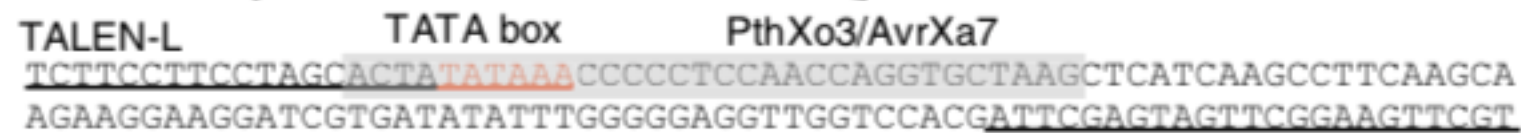
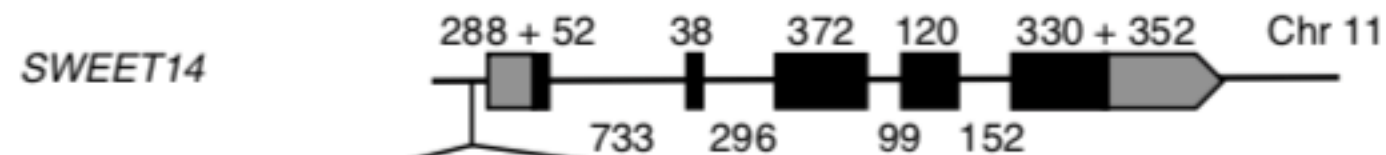
OPEN

Broad-spectrum resistance to bacterial blight in rice using genome editing

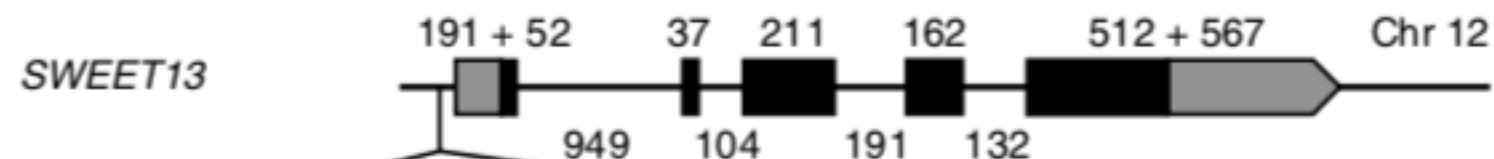
Ricardo Oliva ^{1,12*}, Chonghui Ji^{2,12}, Genelou Atienza-Grande^{1,10,12}, José C. Huguet-Tapia^{3,12},
Alvaro Perez-Quintero ^{4,11,12}, Ting Li ⁵, Joon-Seob Eom⁶, Chenhao Li², Hanna Nguyen ¹,
Bo Liu², Florence Auguy⁴, Coline Sciallano⁴, Van T. Luu⁶, Gerbert S. Dossa⁷, Sébastien Cunnac⁴,
Sarah M. Schmidt⁶, Inez H. Slamet-Loedin¹, Casiana Vera Cruz¹, Boris Szurek⁴, Wolf B. Frommer ^{6,8*},
Frank F. White ³ and Bing Yang ^{2,9*}

a

TALEN-R



TALEN-R



GTCCTA**TATAAAA**GCACCACAACCTCCCTTC**G**TTCTCTCCAAG IR24

GTCCTA**TATAAA**-GCACCACAACCTCCCTTC**A**TTCTCTCCAAG Kitaake

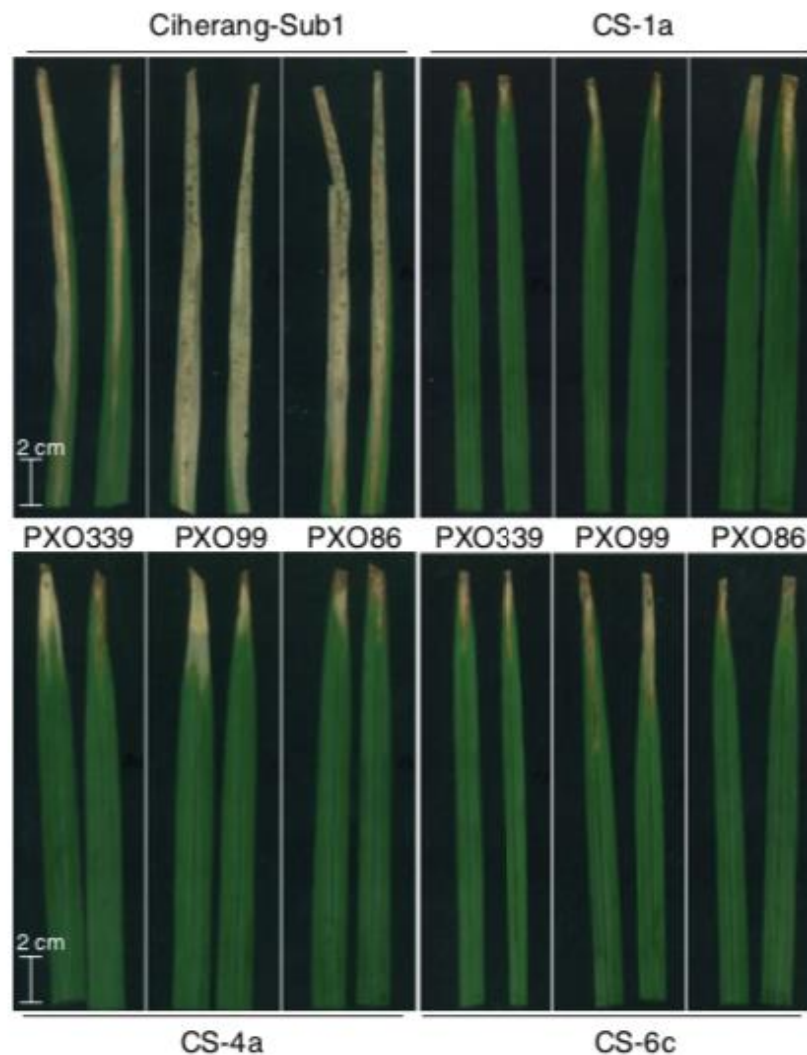


Fig. 6 | Resistance of three genome-edited Ciherang-Sub1 lines to three representative *Xoo* strains. Appearance of lesions resulting from clipping leaf tips using scissors that had been dipped into bacterial cultures of three different *Xoo* strains (PXO339, PXO99 and PXO86, as indicated), for three genome-edited Ciherang-Sub1 mutant lines CS-1a, CS-4a and CS-6c (T2 generation) as compared to the parental control (Ciherang-Sub1). The

Situazione legislativa in Europa

SENTENZA della Corte di Giustizia del 25 luglio 2018: PIANTE CRISPR = OGM



Reports of Cases

JUDGMENT OF THE COURT (Grand Chamber)

25 July 2018*

(Reference for a preliminary ruling — Deliberate release of genetically modified organisms into the environment — Mutagenesis — Directive 2001/18/EC — Articles 2 and 3 — Annexes I A and I B — Concept of ‘genetically modified organism’ — Techniques/methods of genetic modification conventionally used and deemed to be safe — New techniques/methods of mutagenesis — Risks for human health and the environment — Discretion of the Member States when transposing the directive — Directive 2002/53/EC — Common catalogue of varieties of agricultural plant species — Herbicide-tolerant plant varieties — Article 4 — Acceptability of genetically modified varieties obtained by mutagenesis for inclusion in the common catalogue — Human health and environmental protection requirement — Exemption)

In Case C-528/16,



Regione Lombardia

LA GIUNTA

DELIBERAZIONE N° XI / 7526

Seduta del 15/12/2022

Presidente

ATTILIO FONTANA

Assessori regionali FABRIZIO SALA *Vicepresidente*

GUIDO BERTOLASO

STEFANO BOLOGNINI

DAVIDE CARLO CAPARINI

RAFFAELE CATTANEO

MELANIA DE NICHILLO RIZZOLI

PIETRO FORONI

STEFANO BRUNO GALLI

GUIDO GUIDESI

ROMANO MARIA LA RUSSA

ELENA LUCCHINI

LARA MAGONI

ALAN CHRISTIAN RIZZI

FABIO ROLFI

MASSIMO SERTORI

CLAUDIA MARIA TERZI

Con l'assistenza del Segretario Enrico Gasparini

Su proposta dell'Assessore Fabio Rolfi

Oggetto

DETERMINAZIONI IN ORDINE ALLA SPERIMENTAZIONE IN CAMPO APERTO DI NUOVE VARIETA' VEGETALI D'INTERESSE AGRARIO OTTENUTE CON NUOVE TECNICHE GENETICHE (NGT)

LEGGI ED ALTRI ATTI NORMATIVI

DECRETO-LEGGE 14 aprile 2023, n. 39.

Disposizioni urgenti per il contrasto della scarsità idrica e per il potenziamento e l'adeguamento delle infrastrutture idriche.

Testo in vigore dal: 14-6-2023

[aggiornamenti all'articolo](#)

Art. 9-bis

((Disposizioni urgenti in materia di genetica agraria).))

((1. Per consentire lo svolgimento delle attività di ricerca presso siti sperimentali autorizzati, a sostegno di produzioni vegetali in grado di rispondere in maniera adeguata a condizioni di scarsità idrica e in presenza di stress ambientali e biotici di particolare intensità, nelle more dell'adozione, da parte dell'Unione europea, di una disciplina organica in materia, l'autorizzazione all'emissione deliberata nell'ambiente di organismi prodotti con tecniche di editing genomico mediante mutagenesi sito-diretta o di cisgenesi a fini sperimentali e scientifici e' soggetta, fino al 31 dicembre 2024, alle disposizioni di cui al presente articolo.

Proposta della Commissione Europea per una normativa TEA differente da OGM



Brussels, 5.7.2023
COM(2023) 411 final

2023/0226 (COD)

Proposal for a

REGULATION OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL

**on plants obtained by certain new genomic techniques and their food and feed, and
amending Regulation (EU) 2017/625**

(Text with EEA relevance)

{SEC(2023) 411 final} - {SWD(2023) 411 final} - {SWD(2023) 412 final} -
{SWD(2023) 413 final}