



fondazione
banfi

IX Edizione
SUMMER SCHOOL SANGUIS JOVIS

ARTIFICIALE

Quando la mano dell'uomo migliora la natura



Con l'incrocio, l'evoluzione e' nelle mani dell'uomo

Prof.ssa Gabriella De Lorenzis



Milano



gabriella.delorenzis@unimi.it



+39 02 50316565



DiSAA

DIPARTIMENTO
di SCIENZE
AGRARIE e
AMBIENTALI



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO



fondazione banfi

SANGUIS JOVIS
ALTA SCUOLA DEL SANGOVESE

Il concetto di miglioramento genetico

Il miglioramento genetico delle piante è definito come la scienza che modifica le caratteristiche genetiche delle piante allo scopo di creare tipi vegetali desiderati, meglio adattati alla coltivazione, ad esempio con resa più elevata, resistenza alle malattie o agli stress abiotici.

È una scienza e un'arte che mira a migliorare le piante coltivate attraverso lo studio e l'applicazione di:

- genetica,
- agronomia,
- statistica,
- fisiologia vegetale,
- patologia vegetale,
- e altre scienze affini.



Perche' fare miglioramento genetico?



2030 Targets for sustainable

PESTICIDES



Reduce the overall use and risk of chemical and hazardous pesticides

NUTRIENT LOSSES



Reduce nutrient losses by 50% whilst retaining soil fertility, resulting in 20% less fertilisers

ANTIMICROBIALS



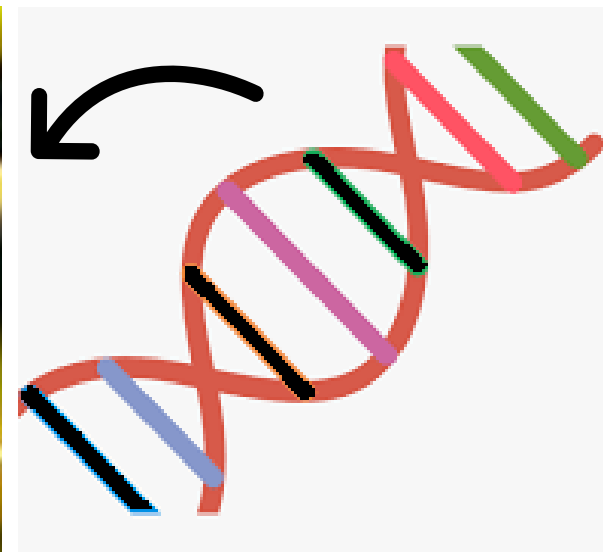
Reduce sales of antimicrobials for farmed animals and aquaculture



La strategia “Farm to Fork” è il cuore del European Green Deal che ha lo scopo di rendere il sistema alimentare giusto, sano e rispettoso dell'ambiente.

Il DNA: il libro di ogni organismo

Contiene tutte le istruzioni per costruire e far funzionare un essere vivente, come la vite



fondazione banfi

SANGUIS JOVIS
ALTA SCUOLA DEL SANGIOVESE

Come fare miglioramento genetico?

Breeding convenzionale

Limitato agli incroci tra specie uguali o molto affini

Nessuna garanzia di ottenere una combinazione genica specifica tra milioni di incroci

I geni indesiderati possono essere trasferiti insieme a quelli desiderati

Occorrono molti anni per ottenere i risultati sperati

Ingegneria genetica

Permette il trasferimento diretto o la mutazione di uno o pochi geni

Può avvenire in tempi più brevi rispetto al miglioramento convenzionale

Possibilità di disattivare o eliminare geni specifici

Simili, ma differenti!



fondazione banfi

SANGUIS JOVIS
ALTA SCUOLA DEL SANGOVESE

Quanto puo' durare un programma di MG?

Breeding convenzionale

Circa 20-25 anni per ottenere un nuovo genotipo

Meno di 20-25 anni, se si utilizzano marcatori per la selezione assistita (MAS)

Meno di 20-25 anni, se è disponibile materiale di pre-breeding

Ingegneria genetica

Di sicuro meno di 20-25 anni!

In teoria, non più di 3 anni

Dipende dall'efficienza di trasformazione e rigenerazione



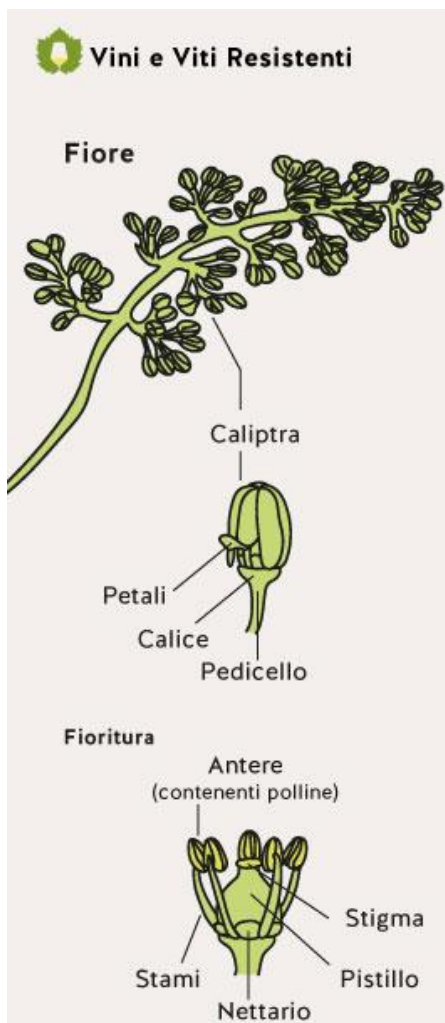
fondazione banfi

SANGUIS JOVIS
ALTA SCUOLA DEL SANG OVINO

Come si fa il miglioramento genetico tradizionale?

Si base sull'incrocio!

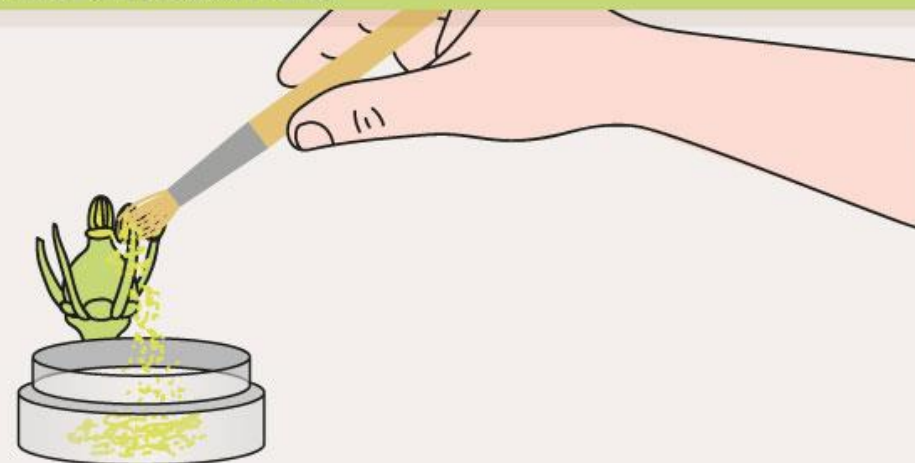
<https://www.vinievitiresistenti.it/2021/02/01/come-nasce-una-variet%C3%A0-resistente-piwi/>



INCROCIO DELIBERATO, IMPOLLINAZIONE

Genitore 2

Prelievo del polline



Genitore 1

Eliminazione Caliptra e Antere



Impollinazione
(Polline Genitore 2)



fondazione banfi
SANGUIS JOVIS
ALTA SCUOLA DEL SANGOVESE


www.vinievitiresistenti.it
Infografica ©Luca Gonzato

Uno dei punti chiave del miglioramento genetico tradizionale?



PIRAMIDIZZAZIONE DELLE RESISTENZE

Combinare più geni di resistenza per una protezione più forte e duratura



Geni di resistenza (R) —

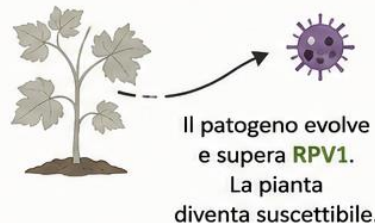


Geni di resistenza (Ren)



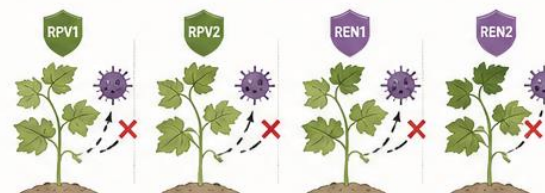
1. SINGOLO GENE DI RESISTENZA

Il patogeno può evolvere e superare la resistenza.



2. PIRAMIDIZZAZIONE (PIÙ GENI R)

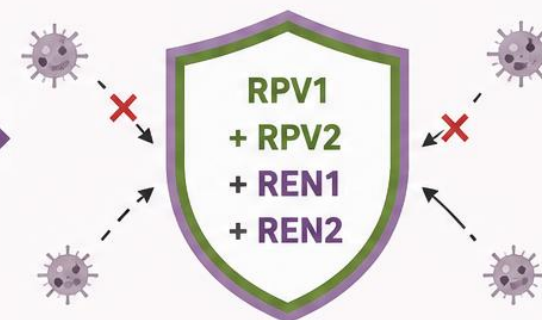
Il patogeno deve superare più barriere genetiche insieme.



Anche se il patogeno supera un gene (es. **RPV1**), gli altri (**RPV2**, **REN1**, **REN2**) continuano a proteggerla.

3. RISULTATO: RESISTENZA DUREVOLE

La combinazione di più geni rende molto difficile l'evoluzione del patogeno.



Maggiore efficacia, stabilità e durata della resistenza nel tempo.



IN SINTESI



La piramidizzazione combina più geni di resistenza con meccanismi diversi per proteggere la pianta.



+



+



+



=



Una strategia sostenibile per colture più resilienti e produttive.



Patogeno

--> Tentativo di infezione



Infezione bloccata



Geni R della famiglia RPV



Geni R della famiglia Ren



fondazione banfi

SANGUIS JOVIS
ALTA SCUOLA DEL SANGOVESE

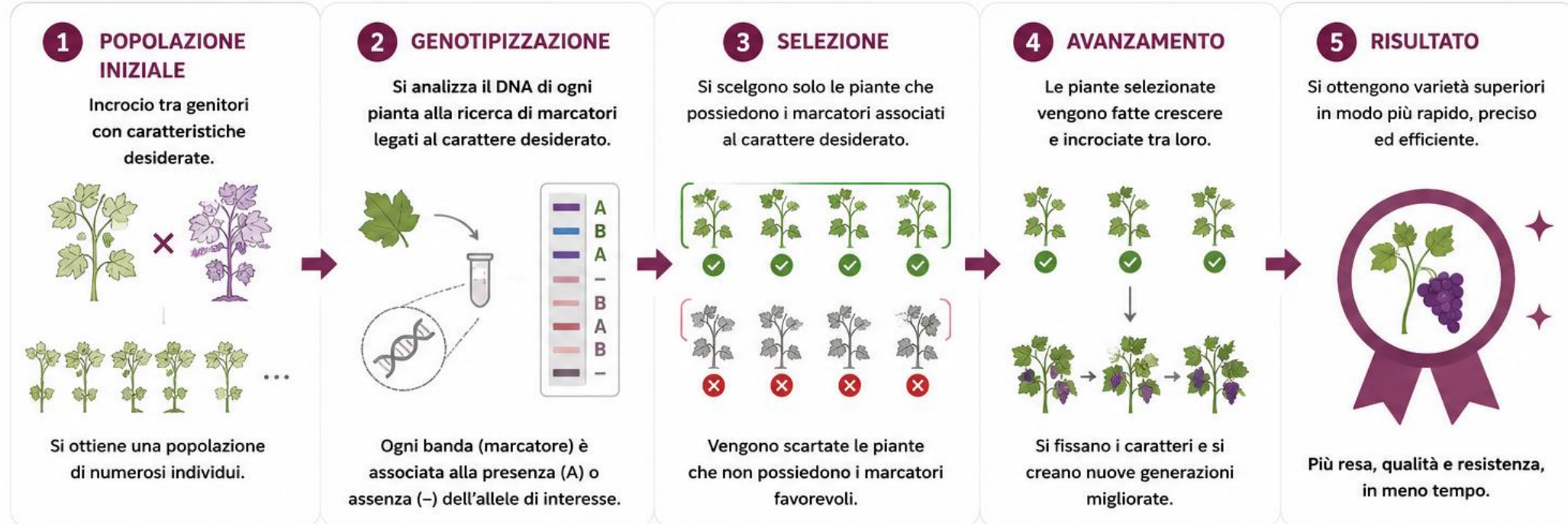


MAS – MARKER ASSISTED SELECTION

La selezione assistita da marcatori molecolari



La MAS permette di **selezionare le piante migliori** in base al loro **DNA**, senza dover aspettare che si esprimano i caratteri in campo.



PERCHÉ USARE LA MAS?



PIÙ VELOCE

Si seleziona in fase di plantula, senza aspettare la maturità o i risultati in campo.



PIÙ ACCRATA

I marcatori sono oggettivi e non influenzati dall'ambiente.



PIÙ EFFICIENTE

Si riducono tempi e costi, focalizzando le risorse solo sulle piante migliori.



PIÙ POSSIBILITÀ

Permette di combinare più caratteri (es. qualità e resistenza) nella stessa pianta.

LEGENDA



Pianta con marcatore favorevole



Pianta senza marcatore favorevole



Allele favorevole presente

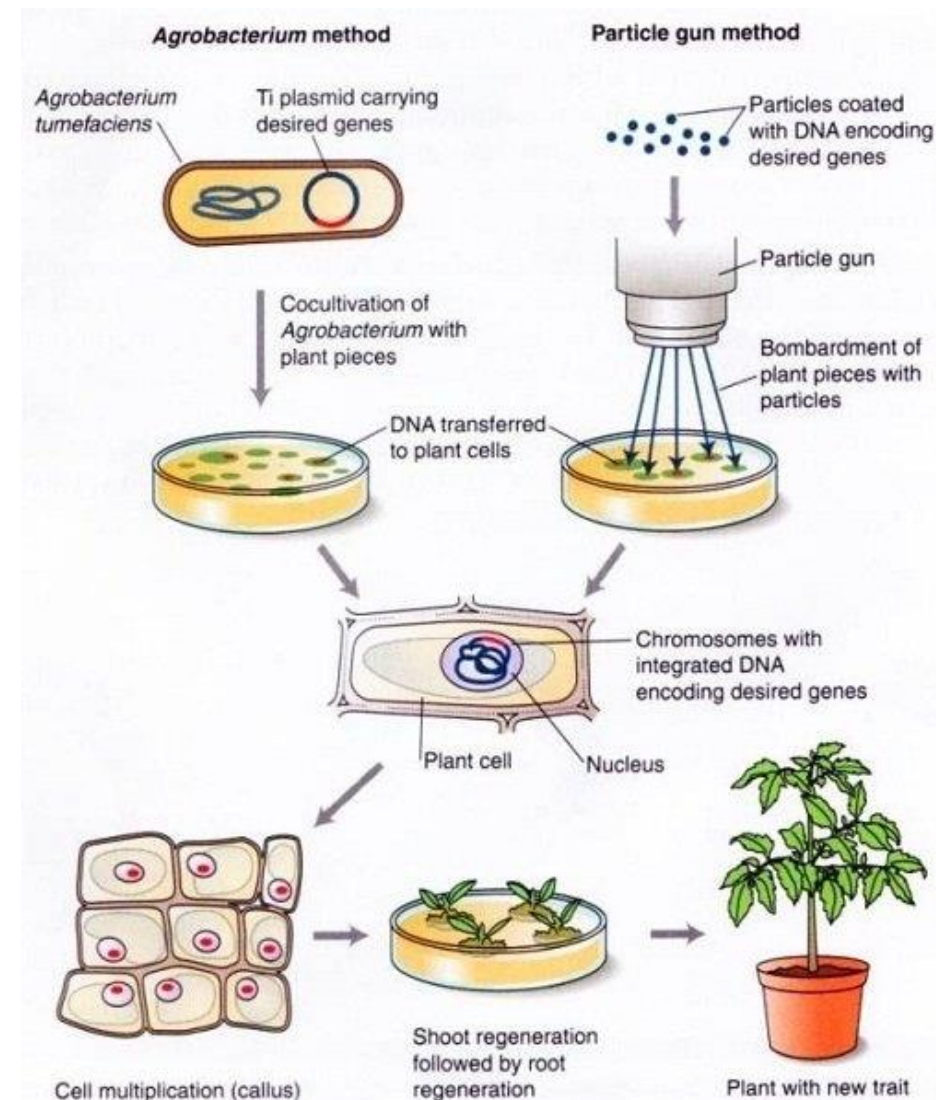


Allele favorevole assente

Come si fa il miglioramento genetico non tradizionale?

Si base sulla trasformazione del DNA!

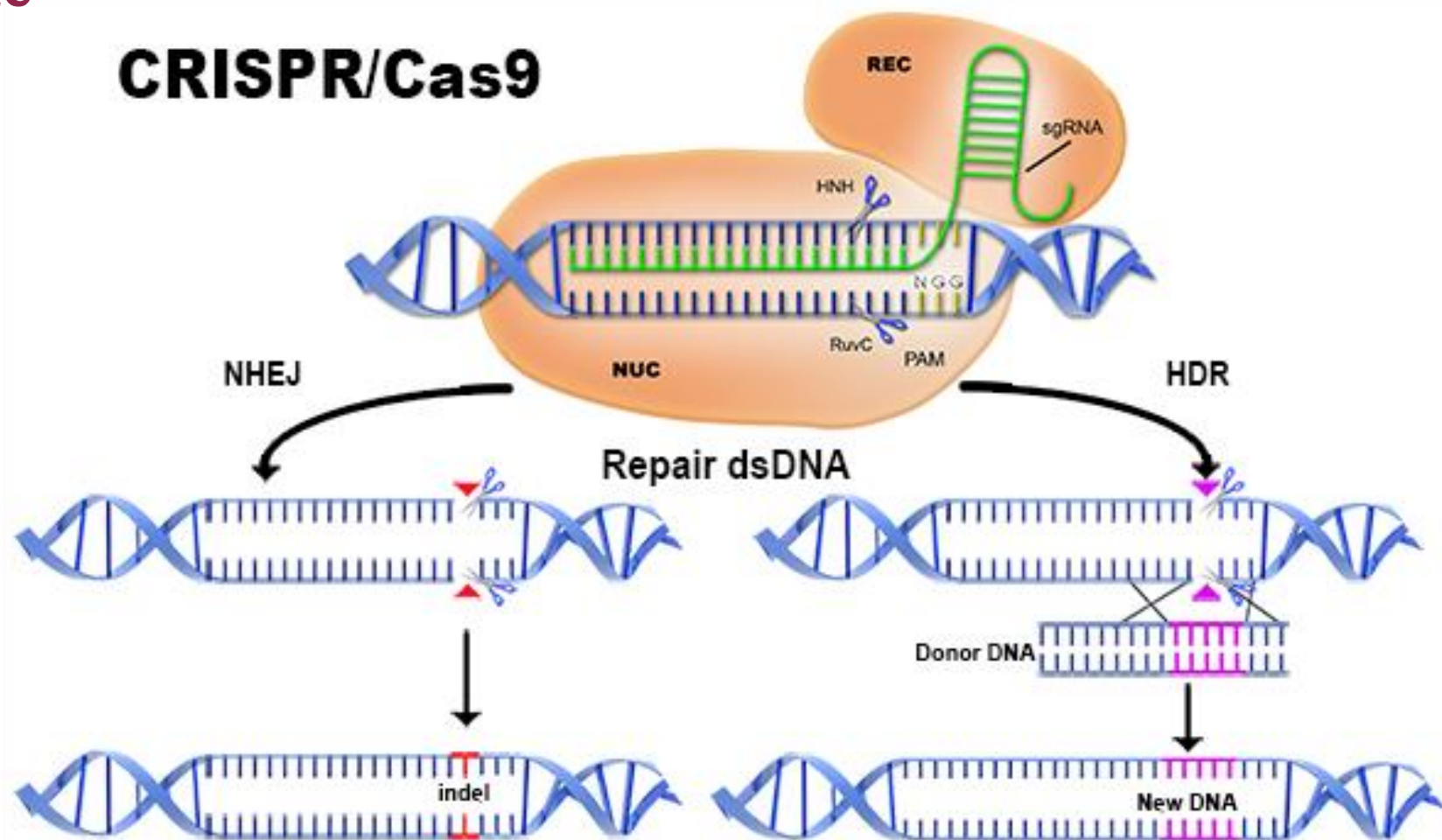
Un protocollo non proprio semplicissimo.



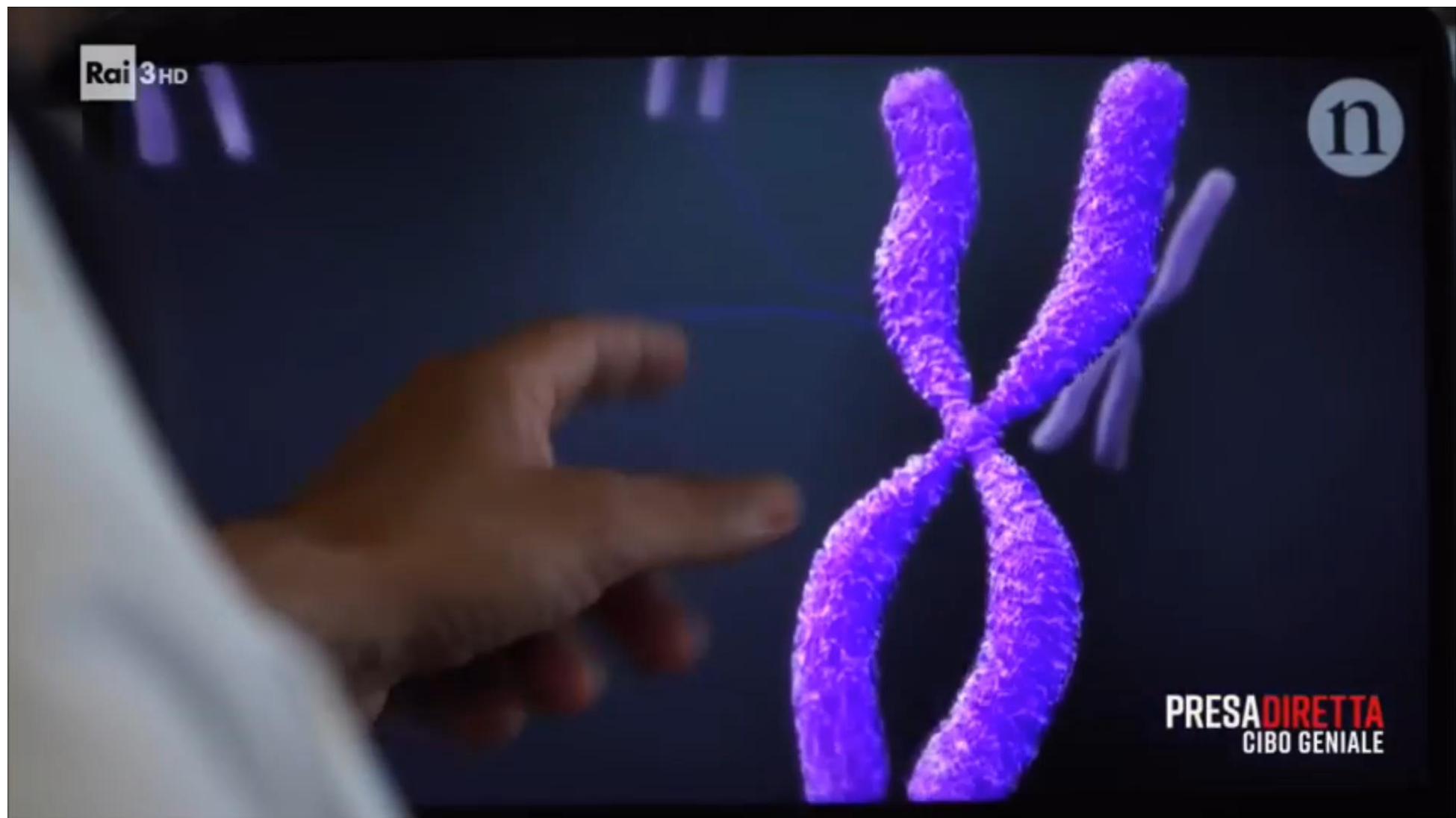
TEA: tecnologie di evoluzione assistita

La nuova frontiera del miglioramento genetico non tradizionale

Tramite le TEA (genome editing) è possibile disattivare uno specifico gene (knock out; Non-homologous end joining) o introdurre un gene esogeno in una cellula (knock in; Homology directed repair).



TEA: tecnologie di evoluzione assistita



fondazione banfi

SANGUIS JOVIS
ALTA SCUOLA DEL SANGUE

Un premio Nobel

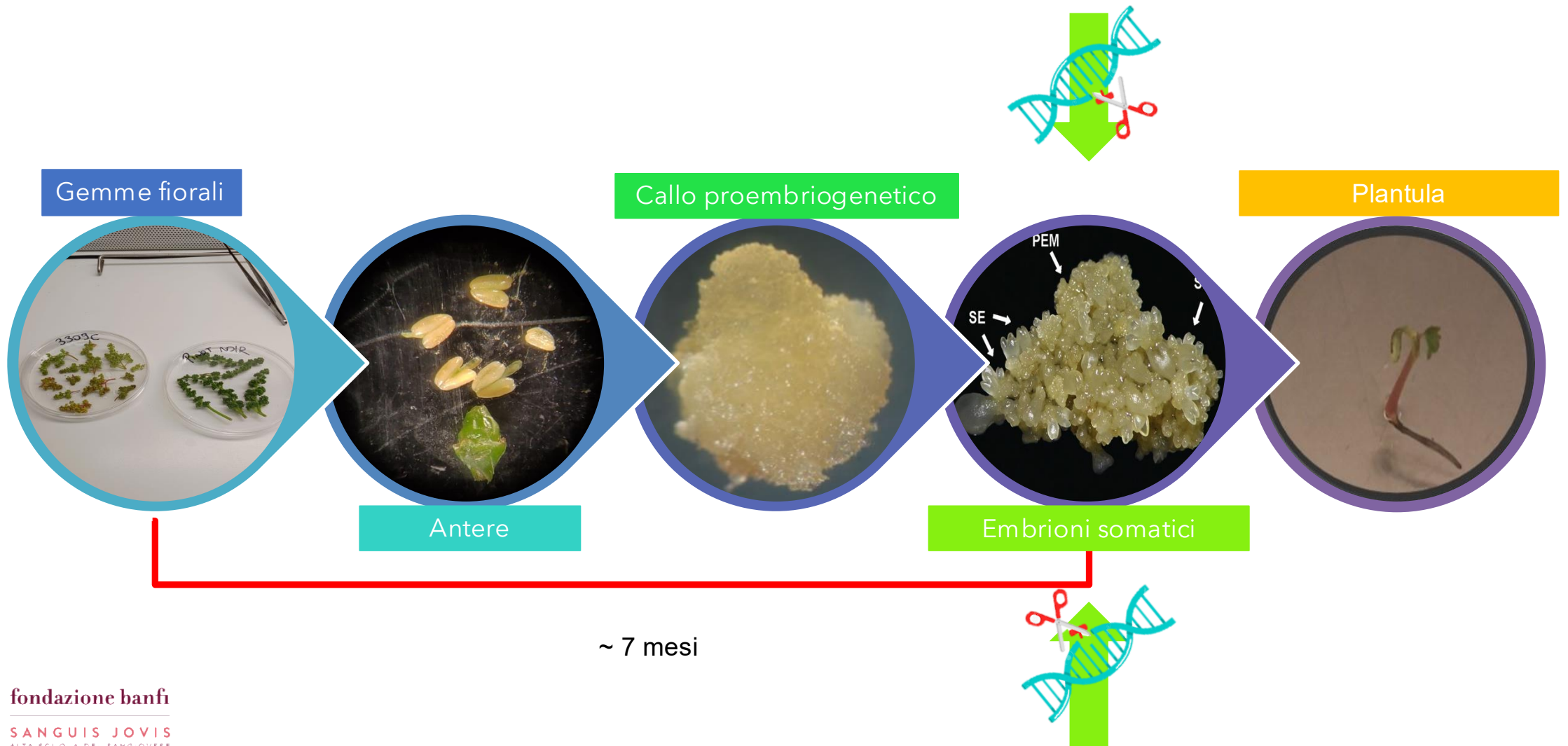
Emmanuelle Charpentier e Jennifer A. Doudna sono state premiate con il Nobel per la Chimica nel 2020



fondazione banfi

SANGUIS JOVIS
ALTA SCUOLA DEL SANGUE

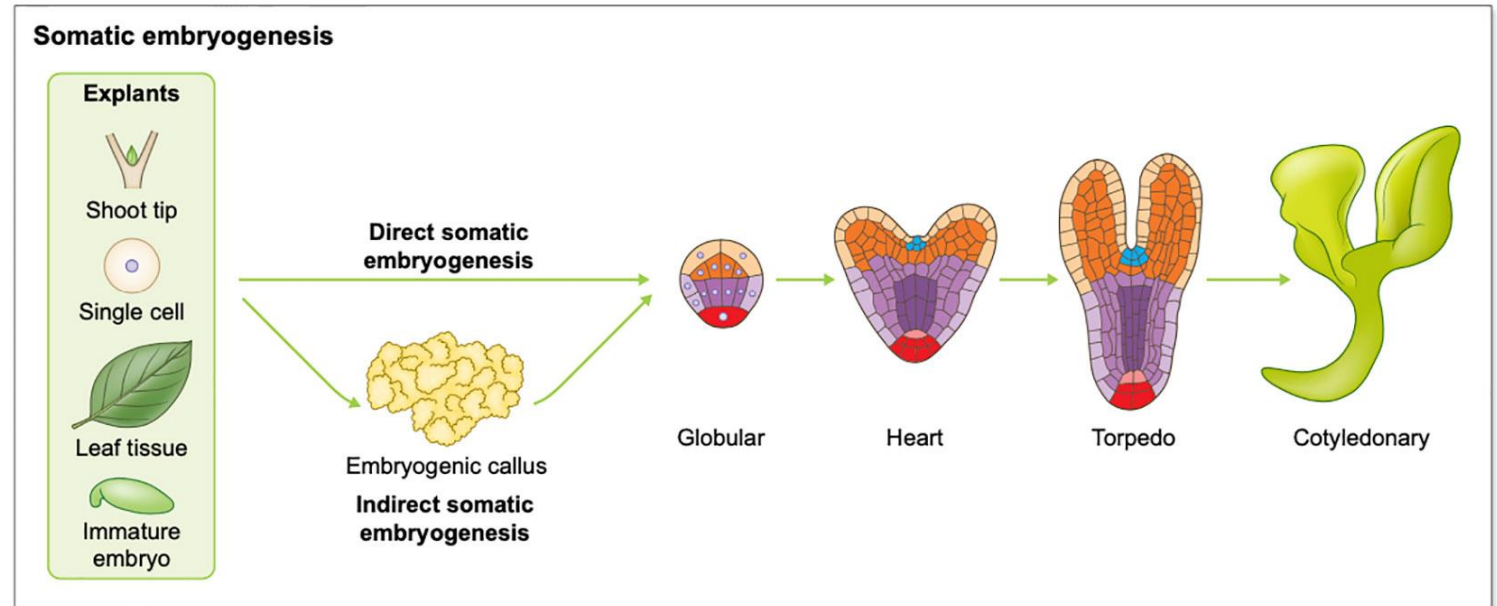
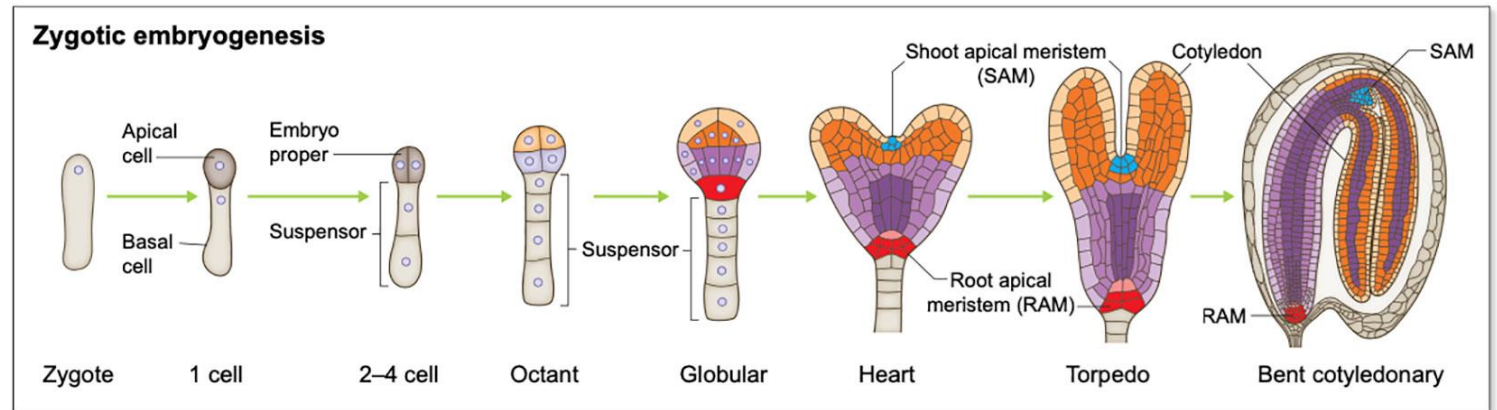
Come si fa il miglioramento genetico non tradizionale?



Somatic embryos

Because not all the species are able to regenerate a new plant from calli or explants or protoplasts, somatic embryos have to be developed.

Somatic embryos: zygotic-like embryos but obtained from somatic cells.





Perché gli embrioni somatici non bastano?

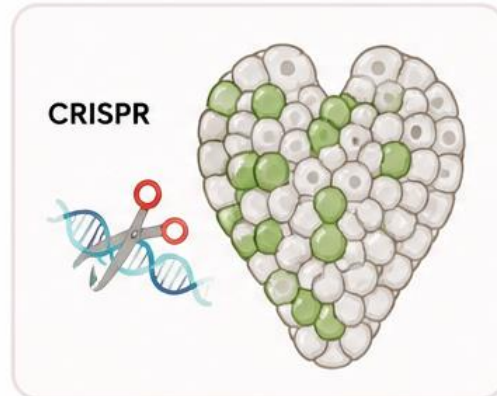


Il problema: il mosaico cellulare (chimera)



Se l'editing genetico non raggiunge tutte le cellule, la pianta rigenerata può essere chimerica: un mix di cellule editate e non editate.

1 Editing su tessuto multicellulare (embrione)



L'editing può avvenire solo in parte delle cellule dell'embrione.

2 Formazione dell'embrione somatico



L'embrione somatico è costituito da cellule con genotipo diverso: alcune **editate**, altre no.

3 Rigenerazione della pianta



Durante la rigenerazione, ogni parte della pianta deriva da cellule diverse dell'embrione: alcune **editate**, altre no.

4 Risultato: pianta chimera



! PIANTA CHIMERA
Cellule editate e non editate coesistono nella stessa pianta. Il carattere introdotto potrebbe non essere stabile né uniforme.



Cellula editata (modificata)



Cellula non editata (selvatica)



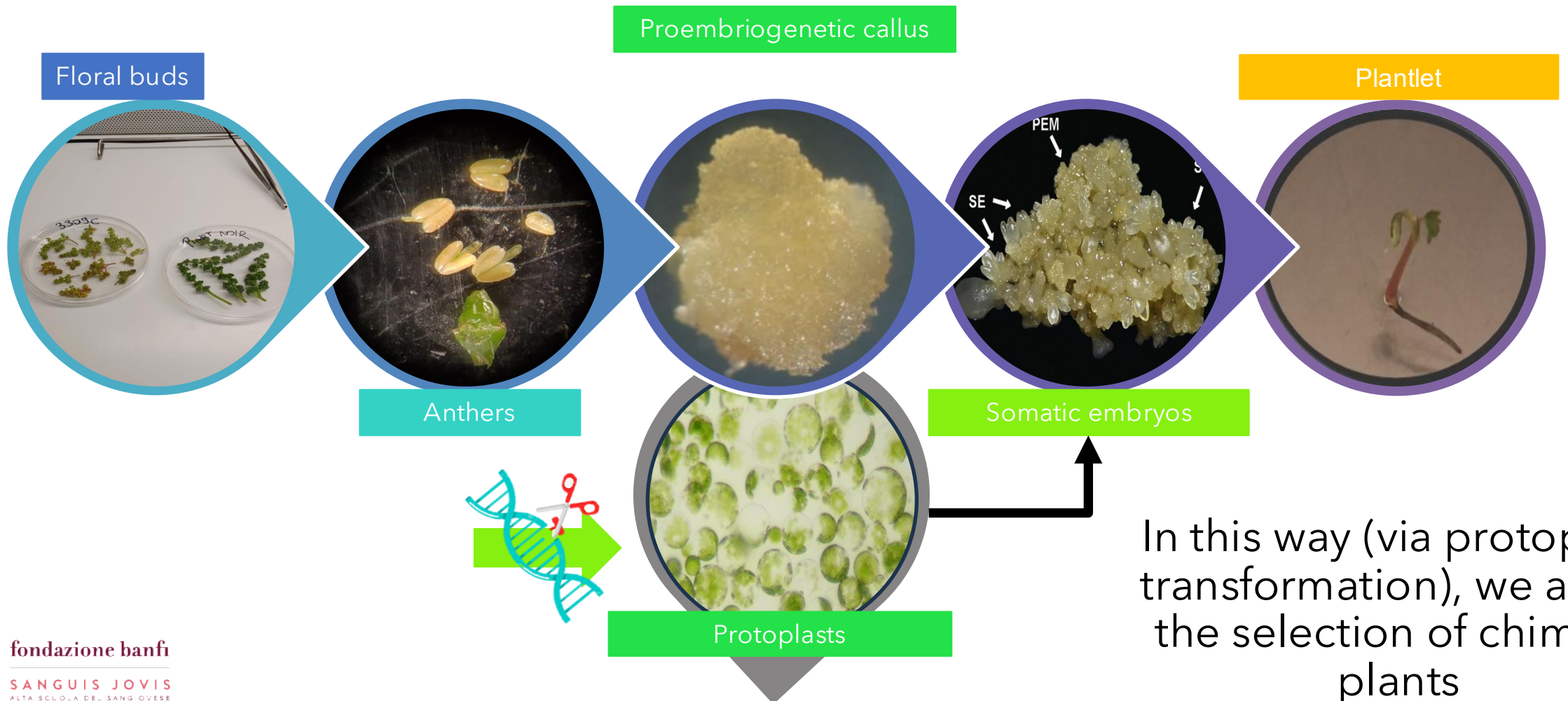
CONCLUSIONE: per ottenere piante uniformemente editate, è necessario partire da una **singola cellula**.



PIANTA UNIFORMEMENTE EDITATA



How to make unconventional breeding using protoplasts?



Quali geni editare?

GENI DI RESISTENZA (R) E SUSCETTIBILITÀ (S)

Due geni, due risposte diverse della pianta



GENI DI RESISTENZA (R)

Proteggono la pianta

COME
FUNZIONA?

GENI DI SUSCETTIBILITÀ (S)

Rendono la pianta vulnerabile



IN UNA PIANTA RESISTENTE



I GENI R SONO ATTIVI

Riconoscono il patogeno e attivano le difese della pianta.

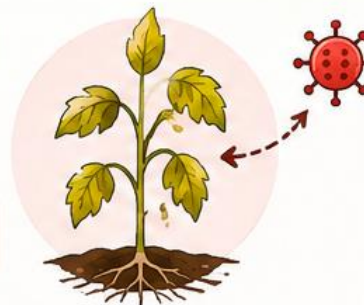


IN UNA PIANTA SUSCETTIBILE



I GENI R SONO SPENTI

Il patogeno non viene riconosciuto e la pianta non si difende.

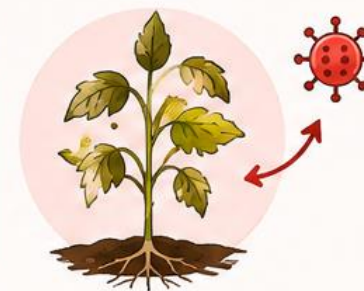


IN UNA PIANTA SUSCETTIBILE



I GENI S SONO ATTIVI

Favoriscono l'ingresso del patogeno e l'infezione della pianta.

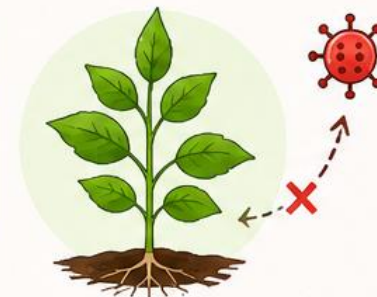


IN UNA PIANTA RESISTENTE



I GENI S SONO SPENTI

Il patogeno non riesce a entrare e la pianta rimane sana.



Quali geni editare?

Wan et al. *Horticulture Research* (2020)7:116
<https://doi.org/10.1038/s41438-020-0339-8>

Horticulture Research
www.nature.com/hortres

ARTICLE

Open Access

CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of *VvMLO3* results in enhanced resistance to powdery mildew in grapevine (*Vitis vinifera*)

Dong-Yan Wan^{1,2}, Ye Guo^{1,2}, Yuan Cheng^{1,2}, Yang Hu^{1,2}, Shunyuan Xiao³, Yuejin Wang^{1,2} and Yin

The grapevine cultivar Thompson Seedless is an ideal material for studying powdery mildew resistance in grapevine because it is amenable to transformation and susceptible to powdery mildew infection. There are 17 *VvMLOs* in Thompson Seedless. In this study, we used CRISPR/Cas9 technology to target two grapevine *MLO* genes, *VvMLO3* and *VvMLO4*, and obtained *VvMLO3*-edited grapevine lines with enhanced resistance to powdery mildew. Our work suggests that CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis is a valuable tool for generating disease-resistant grapevines.



fondazione banfi

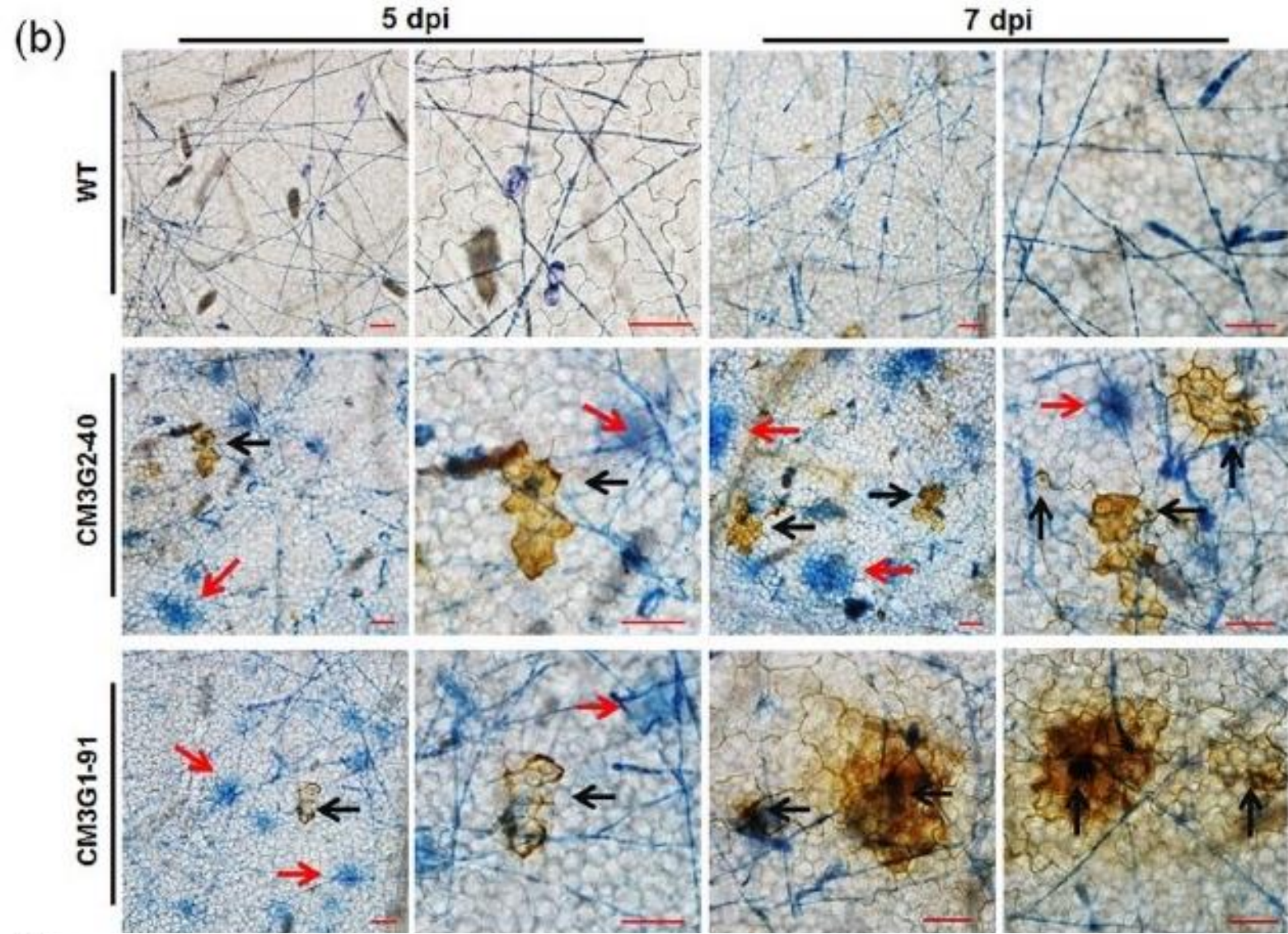
SANGUIS JOVIS
ALTA SCLOA DEL SANGOVESE

CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of *VvMLO3* results in enhanced resistance to powdery mildew in grapevine (*Vitis vinifera*)

Dong-Yan Wan^{1,2}, Ye Guo^{1,2}, Yuan Cheng^{1,2}, Yang Hu^{1,2}, Shunyuan Xiao³, Yuejin Wang^{1,2} and Ying-Qiang Wen^{1,2}

e banfi
JOVIS
SANG OVSE

Quali geni edita



(see figure on previous page)

Fig. 6 *VvMLO3*-edited grapevine plants show infection-triggered cell death, H_2O_2 accumulation and CWAs. **a** The wild-type (WT) and two *VvMLO3*-edited heterozygous mutant grapevine lines grown under phytotron conditions for 6 months (bar = 10 cm). **b** Representative micrographs showing DAB- and trypan blue-stained epidermal cells of the WT and *VvMLO3*-edited lines at 5 or 7 dpi. Red arrowheads indicate trypan blue retention, and black arrowheads indicate H_2O_2 accumulation (bar = 50 μ m). **c** Representative images showing a trypan blue-stained leaf section of WT or CM3G2-40 with a focus on either the epidermal layer or the mesophyll cell layer at 7 dpi (bars = 50 μ m). **d** Histochemical analysis of infection-triggered CWAs of epidermal cells of the WT and the heterozygous CM3G2-40 mutant line at 7 dpi. Red arrowheads indicate haustoria (H), and black arrowheads indicate infection-triggered CWAs (bars = 50 μ m).

Stellenbosch University CRISPR Grapevine Breakthrough Boosts Disease Resistance and Drought Tolerance

Pioneering G

research-p

drought-to

For grapevines (*Vitis vinifera*), regeneration from edited cells is challenging owing to their woody nature. The SU team overcame this by optimizing protocols for embryogenic callus induction and plantlet recovery. The VvDMR6.1 gene, a salicylic acid (SA) modulator and negative regulator of immunity, was selected because its inactivation in other crops like tomato boosts disease resistance. In grapevines, knocking it out not only curbed downy mildew progression but also upregulated ABA biosynthesis genes (VvNCED1 and VvNCED3) and antioxidant defenses (VvSOD, VvAPX, VvSTS), revealing unexpected crosstalk between disease and drought pathways.

more rapidly during water stress, coupled with elevated levels of abscisic acid (ABA), a key hormone for drought response. This smart physiological adaptation allows the plants to use water more efficiently without compromising growth.

Researchers at Stellenbosch University's agricultural biotechnology department used CRISPR/Cas9 technology to edit the VvDMR6.1 gene, effectively silencing it. The result is grapevines that are resistant to the destructive fungal disease, while also demonstrating improved water conservation under drought conditions. This dual benefit addresses two of the most pressing challenges facing South African viticulture: rampant disease outbreaks and intensifying water scarcity driven by climate change.

views

ditions

airs,
vines
nata

DNA METHYLATION EDITING

Modificare la metilazione del DNA per accendere o spegnere un gene

GENE SPENTO

Promotore metilato

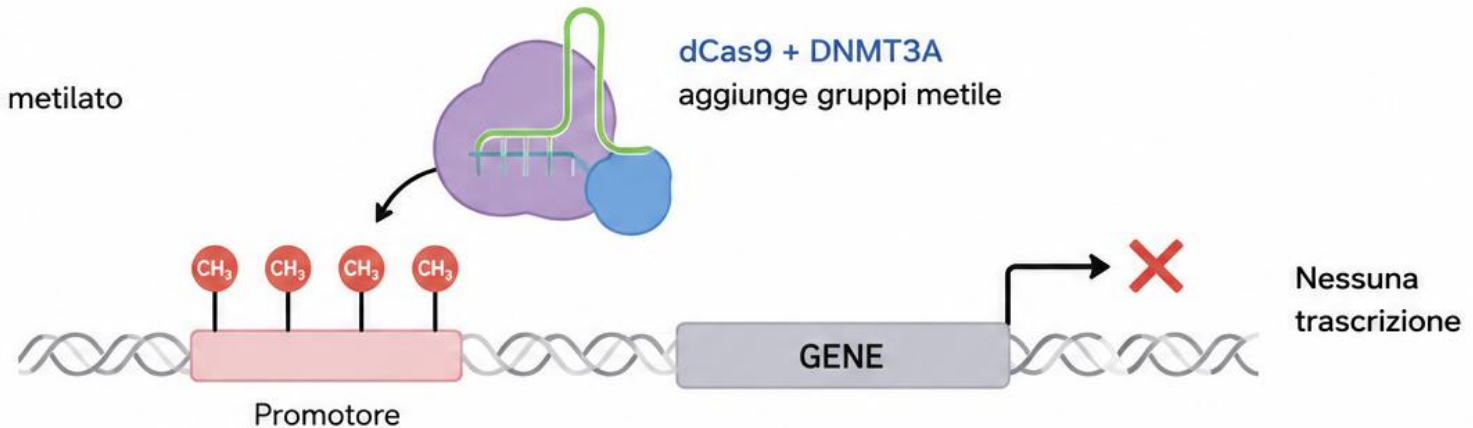
 Gruppo metile

 dCas9

 sgRNA

 Enzima metiltransferasi (DNMT3A)

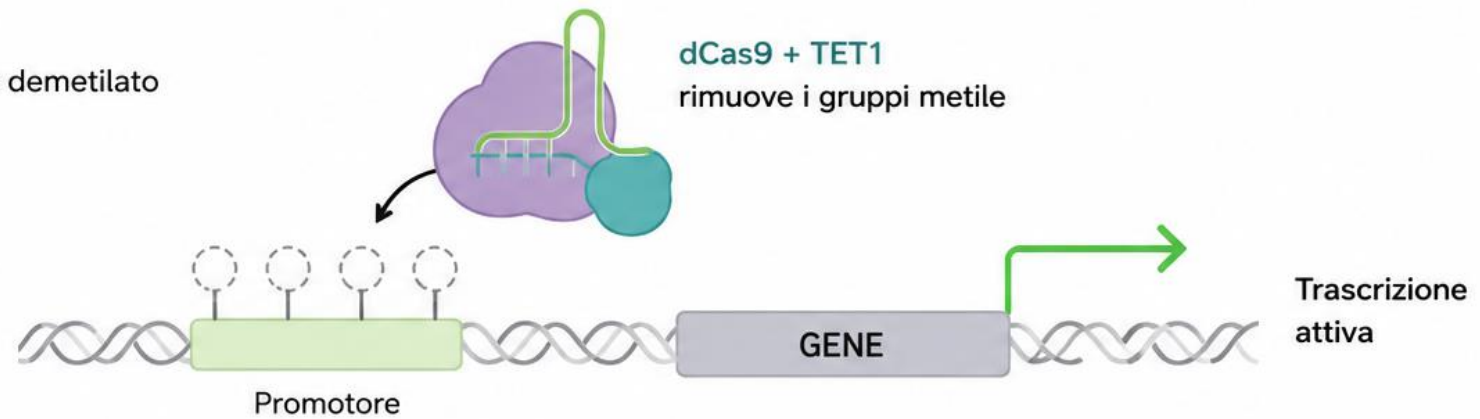
dCas9 + DNMT3A
aggiunge gruppi metile



GENE ACCESO

Promotore demetilato

dCas9 + TET1
rimuove i gruppi metile



IN SINTESI

Con il DNA methylation editing non cambiamo la sequenza del DNA, ma aggiungiamo o rimuoviamo gruppi metile per regolare l'espressione del gene.



METILATO
= gene spento



DEMETILATO
= gene acceso

campo piante ucraine
tramite le TEA

PIANTE OGM.

...monstrazione di

lante

oerta

rione

• Decreto Legge Siccità

Approvato il 30 Maggio 2023

I primi esempi in Italia di prove TEA in campo

RISO



Vittoria Brambilla

24 giu 2024 · 🌐



Radio3 Scienza · Segui

24 giu 2024 · 🌐

Dopo anni di studi, le prime piantine di riso hanno messo radici a maggio. Ma pochi giorni fa, il primo campo sperimentale coltivat... Altro...



👍❤️ Clizia Villano e 47

Condivisioni: 3

👍 Mi piace

💬 Commenta

📧 Invia

➦ Condividi



Vittoria Brambilla

10 nov 2024 · 🌐

Questa è la seconda sperimentazione di piante TEA in Italia, sono viti resistenti alla peronospora della bravissima Sara Zenoni dell' Università di Verona. Trapiantate in Valpolicella a settembre sono state coperte per ripararle dal freddo in attesa che ripartano in primavera. Ci piace questa Italia forte nella ricerca, nell' innovazione e capace di f... Altro...



👍❤️🤔 Tu, Ignazio Verde Ragona e 117

Commenti: 6

VITE



Quando l'innovazione incontra il RIFIUTO



Museo Nazionale Scienza e Tecnologia
Leonardo da Vinci · [Segui](#)

28 giu 2024 · 🌐

to gravemente danneggiato il primo campo
mentale italiano nel quale era stato
ato riso TEA, sviluppato grazie a T... Altro...



**GRAVEMENTE DANNEGGIATO
IL PRIMO CAMPO DI RISO TEA.
QUALI CONSEGUENZE?**



fondazione banfi

SANGUIS JOVIS
ALTA SCUOLA DEL SANGHESE

La nuova legge europea sulle TEA

Approvata il 17 giu 2026



NUOVA LEGGE EUROPEA SULLE NGT

Le nuove tecniche genomiche per colture più sostenibili



1 COSA SONO LE NGT



Tecniche di precisione che modificano il DNA delle piante in modo mirato, veloce e senza inserire geni estranei.

2 COME CAMBIA LA NORMATIVA

Categoria 1



Rischio basso

Uguali alle piante convenzionali:

- ✓ Niente OGM
- ✓ Procedure autorizzative semplificate
- ✓ Libera circolazione nell'UE

Categoria 2



Rischio più alto

Valutazione caso per caso:

- ✓ Valutazione del rischio
- ✓ Autorizzazione
- ✓ Tracciabilità

3 PERCHÉ È IMPORTANTE



Più innovazione per un'agricoltura sostenibile



Piante più resistenti a siccità, malattie e parassiti



Meno input chimici, più produttività



Più scelta e benefici per agricoltori, consumatori e ambiente



fondazione banfi
SANGUIS JOVIS
ALTA SCUOLA DEL SANGIOVESE



OBIETTIVO: Un sistema normativo più moderno, basato sulla scienza, per coltivare il futuro dell'Europa.



Le limitazioni delle TEA

- La rigenerazione da cellule e/o tessuti modificati rappresenta ad oggi il PRINCIPALE COLLO DI BOTTIGLIA!
- L'efficienza di rigenerazione è cultivar specifica.
- Un protocollo di rigenerazione non può essere universale.
- Ad oggi non disponiamo di protocolli per la rigenerazione di tutte le principali varietà italiane.
- Per applicare le TEA abbiamo bisogno di conoscere i geni responsabili di un determinato carattere.
- Molti di questi geni ad oggi sono ancora sconosciuti.



fondazione banfi

SANGUIS JOVIS
ALTA SCUOLA DEL SANGUE

**Mi
arrendo**



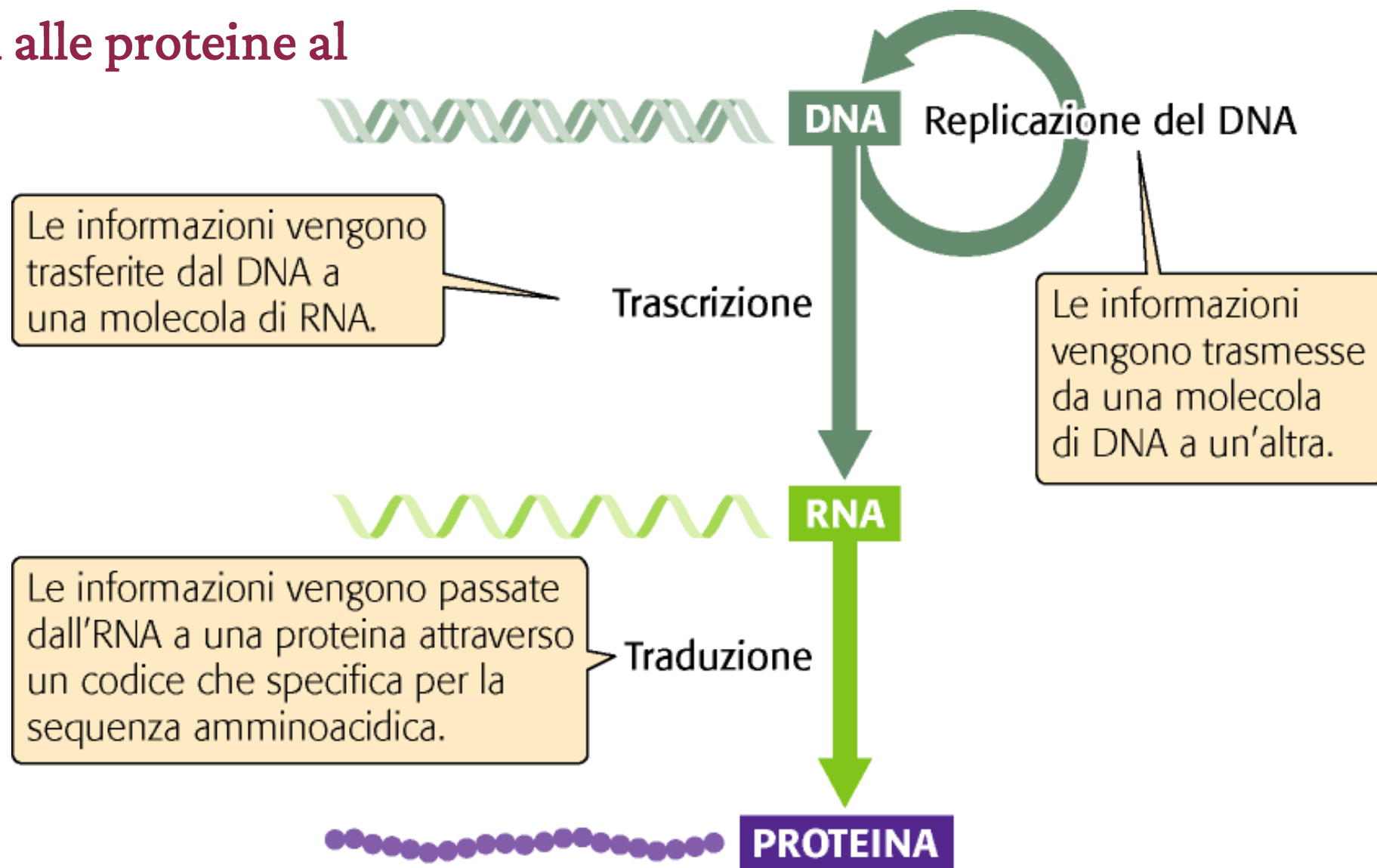
A hand holding a sign above a pile of crumpled paper, with a thought bubble.

**Ci sono altre
tecniche..**

**Mi
arrendo**

Il flusso dell'informazione genica

Dal DNA alle proteine al
fenotipo



fondazione banfi

SANGUIS JOVIS
ALTA SCUOLA DEL SANGUE

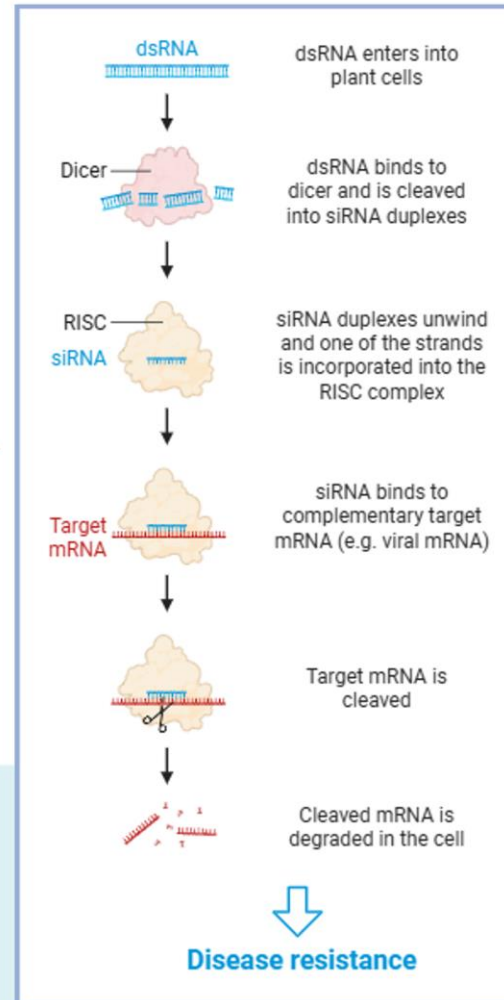
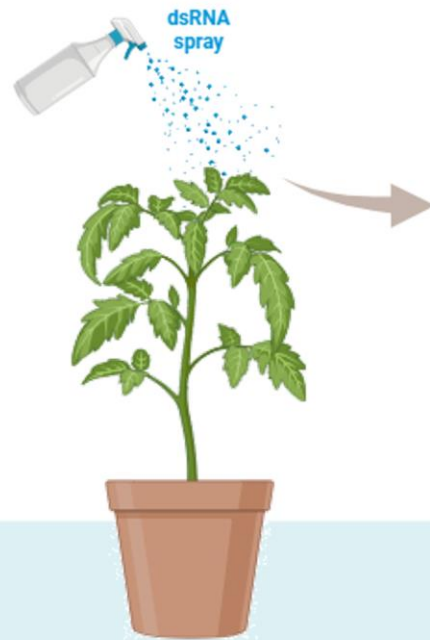
E' possibile modificare il flusso dell'informazione genica?

- Agendo sulle molecole di RNA attraverso l'**RNA interference** (RNAi).
- E' un meccanismo mediante il quale alcuni frammenti di RNA (**dsRNA**) sono in grado di interferire (spegnere) con l'espressione genica.
- E' un processo di silenziamento genico post trascrizionale.
- Questi frammenti di RNA sono complementari all'RNA espresso dalla cellula (gene target).
- **Il dsRNA può essere prodotto dalla pianta modificata geneticamente oppure applicato per via esogena.**



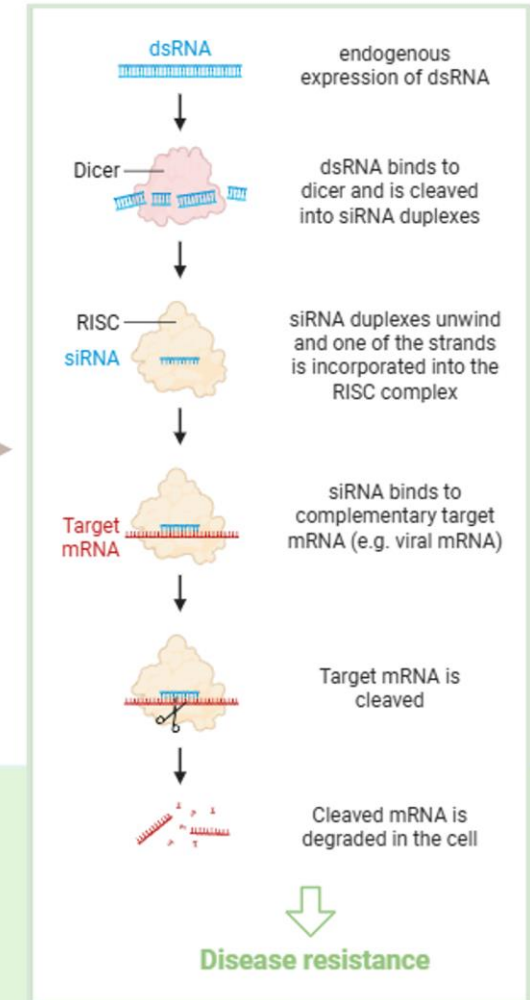
Il meccanismo dell'RNAi

Spray-Induced Gene Silencing (SIGS) in Crop Disease Resistance



Host-Induced Gene Silencing (HIGS) in Crop Disease Resistance

Genetic modified plant



Applicazione esogena del dsRNA



fondazione banfi

SANGUIS JOVIS
ALTA SCUOLA DEL SANGIOVESE

Quali geni disattivare con l'RNAi?

	Varietà resistenti	Varietà suscettibili
Gene di resistenza		
Gene di suscettibilità		



fondazione banfi

SANGUIS JOVIS
ALTA SCUOLA DEL SANGUE

Varietà georgiane resistenti a *P. viticola*

Vitis 55, 121–128 (2016)

DOI: 10.5073/vitis.2016.55.121-128

Evidence of resistance to the downy mildew agent *Plasmopara viticola* in the Georgian *Vitis vinifera* germplasm

S. L. TOTOLATH¹, G. MADDALENA¹, D. SALOMONI¹, D. MAGHRADE², P. A. BIANCO¹ and O. FAILLA¹

¹Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy

²Scientific – Research Center of Agriculture, Tbilisi, Georgia

Vitis 54 (Special Issue), 193–196 (2015)

Screening of Georgian grapevine germplasm for susceptibility to downy mildew (*Plasmopara viticola*)

N. BEKSIDZE¹, M. AZNARASHVILI¹, A. VERGES², R. CHIPASHVILI¹, O. FAILLA¹ and D. MAGHRADE²

¹ Institute of Horticulture, Viticulture and Oenology, Agricultural University of Georgia, Tbilisi, Georgia

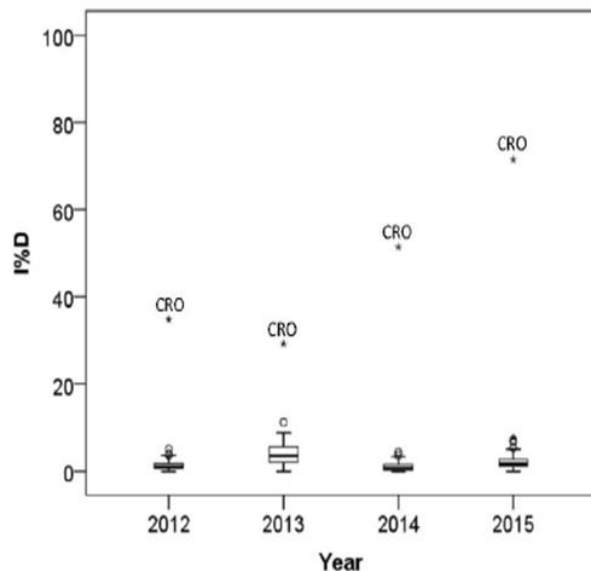
² Dipartimento di Scienze Agrarie ed Ambientali, University of Milan, Milano, Italy

Table 3

Average values of sporangia $\times 10^3/\text{cm}^2$ of the accessions and results of statistical analysis*

Accession	Sporangia/cm ²
N21F - Buza	1.2 a
L22A - Mgaloblishvili	1.5 ab
M22F - Jani Bakhvis	2.2 abc
L23A - Khushia Shavi	2.3 abc
M22E - Kamuri Shavi	2.4 abcd
N23E - Imeruli Shavi	2.6 abcd
M24C - Argvetula	3.2 abcd
O22B - Ubakluri	3.3 abcd
L23F - Vertkvitchalis Shavi	3.9 abcd
N24F - Acharuli Tetri	7.3 bcd
O23D - Didshavi	18.7 cd
L22B - Marguli Sapere	25.9 d

*Mean values within the column followed by the same letter are not significantly different at 0.05 significance level.



Riduzione incidenza della malattia e sporulazione



Mgaloblishvili

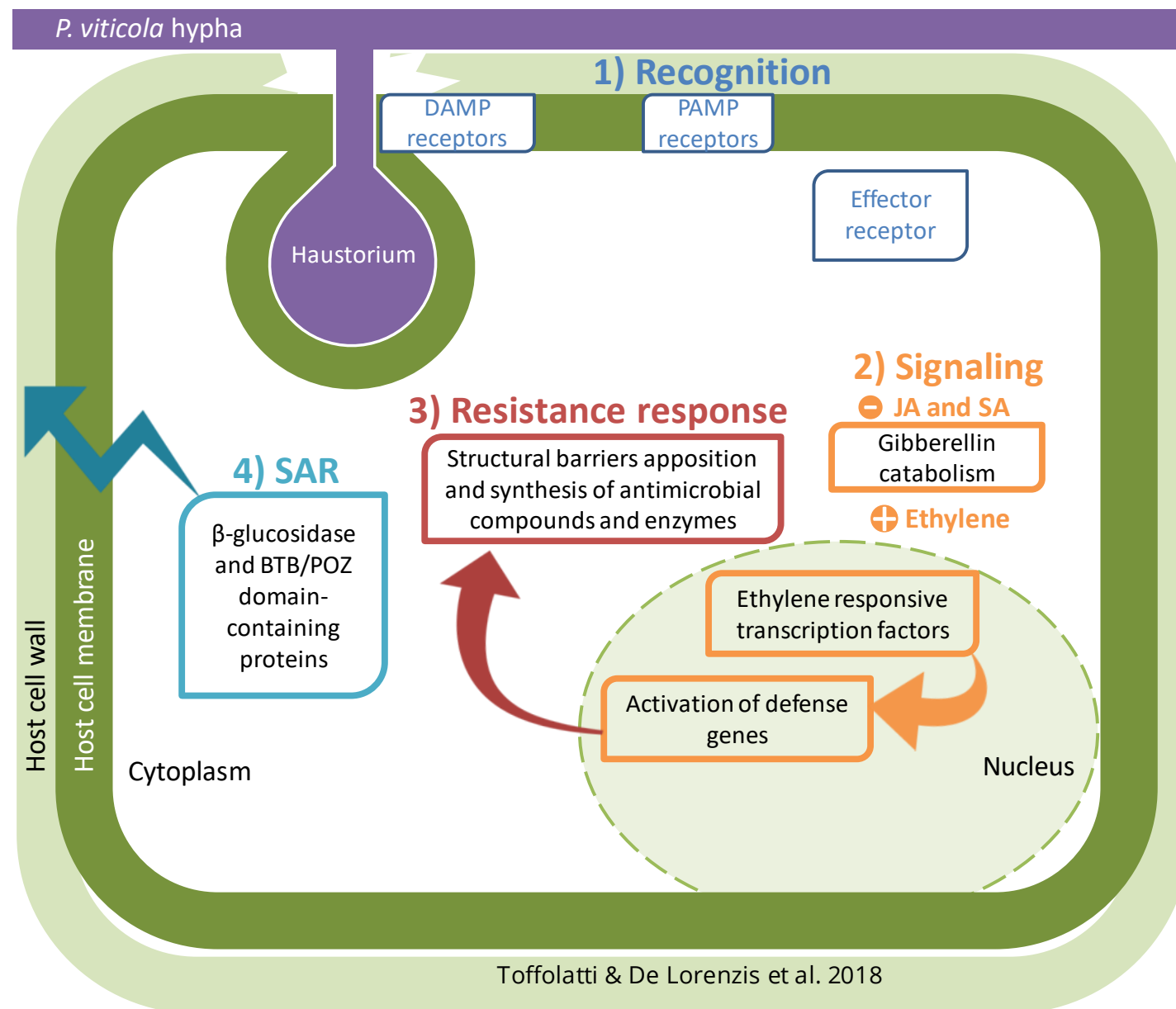


fond.

SAN CARLO
ALTA SCUOLA DEL SANGHESE

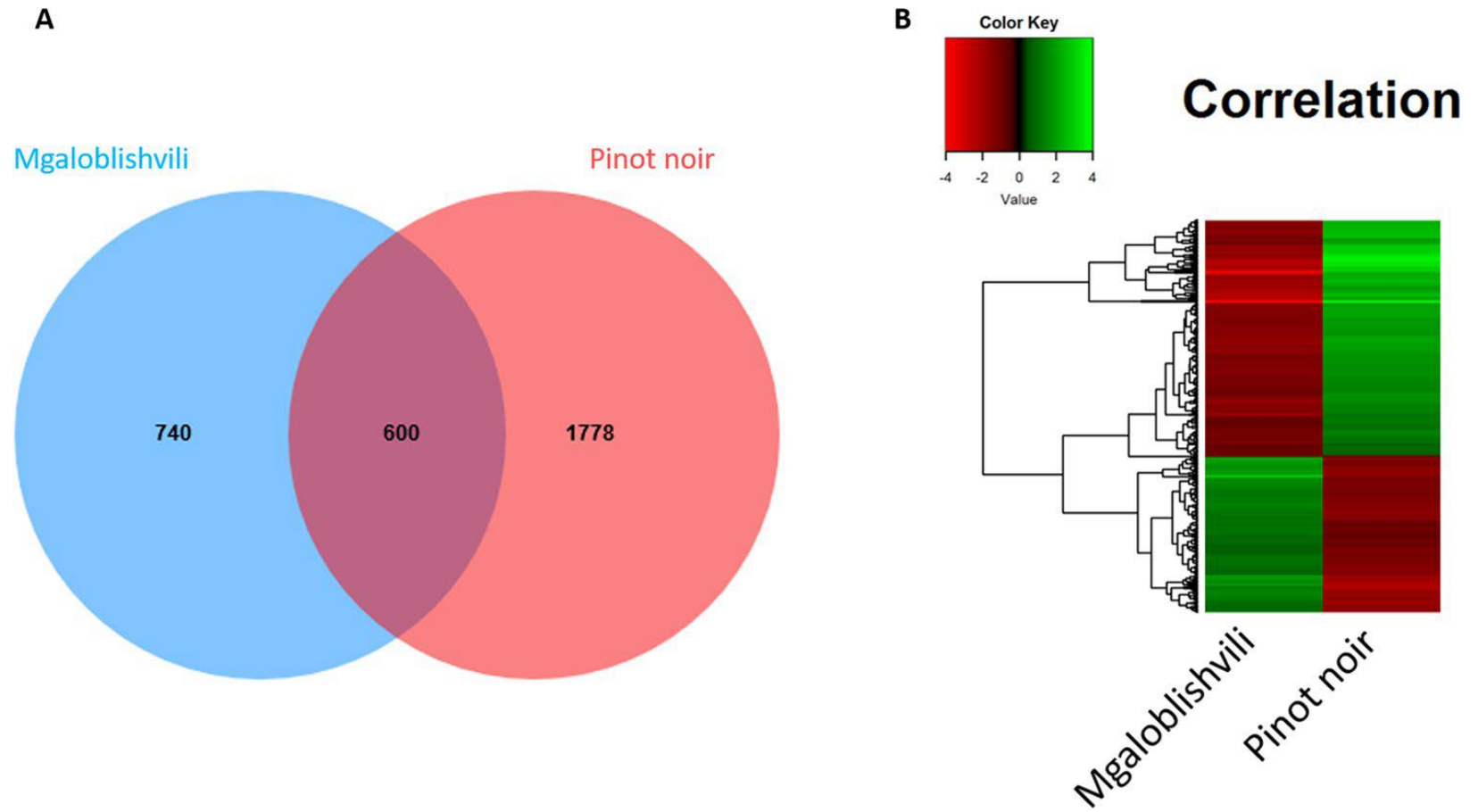
Mgaloblishvili versus P. viticola

- Riconoscimento del patogeno
- Trasduzione del segnale basato sull'etilene
- Risposta di resistenza basata sulla sintesi di composti antimicrobici ed enzimi che degradano la parete fungina e rinforzo della parete cellulare della cellula



Mgaloblishvili versus P. viticola

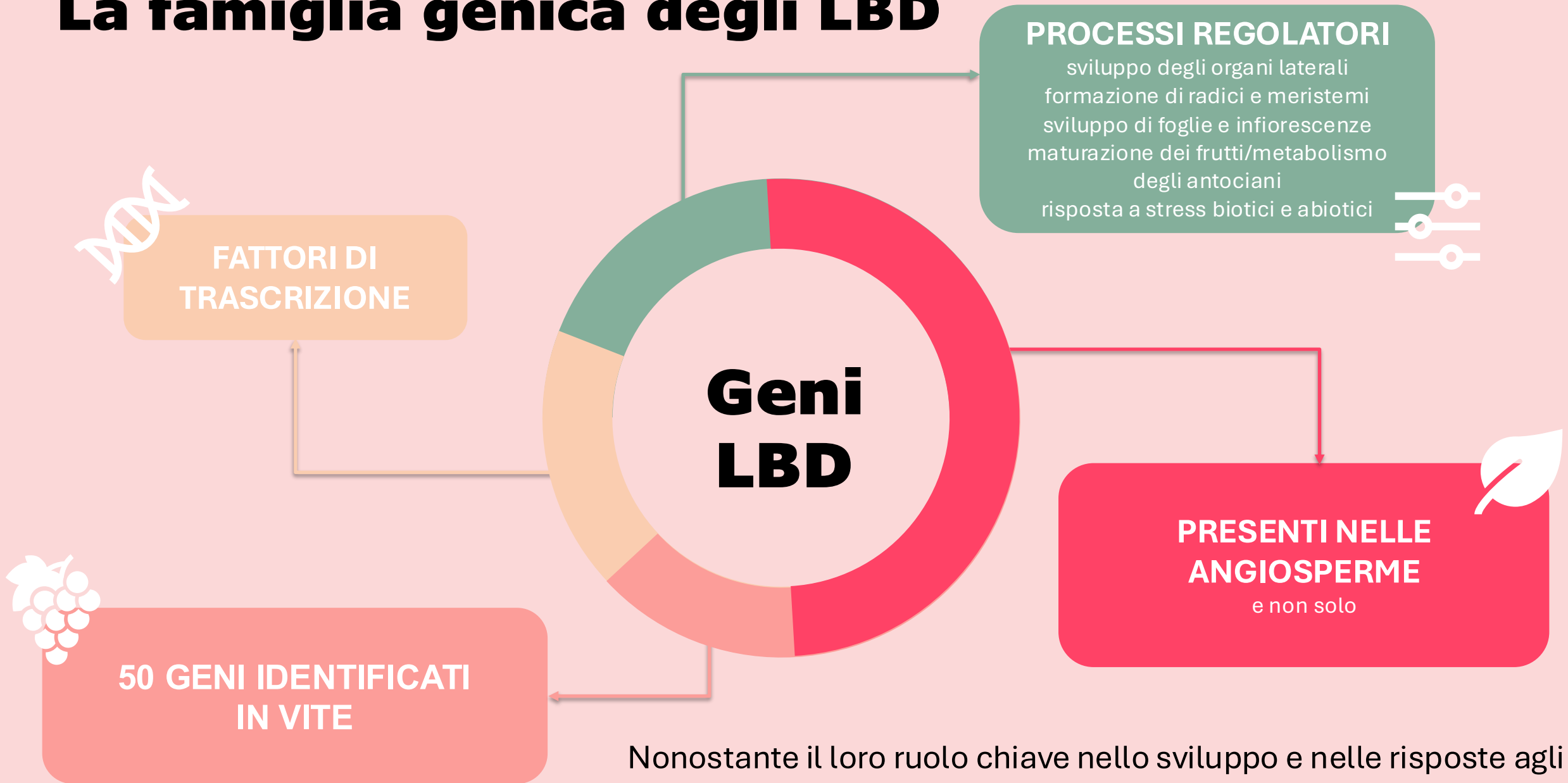
- Comparison between differentially expressed genes (DEGs) of Mgaloblishvili and Pinot noir at 1 day after inoculation with *P. viticola*. (A) Venn diagram; (B) Heatmap of 600 DEGs shared by Mgaloblishvili and Pinot noir. Green: upregulated genes; red: downregulated genes.



Il gene VvLBDIf7

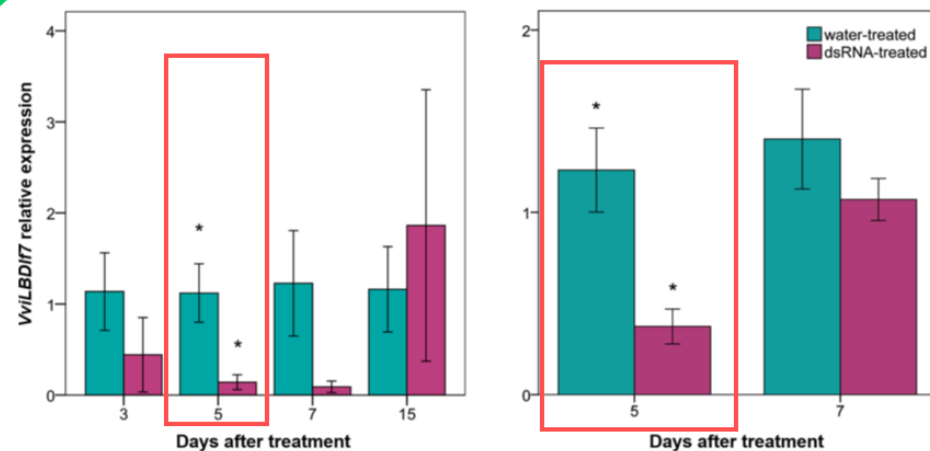
	Varietà resistenti	Varietà suscettibili
Gene di resistenza		
Gene di suscettibilità		
LOB domain-containing Protein (LBD)		
	Mgaloblishvili	Pinot noir

La famiglia genica degli LBD



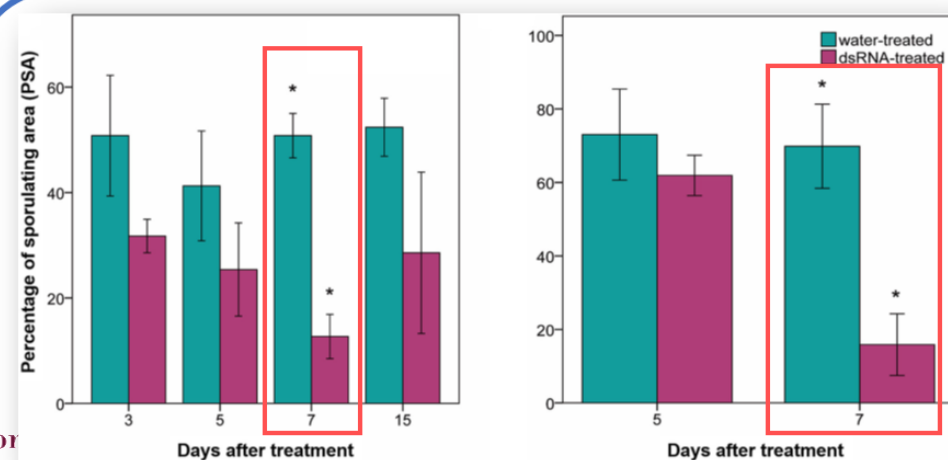
Nonostante il loro ruolo chiave nello sviluppo e nelle risposte agli stress, la famiglia LBD è ancora poco caratterizzata nella vite

Il silenziamento del gene *VvLBDIf7* con dsRNA



L'espressione del gene *VvLBDIf7* è ridotta a cinque giorni dopo il trattamento con dsRNA

Effetto del dsRNA sulla pianta

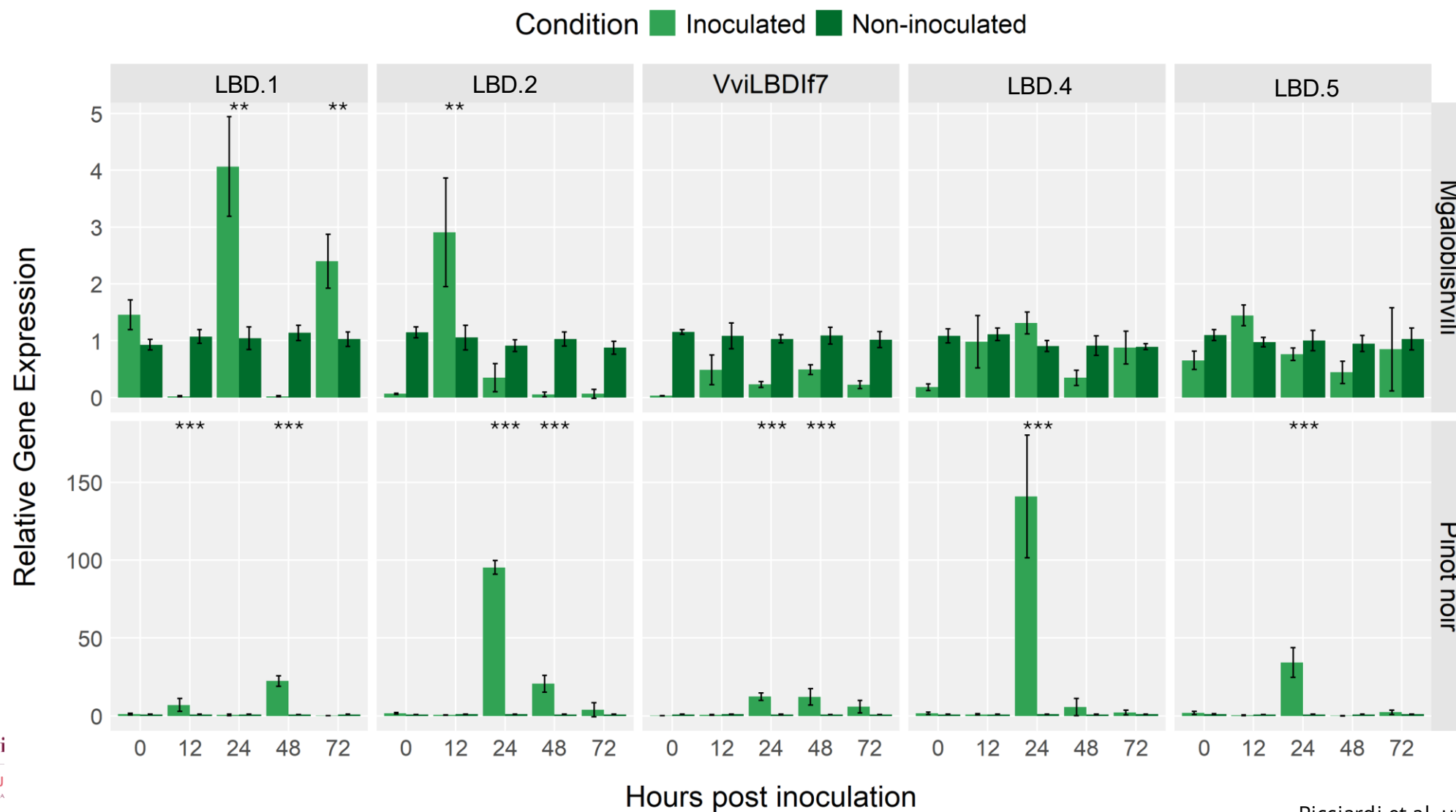


La sporulazione di *P. viticola* è ridotta a sette giorni dopo il trattamento con dsRNA

Effetto del dsRNA sul patogeno

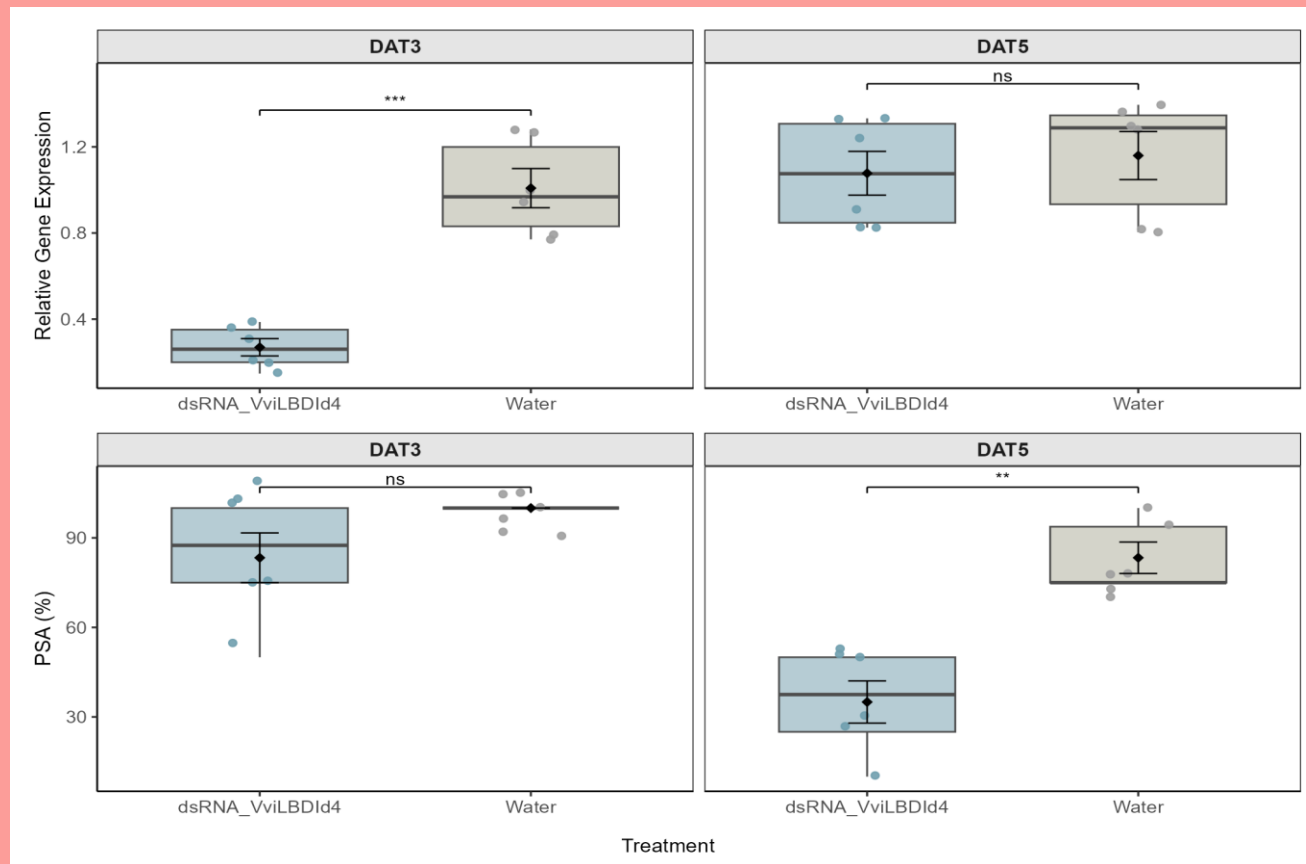


Nuovi potenziali target LBD



Validazione dei geni S: VviLBDId4

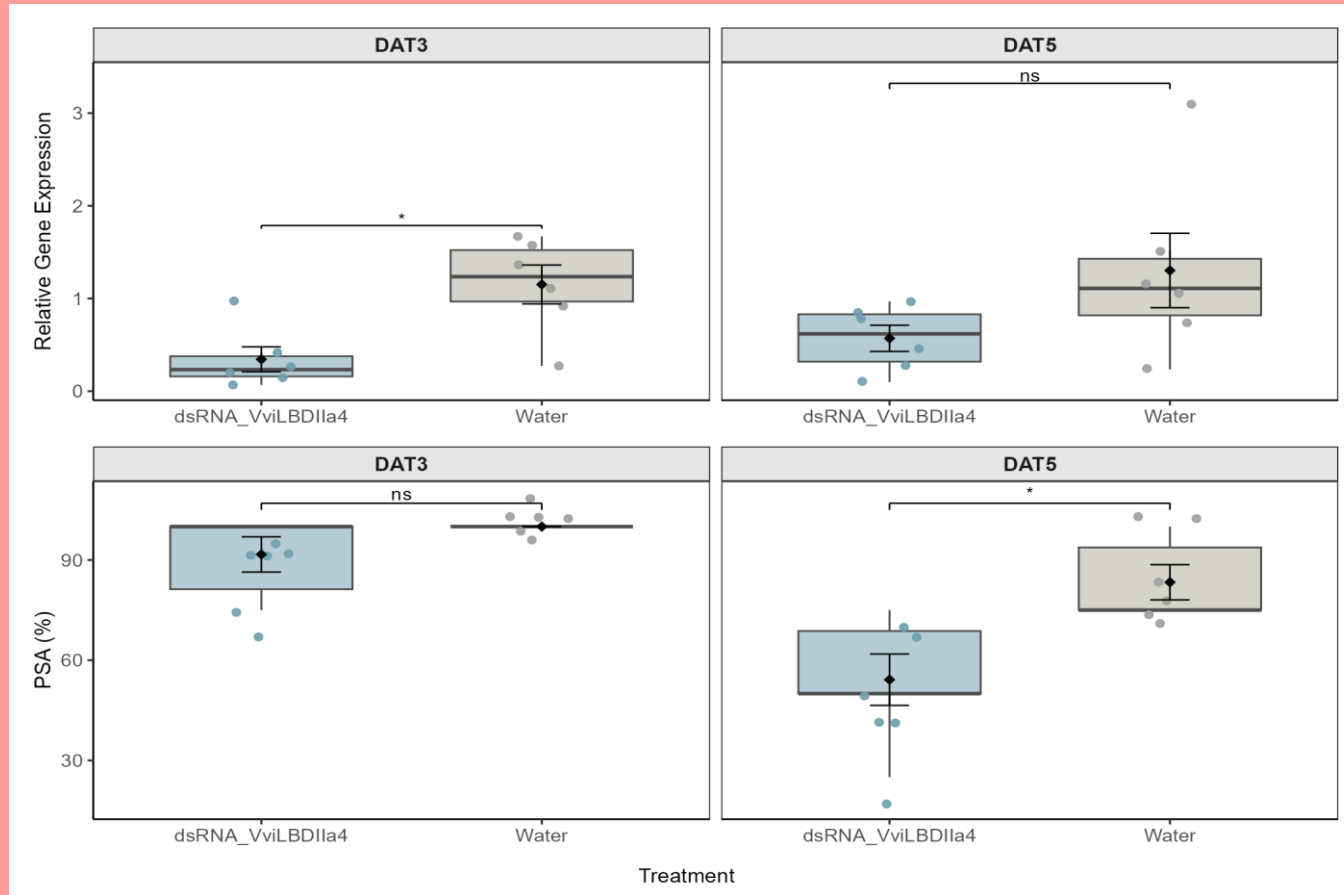
Il silenziamento di geni S con dsRNA riduce la suscettibilità a *Plasmopara viticola*



- A tre giorni dopo il trattamento con dsRNA, l'**espressione** del gene **VviLBDId4** viene **ridotta**
- A cinque giorni dopo il trattamento con dsRNA, foglie inoculate con P. viticola presentano una **minore incidenza della malattia**

Validazione dei geni S: VviLBDIIa4

Il silenziamento di geni S con dsRNA riduce la suscettibilità a *Plasmopara viticola*

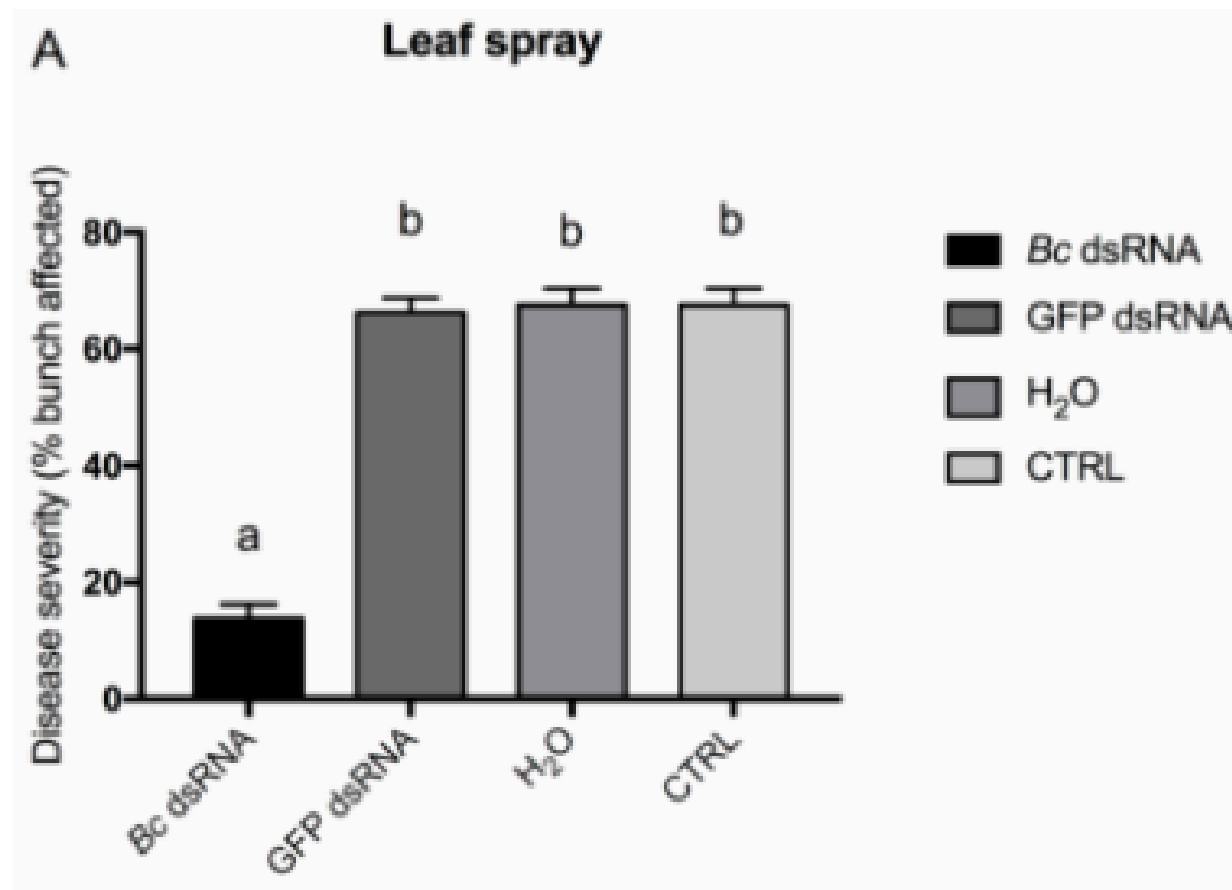


- A tre giorni dopo il trattamento con dsRNA, l'**espressione** del gene **VviLBDIIa4** viene **ridotta**
- A cinque giorni dopo il trattamento con dsRNA, foglie inoculate con *P. viticola* presentano una **minore incidenza della malattia**

dsRNA versus Botrytis cinerea

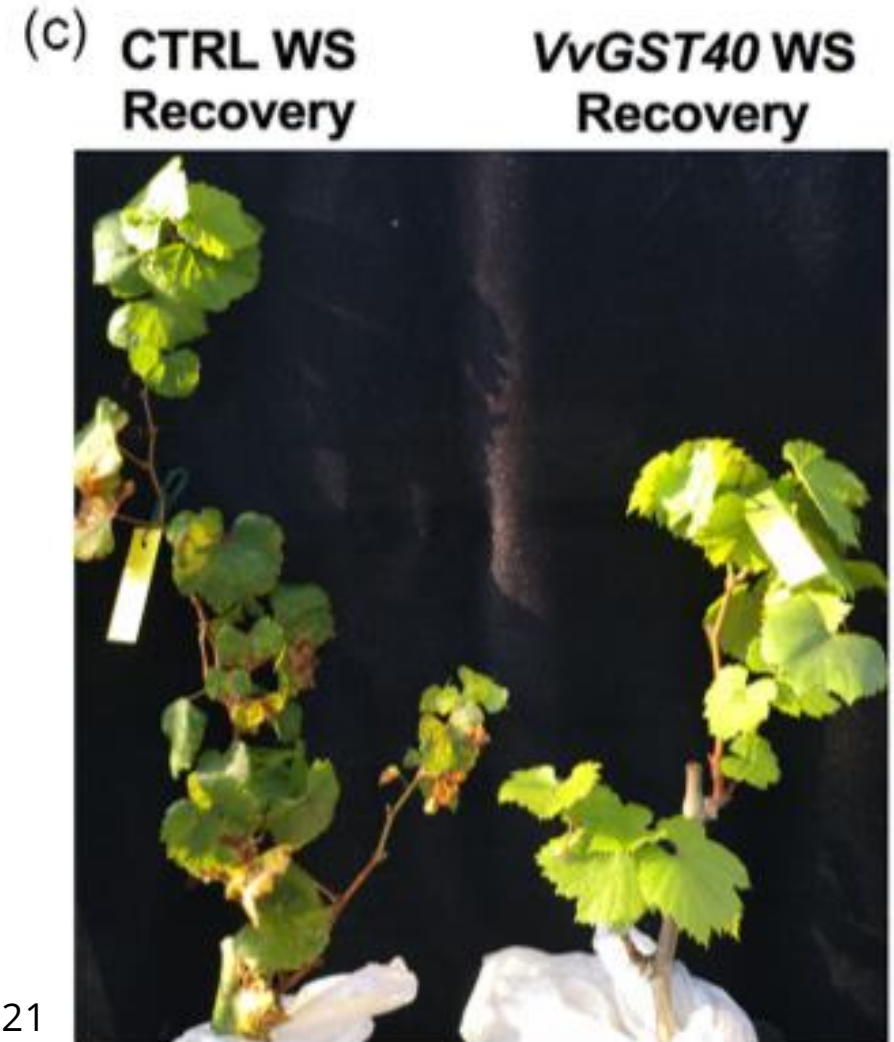
Geni target del patogeno

- Geni: BcCYP51, Bcchs1, and BcEF2, siti d'azione dei fungicidi
- Varietà: Moscato
- Riduzione dell'incidenza della malattia in campioni trattati con Bc dsRNA



Non solo avversita' biotiche: dsRNA versus stress idrico

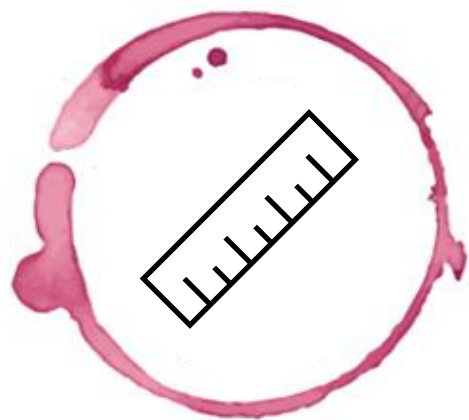
- ◉ Gene: VvGST40, glutathione S-transferase (responsabile dell'aumento dell'ABA)
- ◉ Varietà: Chardonnay
- ◉ Una volta reidratate, le piante trattate con dsRNA VvGST40 si sono riprese completamente, mostrando un fenotipo simile alle piante non stressate, senza alcun danno evidente dovuto alle condizioni di siccità applicate



Nerva et al. 2021



Ottimizzazioni dell'uso del dsRNA



Concentrazione, lunghezza e
sequenza delle molecole di dsRNA



Formulazioni che dovrebbe
prevenire la degradazione del
dsRNA e consentirne
l'assorbimento nelle cellule



Strategia di erogazione (bassa o
alta pressione)

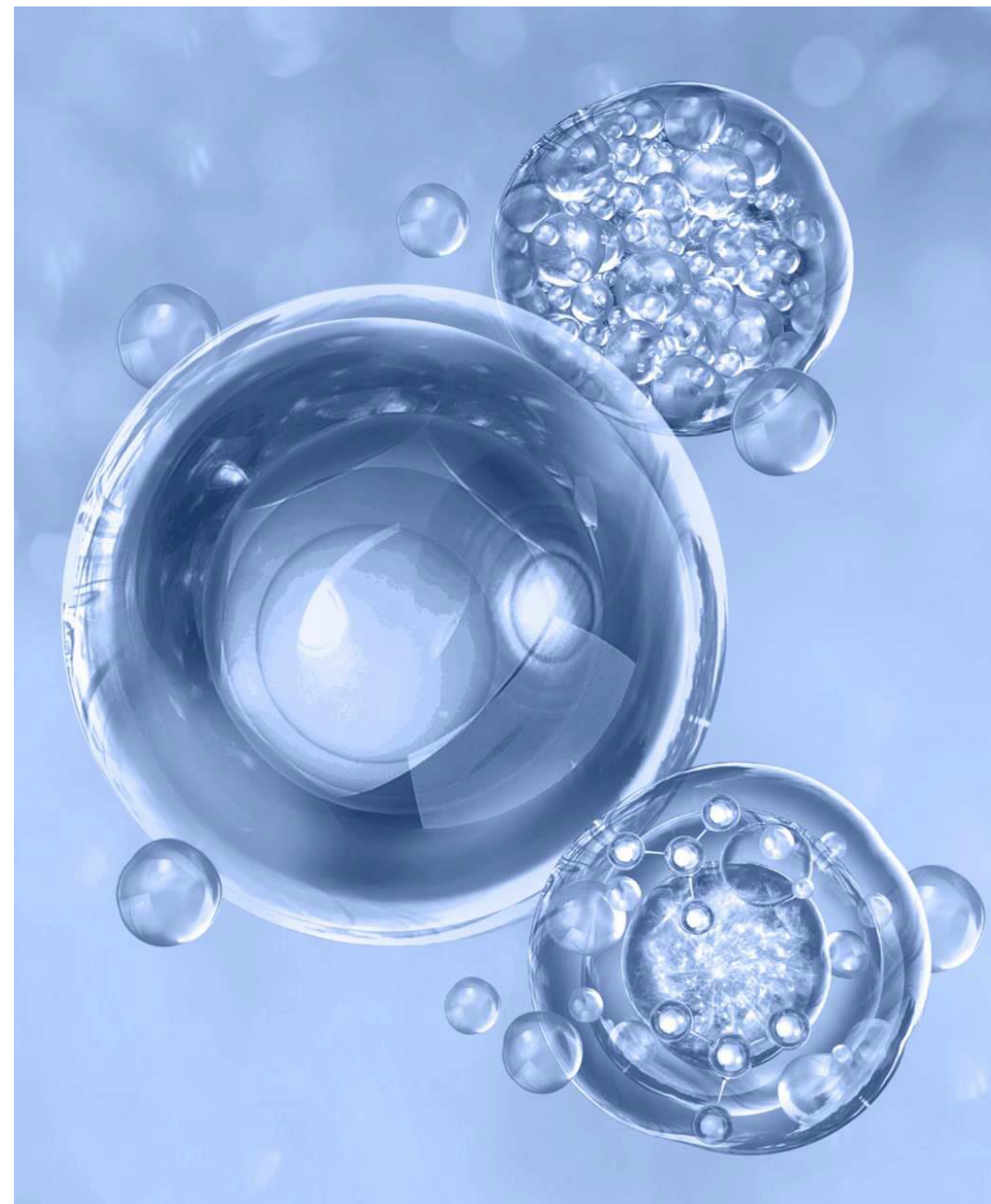


fondazione banfi

SANGUIS JOVIS
ALTA SCUOLA DEL SANGUE

Le vescicole extracellulari

- ◉ Le vescicole extracellulari (EV) sono nanoparticelle naturali che trasportano e distribuiscono varie molecole bioattive
- ◉ Le EV possono attraversare le barriere tissutali
- ◉ Le EV hanno versatilità nel caricamento
- ◉ Rilasciano facilmente il carico all'interno della cellula
- ◉ Sono estratte da scarti vegetali o da alghe (<https://www.evebiofactory.com/>)

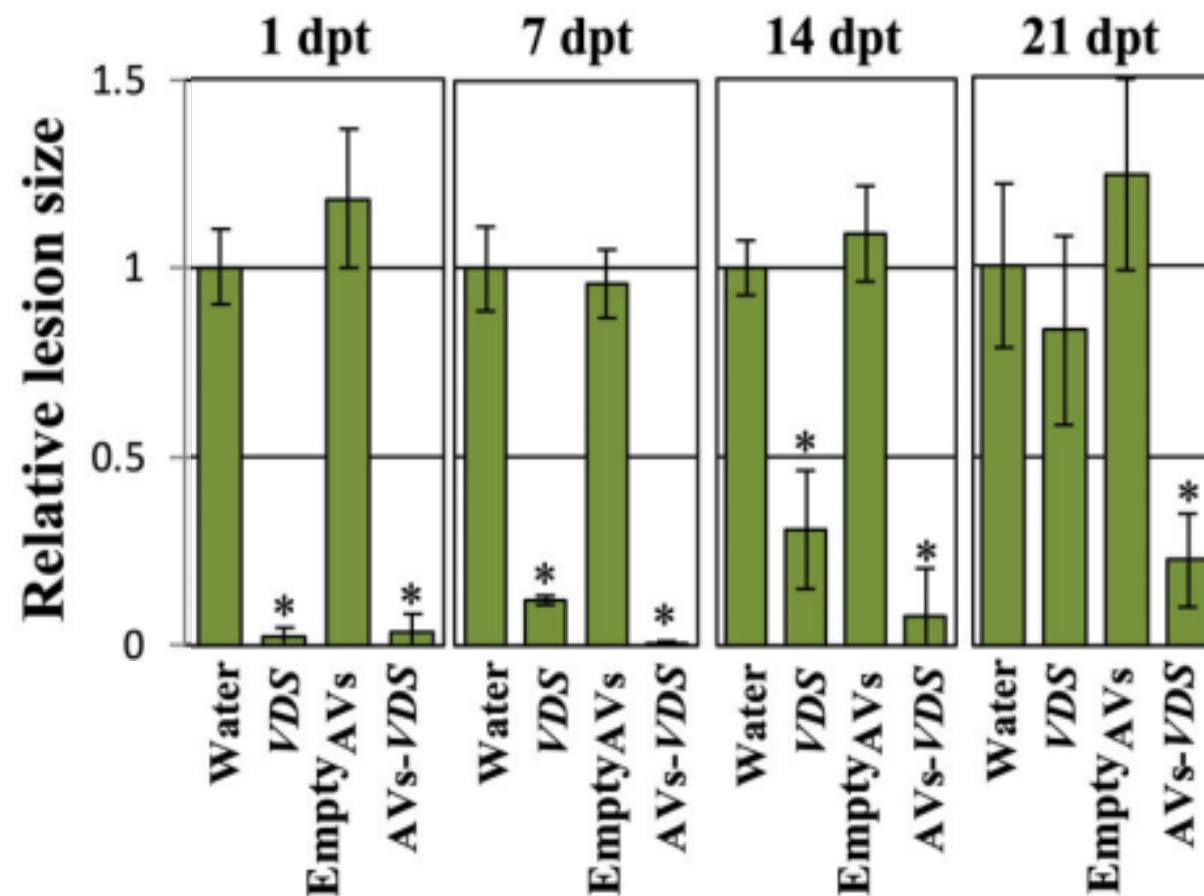


fondazione banfi

SANGUIS JOVIS
ALTA SCUOLA DEL SANGUE

dsRNA+nanovescicole versus B. cinerea

- Utilizzo di nanovescicole artificiali (AV).
- Il trattamento con AV-dsRNA fornisce una protezione prolungata contro *B. cinerea* nelle foglie di vite.
- Le foglie sono state pretrattate con dsRNA nudo o caricato sulle AV, per 1, 7, 14 e 21 giorni, quindi inoculate con *B. cinerea*.
- Sono state misurate le dimensioni relative delle lesioni sulle foglie.



dsRNA e agrofarmaci a confronto

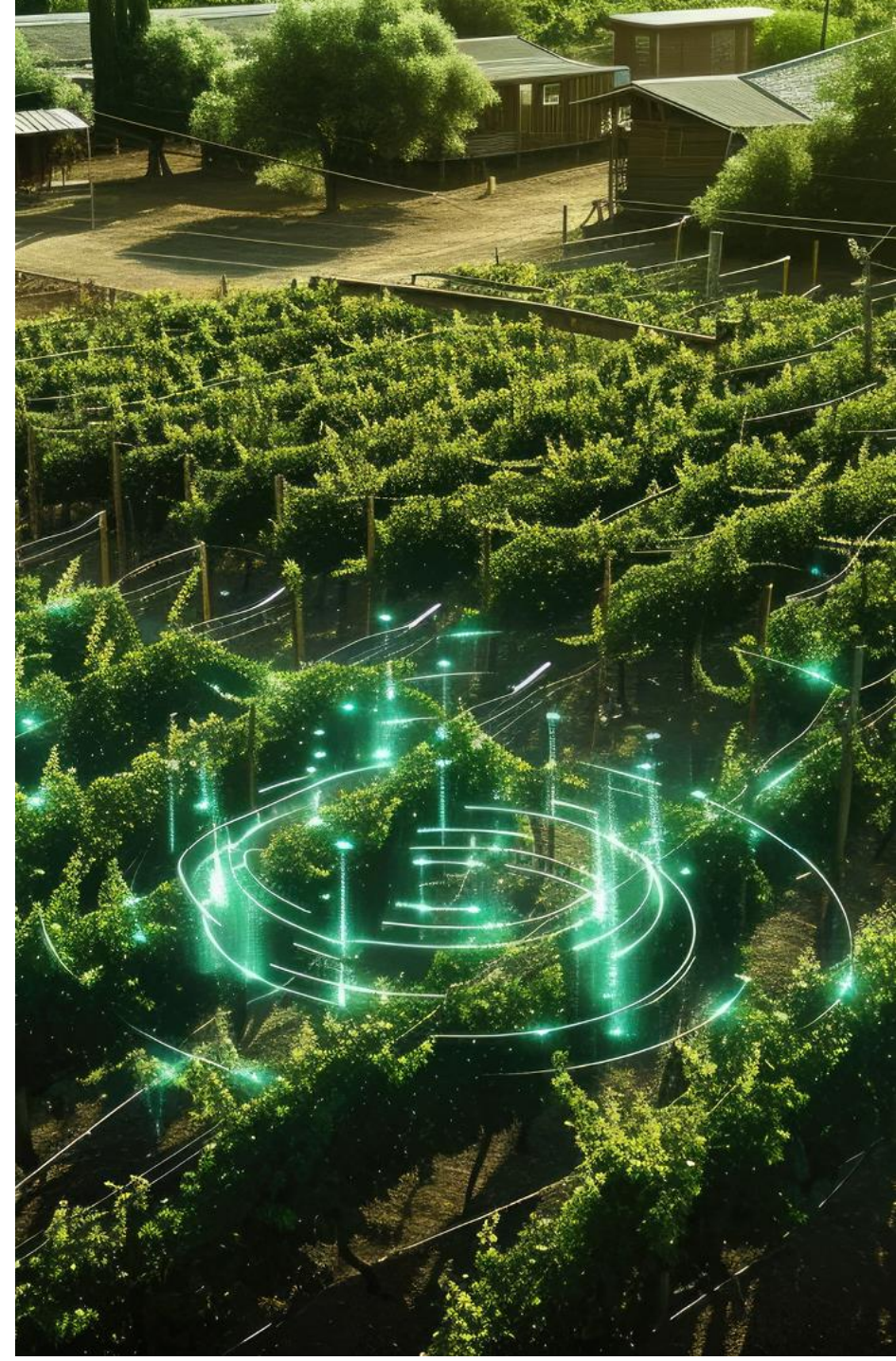
Il dsRNA rappresenta una tecnologia innovativa e più sostenibile rispetto agli agrofarmaci chimici tradizionali. Offre **maggiore specificità e sicurezza per l'ambiente e la salute umana**, ma la sua applicazione è ancora in fase di sviluppo. Gli agrofarmaci rimangono ampiamente utilizzati, ma il loro impatto ambientale e il rischio di resistenza rappresentano sfide crescenti per l'agricoltura moderna.

- L'RNAi è altamente specifico: il dsRNA è progettato per colpire un gene specifico, riducendo l'effetto su organismi non target.
- I dsRNA non si accumulano nell'ambiente e non lasciano residui chimici, riducendo così l'inquinamento.
- La regolamentazione sui dsRNA è ancora in fase di sviluppo in molti Paesi.
- Gli agrofarmaci hanno un ampio spettro d'azione e possono colpire diversi tipi di organismi, incluse specie non target.
- Gli agrofarmaci possono lasciare residui chimici, con effetti a lungo termine su ecosistemi e salute umana.
- Il numero di principi attivi consentiti dalla legge si riduce sempre di più.



fondazione banfi

SANGUIS JOVIS
ALTA SCLONIA DEL SANGOVESE



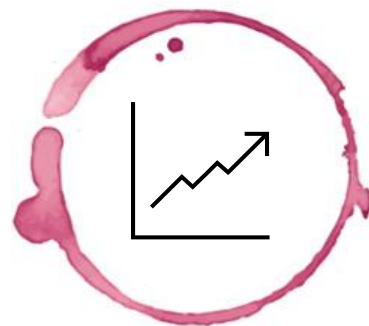
Take home messages



TEA e dsRNA esogeno
sono opportunità per
una viticoltura più
sostenibile e
competitiva



Abbiamo l'esigenza di
trovare nuovi target
per TEA e dsRNA



TEA e RNAi sono
tecnologie giovani.
Abbiamo margini di
miglioramento



fondazione banfi

SANGUIS JOVIS
ALTA SCLOA DEL SANG OVESE



GRAZIE PER L'ATTENZIONE!



fondazione banfi

SANGUIS JOVIS
ALTA SCUOLA DEL SANGIOVESE

fondazionebanfi.it

