

APPLICAZIONE DELL'EDITING GENOMICO PER IL MIGLIORAMENTO DELLA QUALITÀ IN BASILICO

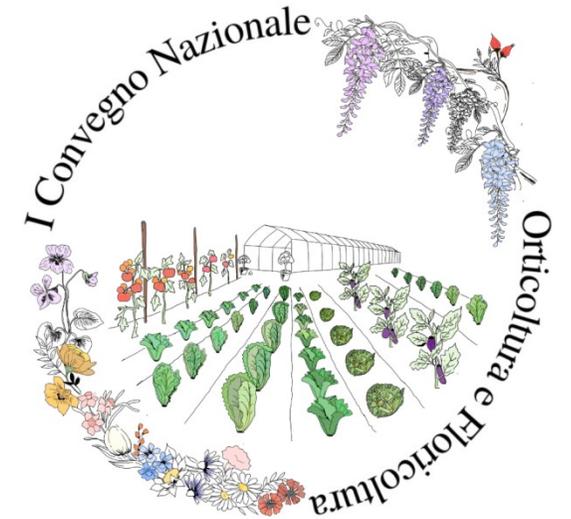
**Laura Marina¹, Forti Chiara, Barberini Sara³, Ciorba Roberto⁴,
Mascarello Carlo¹, Giovannini Annalisa¹, Cassetti Arianna¹,
Ruffoni Barbara¹, Savona Marco^{1*}**

¹CREA Centro di ricerca Orticoltura e Florovivaismo, Corso degli inglesi
508,18038 Sanremo (IM), Italia;

²IBBA CNR Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria, Via Bassini 15, 20133
Milano (MI);

³IPSP CNR Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante, Consiglio
Nazionale delle Ricerche, Via Madonna del Piano 10, 50019 Sesto Fiorentino
(FI);

⁴CREA Centro di Ricerca Olivicoltura, Frutticoltura e Agrumicoltura, Via di
Fioranello 52, 00134 Roma



Pisa

14-16 Giugno, 2022

Con il patrocinio di



Società di **Ortoflorofruitticoltura** Italiana

INTRODUZIONE

La peronospora del basilico (*Ocimum basilicum*) è causata *Peronospora belbahrii* (fungo oomycete) che provoca clorosi e lesioni serie all'intero apparato fogliare. Il danno che ne consegue per le coltivazioni del basilico è evidente, in particolare per la cultivar di élite 'FT Italiko' che viene principalmente coltivata ed utilizzata per sia per il consumo fresco, ma anche trasformata per la produzione del pesto. Grazie al genome editing, mediante tecnologia CRISPR/Cas9, si può intervenire su geni di suscettibilità al fine di ottenere piante editate, putativamente resistenti all'attacco fungino.



Coltivazione di basilico in serra



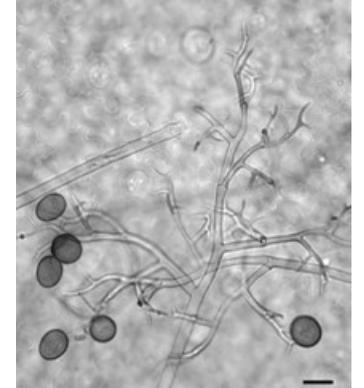
Coltivazione di basilico in pieno campo



Sintomi simili a clorosi lungo le nervature fogliari

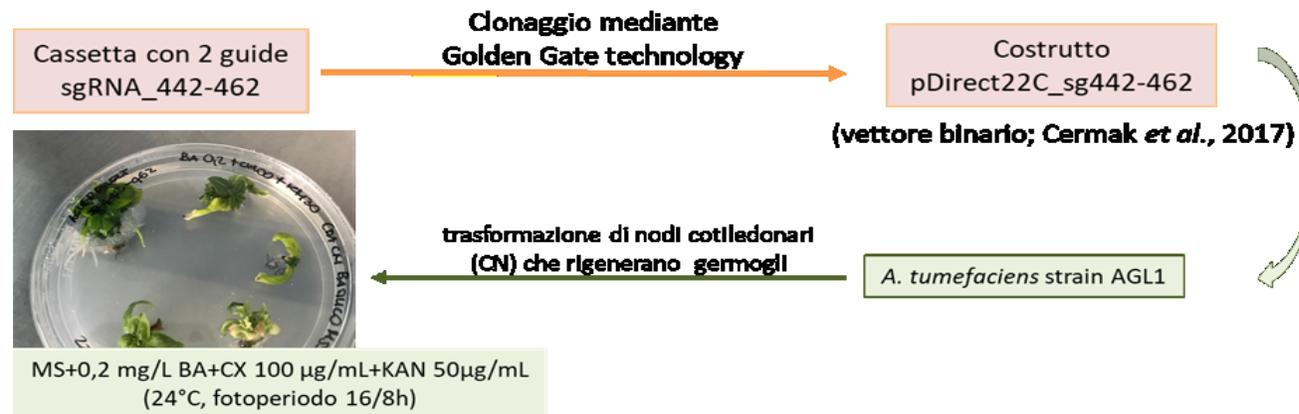


Sporulazione sulla pagina inferiore delle foglie



Fuoriuscita di ramo conidioforo di *P. belbahrii* dallo stoma

MATERIALI E METODI



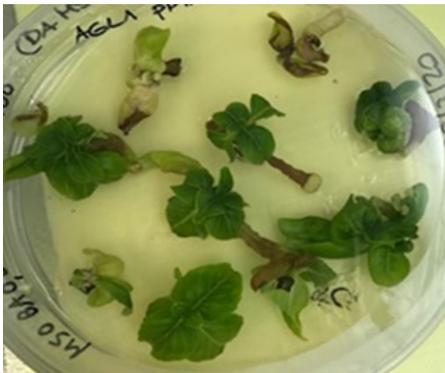
RISULTATI

Dall'esperimento di trasformazione con *A. tumefaciens* dei nodi cotiledonari, prelevati da piantine di due settimane, sono stati ottenuti, via organogenesi diretta, 130 shoots.

AT51_pDirect_22C_sg442-462		
	% rigenerazione (no. esp. rigenerati/no. esp. totali)	no. esp. rigenerati per esp.
CN	82%	2,6

26/130 shoots sono stati selezionati e propagati *in vitro*; ogni germoglio ha dato origine ad un clone. È stata valutata, mediante PCR, l'integrazione della Cas9 e editing del gene *ObDRM6*, sequenziato nella cultivar 'FT Italiko'.

AT51_pDirect_22C_sg442-462		
	Germogli Cas9 ⁺	Germogli editati
Germogli	22/26 (84,6%)	14/17 (82,3%)



Germogli rigenerati da nodi cotiledonari



Clone da germoglio rigenerato



Diverse linee clonali di piante T0 editate (ad esempio Clone 17 A2) sono state ambientate in serra (sotto tunnel con rete insect proof) e indotte a fiore per la produzione di seme e ottenimento della generazione successiva (T1).

Le piante T0 e T1 sono state valutate per diversi tratti fenotipici, in confronto con il wild type (WT) e analizzate per l'eliminazione della Cas9 e mutazione di *ObDMR6* derivata da editing.

ATTIVITA' FUTURE

Per valutare la resistenza acquisita tramite l'editing del gene di interesse, sono in corso saggi di infezione con inoculo di *P. belbaharii* su alcune linee clonali delle piante T0 e T1.

