



Base genomica della resistenza a *Dryocosmus kuriphilus* *Yasumatsu* in provenienze europee di *Castanea sativa* Mill.

**Muriel Gaudet, Paola Pollegioni, Isacco Beritognolo, Marco Cioffi, Marcello Cherubini,
Claudia Mattioni, Fiorella Villani**

*National Research Council of Italy, Research Institute on Terrestrial Ecosystems (CNR IRET),
Viale Marconi, 2, 05010 Porano (TR), Italy*



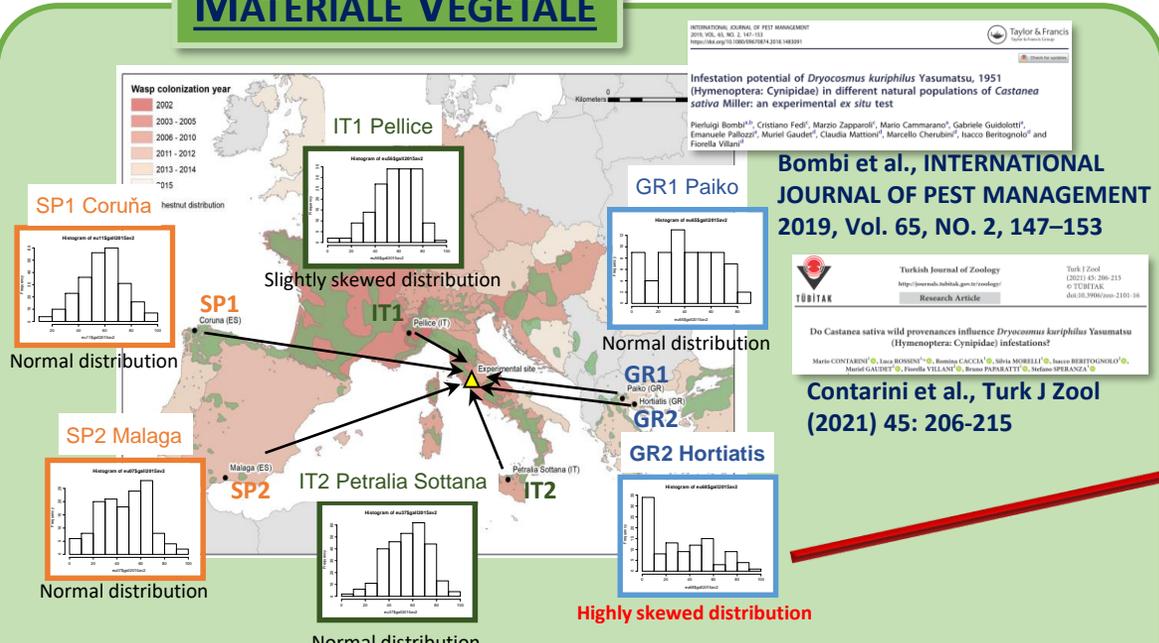
**VIII CONVEGNO NAZIONALE
DEL CASTAGNO**

14, 15 e 16 settembre 2022 - PORTICI - NAPOLI

OBBIETTIVI

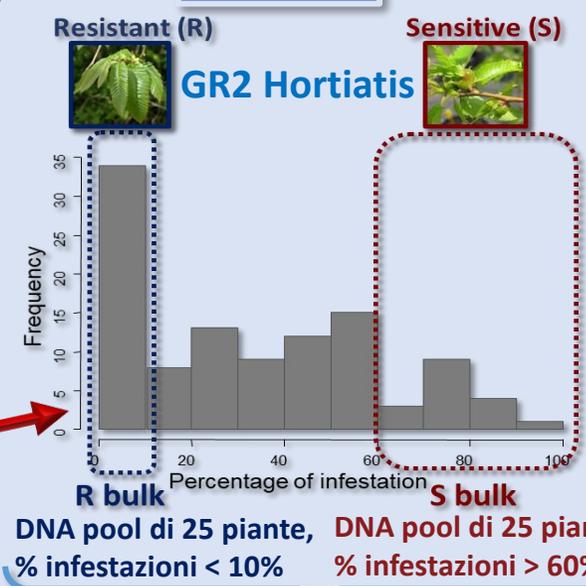
Valutare le variazioni di suscettibilità al cinipide di diverse provenienze Europee di castagno (*C. sativa*) ed identificare dei polimorfismi genetici associati alla resistenza.

MATERIALE VEGETALE



Campo sperimentale common garden
 Piantagione del 2002 (EU Project CASCADE), di circa 1000 piante, con 6 provenienze dalla Spagna, Grecia e Italia.
Valutazione dell'infestazione al cinipide nel 2014 e 2015.
 I dati di infestazione hanno una distribuzione normale, ma la provenienza greca Hortiatis ha un'elevata frazione di piante resistenti. Confermato da 2 studi indipendenti: Bombi et al, 2019; Contarini et al, 2021.

METODI



R bulk DNA pool di 25 piante, % infestazioni < 10%
S bulk DNA pool di 25 piante, % infestazioni > 60%

Distribuzione normale dei dati di infestazione → resistenza al cinipide = **carattere quantitativo multigenico.**
 Provenienza greca Hortiatis è diversa → **Fattore qualitativo mono- o oligogenico,** responsabile dell'alta presenza di piante resistenti?
 Verifica dell'ipotesi
 Analisi comparativa di piante suscettibili e resistenti con un **approccio di genetica di associazione Pool-Seq.**

Sequenziamento a 50X di profondità (Illumina HiSeq2500).

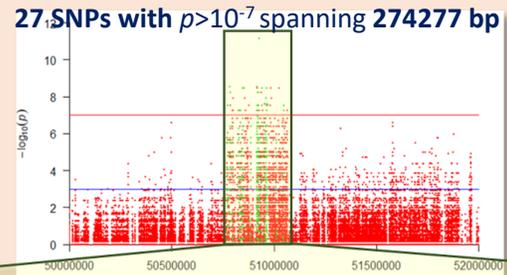
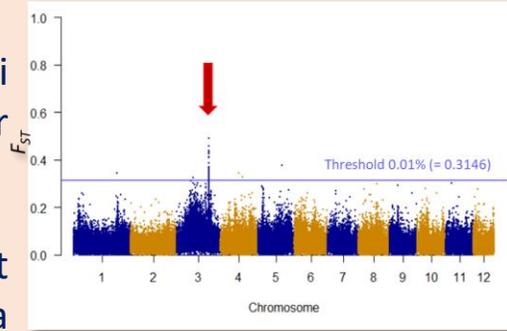
- Pulitura e filtrazione delle **Paired-end reads di 125 bp**
- **Allineamento** delle reads sul **genoma di riferimento *C. mollissima***
- **PoPoolation2** → **Calcolo del F_{ST}** di finestre di 1kb e della **significatività delle differenze di frequenze alleliche (Fisher exact test)** per **identificare gli SNP associati alla resistenza.**

RISULTATI

Manhattan plot del F_{ST} di finestre di 1kb per cromosoma

Cromosoma 3 → F_{ST} medio più alto e presenza di un picco.

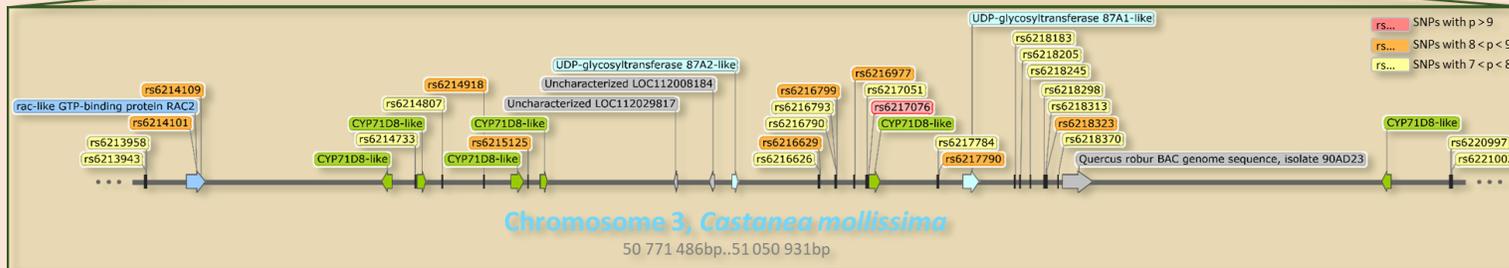
Annotazione funzionale della regione genomica associata alla resistenza al cinipide



Tre principali famiglie di geni candidati coinvolti nella risposta agli stress:

- 1 copia di geni **RAC2/ROP7**, Rac-like GTP-binding protein family, coinvolto nella risposta di difesa e nel signaling delle piante.
- 6 coppie di geni **CYP71D8**, premnaspirodieni oxygenase, cytochrome P450 family, controlla la risposta agli stress abiotici agendo sulla biosintesi e regolazione dei fitormoni
- 2 coppie di geni **UGT87A1/2**, UDP-glycosyltransferase, coinvolti nella risposta agli stress abiotici e biotici agendo sui fitormoni.

Gli SNP significativi evidenziati sono principalmente intergenici



Esistono delle regione genomiche con gruppi di geni coregolati che costituiscono una funzione biologica

= **metabolic gene clusters** (Mizutani and Ohta, Annu. Rev. Plant Biol. 2010. 61:291; Ma et al, Nature Communications 2021. 12:685).

CONCLUSIONI/PROSPETTIVE

Identificata 1 regione genomica (cromosoma 3) con 3 geni candidati associati alla resistenza al cinipide, SNP intergenici
 → Lavoro in corso: analisi regioni regolatrici e promotori; verifica ipotesi metabolic gene cluster.

