



Dipartimento di Scienze Bio-Agroalimentari



Consiglio Nazionale
delle Ricerche

Conferenza Annuale
16 dicembre 2021, Digital edition

Vitantonio Pantaleo

Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante, DiSBA, CNR



Bando DiSBA 2021 – Premio per Progetti di Ricerca - Area Agricoltura, Foreste e Ambiente

Titolo

Indagini applicative di *Virus-induced RNA Silencing* dirette da analisi d'immagini per il controllo di *Amarantus hybridus* senza l'uso di erbicidi

Acronimo

AmaVirALS (*Amaranthus virus-induced ALS silencing*)



Consiglio Nazionale
delle Ricerche

Vitantonio Pantaleo



PROBLEMA

A) Riduzione della Biodiversità Vegetale

B) Impatto delle specie aliene vegetali e patogeni sulle produzioni agricole

Contesto Globale- Agenda ONU 2030:

(Obiettivo 2) raggiungimento della sicurezza alimentare

(Obiettivo 3) aumento della produttività delle colture e rafforzamento della capacità di adattamento ai cambiamenti climatici.

Contesto Europeo-Direttiva 2009/128/EC e European Green Deal (EGD)

riduzione significativa sia dell'utilizzo di sostanze chimiche pericolose e da contaminazione, che dell'inquinamento dell'aria, delle acque e del suolo.

STRATEGIA

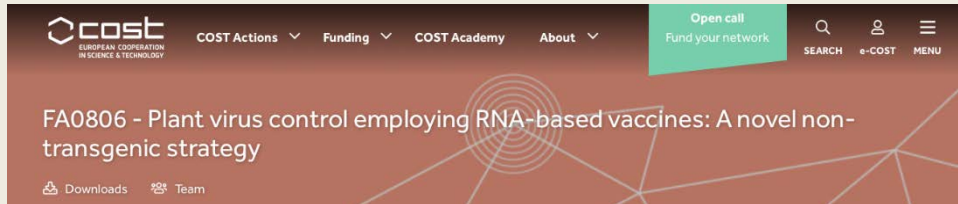
Piano Nazionale di Ripresa e Resilienza (PNRR)

(Missione 2, Rivoluzione verde e transizione ecologica)

Sviluppo di metodi innovativi (o alternativi) per la difesa delle colture da organismi dannosi e prevenzione di danni e attacchi dei patogeni al fine di rafforzare la protezione dell'ambiente e della salute umana.



Network Periodo di attività:2009-2013



Editoriale su "Science"



Editoriale su "Le Science"



SOLUZIONI

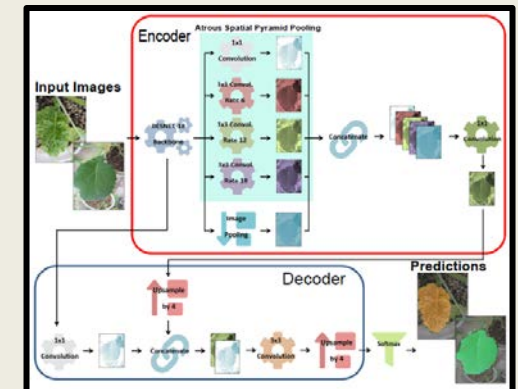
Innovazione attraverso l'uso di tecnologie degli acidi nucleici

RNA technologies: disegno e applicazione di molecole ad RNA contro patogeni o per modulare il fenotipo della pianta o come molecole alternative ad erbicidi attraverso GMO/non-GMO

Studi di biodiversità: disegno di geni sintetici per la valorizzazione delle risorse genetiche.

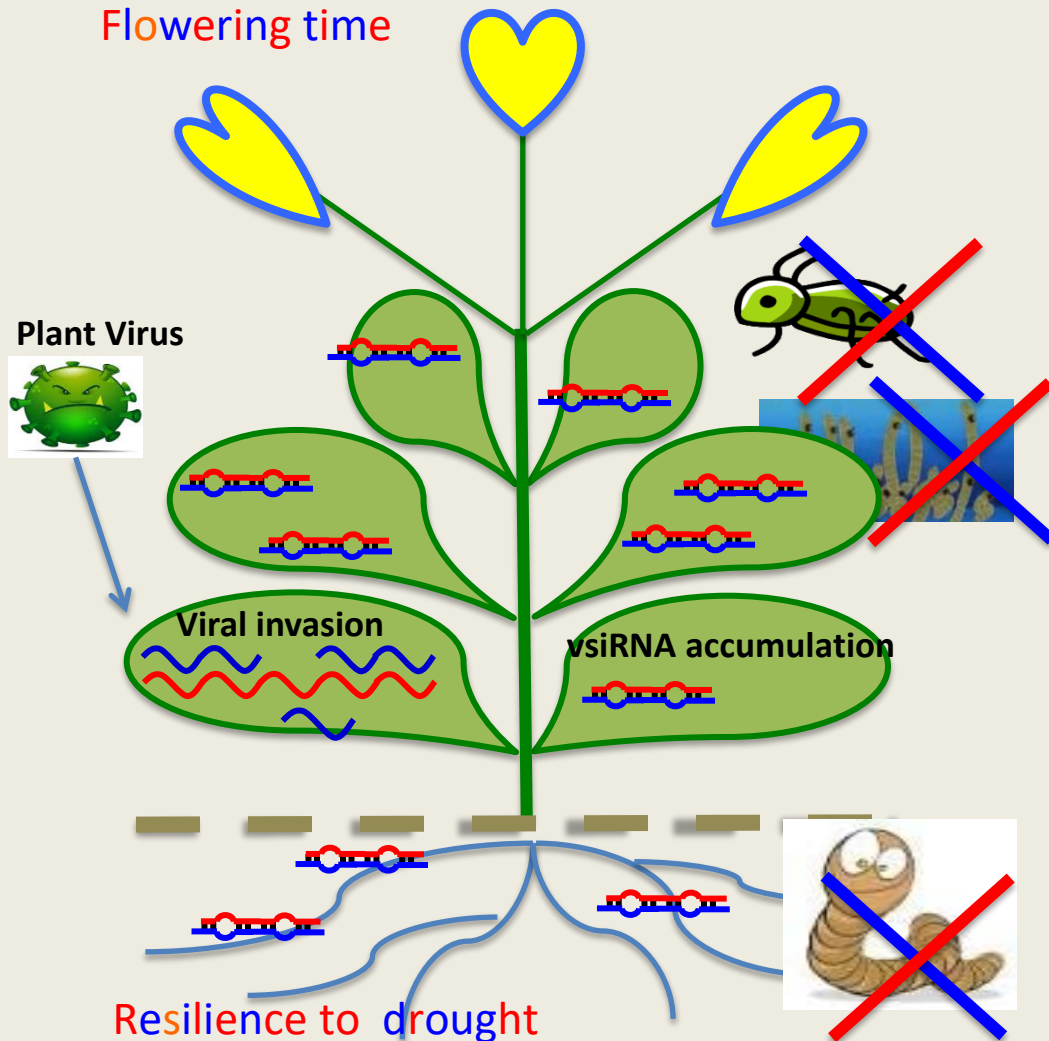
Machine learning per la salvaguardia delle piante mediante individuazione valutazione oggettiva del fenotipo malato e trattato.

Bioinformatica: sviluppo di protocolli per la diagnosi e l'identificazione dei target delle molecole a RNA.





Flowering time



Nucleic-acid technologies in agricoltura:

sono alternative innovative per il controllo classico dei patogeni e «pests» delle piante
(**riduzione prodotti chimici classici**)

per la produzione di prodotti biodegradabili
(**sostenibilità ambientale**)

possono non essere transgeniche (**no-GMO**)

possono indurre o spegnere geni per modulare gli stati fisiologici delle piante in modo specifico
(**tempo di fioritura, resistenza a clima avverso**)



AmaVirALS: il PROBLEMA SPECIFICO

***Amaranthus hybridus* L.: specie vegetale di origine del Nord America introdotta in Europa e altamente invasiva**
(Krähmer H et al, 2020. Crop Prot)



Infestante annuale di colture
estive (soia, mais, carota, ecc.)



Controllata attraverso erbicidi di post-emergenza:
- **Inibitori dell'acetolattato sintasi (ALS)**
- Inibitori dei PSII
- Inibitori dell'EPSPs (glyphosate)



Evoluzione di resistenza
multipla

Necessità di nuovi sistemi di controllo delle infestanti non-chimici



Consiglio Nazionale
delle Ricerche

Vitantonio Pantaleo

PSP



AmaVirALS: il TARGET e Virus Induced Gene Silencing (VIGS)

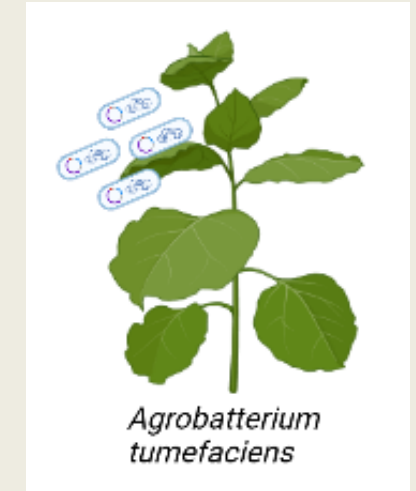
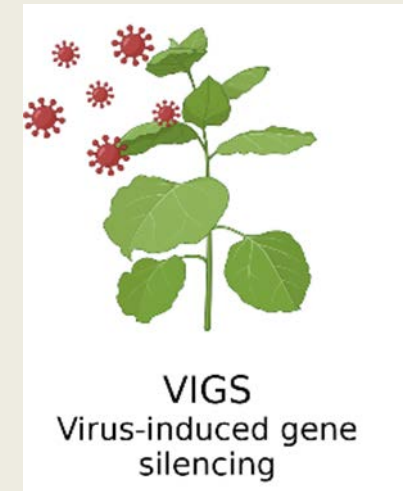
Amaranthus hybridus L.

monoica
autogama
diploide

elevata produzione di seme

Acetolattato sintasi (ALS)

Gene piccolo (2010 bp)
singola copia
nucleotide-stable
senza introni



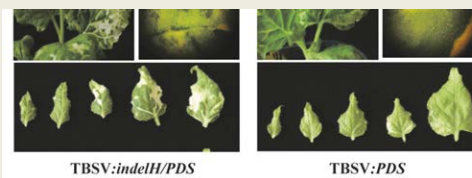
Perchè (VIGS)?

A

E' necessario raggiungere un
"proof of concept"(PoC) nel
breve termine (1 anno)

B

Sono presenti le skills
certificate da pubblicazioni



F 3 7

Gursinsky 2015, Plant Physiology

C

Approcci VIGS sono dimostrati
in *Amarantus* spp

A virus-induced gene-silencing system for functional
genetics in a betalainic species, *Amaranthus tricolor*
(Amaranthaceae)

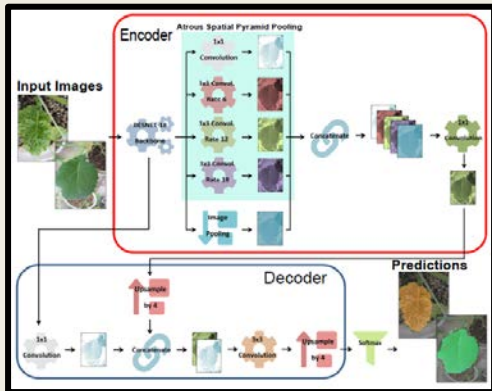
Dinesh Adhikary^{1*}, Upama Khatri-Chhetri², Fiona J. M. Tymn³, Susan J. Murch³, and Michael K. Deyholos¹

Applications
in Plant Sciences



AmaVirALS: Attività, skills e sviluppo temporale delle attività

Intelligenza Artificiale –Deep learning



Integrazine con
piattaforme consolidate



Leonetti et al, New Physiologist

Attività	Attività leader	Personale coinvolto
a) Identificazione e analisi di ALS in <i>A. liparidis</i> e omologia in pianta modello <i>N. benthamiana</i>	Andrea Miliani	Silvia Panozzo, Vitantonio Pantaleo, Laura Scardel
b) Identificazione e costruzione delle molecole dsRNAs	Vitantonio Pantaleo	
1) Clonaggio in vettore tirano e ago-infiltrazione	Silvia Panozzo	Andrea Miliani, Laura Scardel
2) Clonaggio nel vettore virale TRV e iniezione delle piante mediante ago-infiltrazione	Vitantonio Pantaleo	Paola Lorenzi, Andrea Miliani
3) Controllo del sistema N. benthamiana/TBSV	Vitantonio Pantaleo	Paola Lorenzi
4) Effetto del TBSV sull'espressione delle molecole ad RNA e effetti fenotipici ad essi associati	Paola Lorenzi	
1) Studi di espressione genica (qPCR)	Silvia Panozzo	Andrea Miliani, Paola Lorenzi
2) Analisi immagini e integrazione con NGS mediante implementazione del software GeneSearchNGS	Paola Lorenzi	Silvia Panozzo
g) Valutazione brevettabilità di prodotto/processo, pubblicazione scientifica e disseminazione	Vitantonio Pantaleo	Tutti i componenti del gruppo di ricerca





Consiglio Nazionale
delle Ricerche

Vitantonio Pantaleo

PSP



Team di Ricerca IPSP

Silvia Panozzo (ricercatrice)
Biotecnologa, malerbologa
Si occuperà di agroinfiltrazione,
PCR e qPCR



Vitantonio Pantaleo. Virologia vegetale, RNA silencing, RNAi, technology transfer Si occuperà di coordinare il progetto, clonaggi, espressione VIGS e espressione transiente. per silenziamento genico



Paola Leonetti (ricercatrice)
Biochimica, biologa molecolare
Si occuperà di espressione genica e sviluppo/applicazione machine Learning

Andrea Milani (assegnista)
Biotecnologo, malerbologo. Si occuperà della coltivazione delle piante di *Amaranthus*, analisi sequenze ALS, analisi Mfold e qPCR



Serena Varotto (prof. associato UNIPD)
Biologa, genetista agraria
Collaborazione già avviata e che proseguirà col Progetto AmaVirALS

Piattaforma Technologie CNR



Laura Scarabel (ricercatrice,
responsabile sede di Legnaro)
Biologa, malerbologa
Si occuperà della produzione dei dsRNA e analisi delle sequenze





Consiglio Nazionale
delle Ricerche

Vitantonio Pantaleo



RINGRAZIAMENTI

Sabato D'Uria

per la continuità ed il consolidamento nella promozione della ricerca del DiSBA con i PREMI ai ricercatori per l'attenzione attraverso la valutazione ai valori scientifici e di visione che abbiamo espresso nella nostra proposta progettuale

Staff DiSBA

per l'egregio supporto ai presentatori e per la comunicazione DiSBA

Mauro Centritto

in quanto fermo promotore del corso dei seminari dell'IPSP che ha "favorito" il rapporto virtuoso tra la sede di Legnaro e quella di Bari

A VOI TUTTI PER L'ATTENZIONE