crea
Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria

Centro di ricerca
Viticoltura ed Enologia

Tecniche attuali e di prospettiva per il miglioramento genetico

Riccardo Velasco,
Direttore del CREA VE

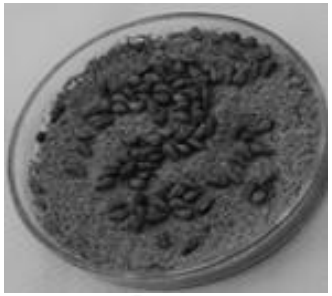
Confagricoltura Treviso

Miglioramento genetico della vite al CREA VE

Confagricoltura Treviso

Progetto "GLERES": miglioramento genetico per le principali ampelopatie a partire da Glera

GERMINAZIONE E MANTENIMENTO SEMENZALI



Popolazioni	F1 Vinaccioli	Piante
2017	5.000	3.000
2018	11.000	5.000
2019	2750	1.750
2020	15.500	10.000

In due annate

FONTI DI RESISTENZA ED INCROCI

Pop.	Varietà nobile	Varietà resistente	Numeri di geni di resistenza	Geni di resistenza
2012 - 2018	Glera	Kunleany, Bianca, Regent, Bronner, Solaris, Kozma 20/3, Muscaris, Souvignier gris, C50, Cabernet cantor, SK-00-1/1 e 1/2, Calardis blanc	Da 1 a 2 Rpv loci Da 0 a 1 Ren/Run loci	Rpv3, Rpv12, Rpv10, Ren3, Ren9
2019 - 2020		Floreal, 01-01-686 e 881, VC531.039, VC156.1017, VC109.033, SK-00-1/7, Glera F1s	Da 2 a 3 Rpv loci Da 1 a 2 Ren/Run	Rpv1, Rpv3, Rpv12, Rpv10, Run1, Ren1, Ren3, Ren9

SEMINA POPOLAZIONI 2020 – 50% DEI VINACCIOLI

2021

7500
semi

↓

4500
piantine

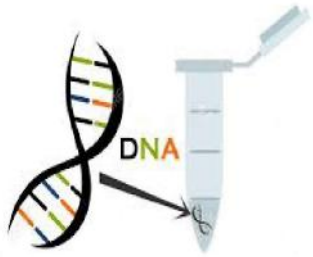
2022

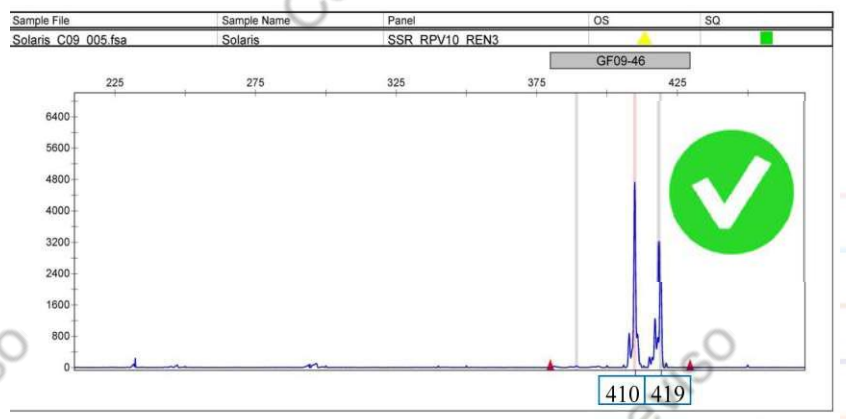
7500
semi

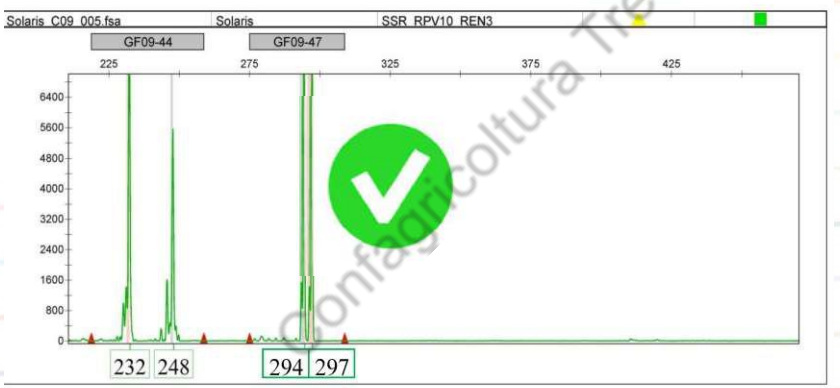
↓

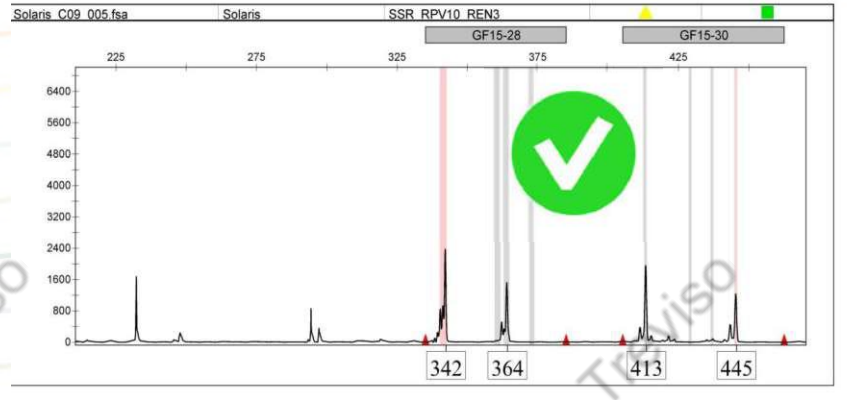
3165
piantine

SELEZIONE MOLECOLARE









Pop	Analisi molecolari	Piante selezionate
2016	1050	605
2017	2100	592
2018	4400	1800
2019	1750	1000
2020	4500+3165	2200+1500

Anno di valutazione	**2020**
F1 con un capo a frutto	147
F1 con grappoli e una completa valutazione fenologica	135
F1 con ridotta vigoria-produzione, mutazioni, caratteristiche negative dei grappoli (dimensione, acinellatura, etc.), e molto suscettibili alle malattie	68
F1 osservate nel corso della maturazione	12
F1 con valutazioni alla vendemmia	**8**

LE POTENZIALI SELEZIONI: ANALISI CHIMICA

ID code	Incrocio	Data raccolta	Brix°	Acidità titolabile g/l	pH
SR_6_5_1	Glera x Bronner	03-set	21,4	4,8	3,37
SR_7_1_7	Glera x Solaris	18-set	18,5	8	3
SR_7_2_2	Glera x Solaris	10-ago	19,1	6,8	3,14
SR_7_2_6	Glera x Solaris	03-set	17,1	6,4	3,14
SR_7_3_8	Glera x Solaris	11-set	19,6	6,2	3,22
SR_7_7_8	Glera x Kunleany	11-set	16,1	6,1	3,34
SR_7_8_7	Glera x Kunleany	08-set	17	8,5	3,26
SR_7_8_8	Glera x Kunleany	08-set	17,7	8,4	3,18
Glera		18-set	18,5	6,5	3,33
Solaris		10-ago	20,8	8,4	3,12
Bronner		03-set	19,4	7,4	3,17
Kunleany		24-ago	16,2	8,2	3,18

MOLTIPLICAZIONE DELLE SELEZIONI DEL 2020

13_06bc_038 GxBr

13_05b_006 GxSs

13_05b_001 GxSs

14_05d_012 GxSs

14_05d_023 GxSs

14_10b_086 GxKy

14_10b_111 GxKy

14_10b_112 GxKy

Materiale innestato			
VARIETÀ	FILARE	INNESTI	RESE
Glera	6_5_1	60	41
Glera	7_1_7	44	26
Glera	7_2_2	60	35
Glera	7_2_6	49	28
Glera	7_3_8	50	38
Glera	7_7_8	43	27
Glera	7_8_7	35	22
Glera	7_8_8	65	38
	TOT	**406**	**255**

Messa a dimora di almeno 25 viti per selezione, nel 2024 LE PRIME MICROVINIFICAZIONI

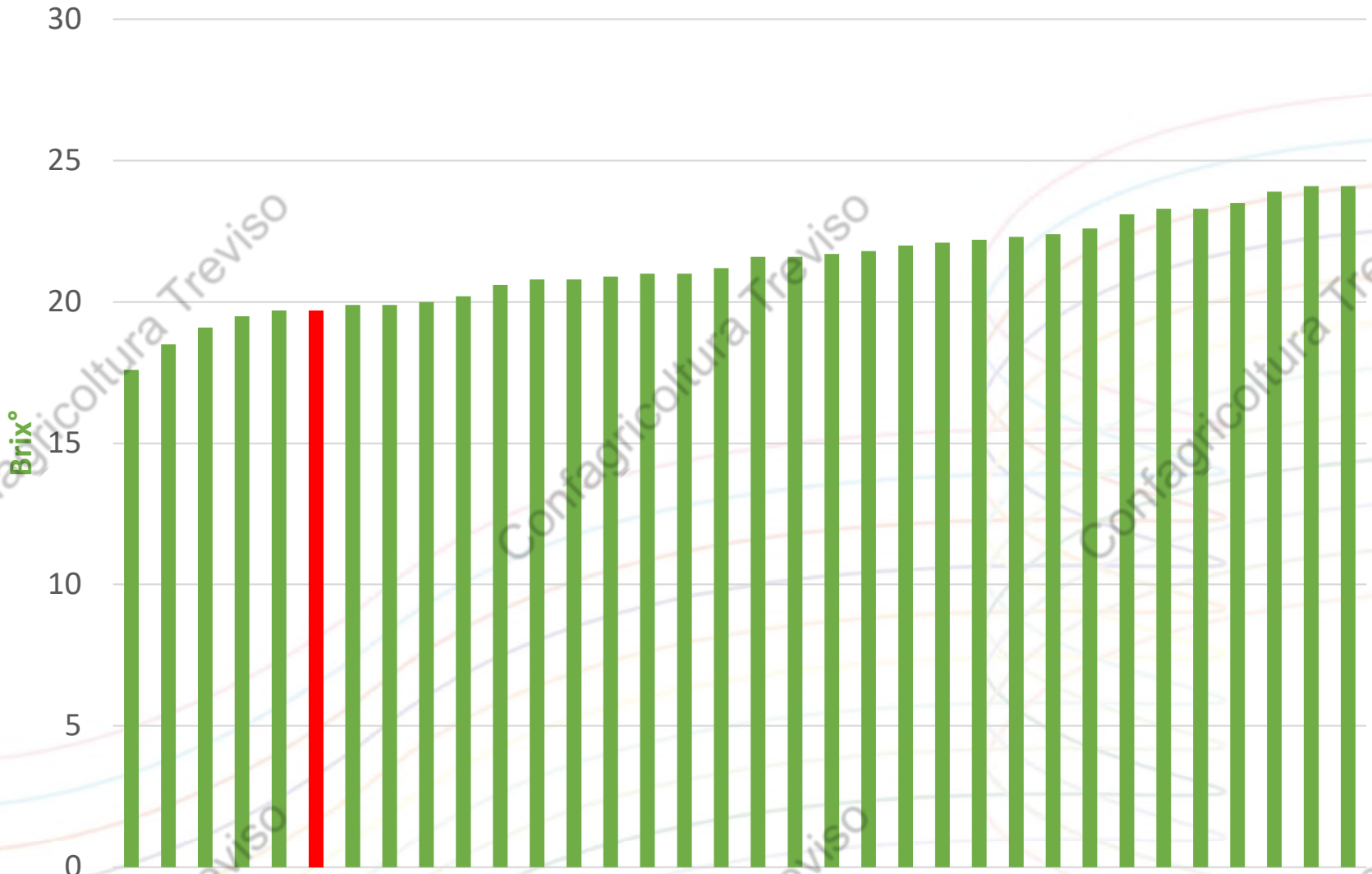
LA SELEZIONE PER I CARATTERI AGRONOMICI

Anno di valutazione	**2020**	**2021**
F1 con un capo a frutto	147	477
F1 con grappoli e una completa valutazione fenologica	135	305
F1 con ridotta vigoria-produzione, mutazioni, caratteristiche negative dei grappoli (dimensione, acinellatura, etc.), e molto suscettibili alle malattie	68	54
F1 osservate nel corso della maturazione	12	56
F1 con valutazioni alla vendemmia	**8**	**29**

Altri 5 sono stati scartati per valutazioni negative in fase di vendemmia (marciumi o peronospora)

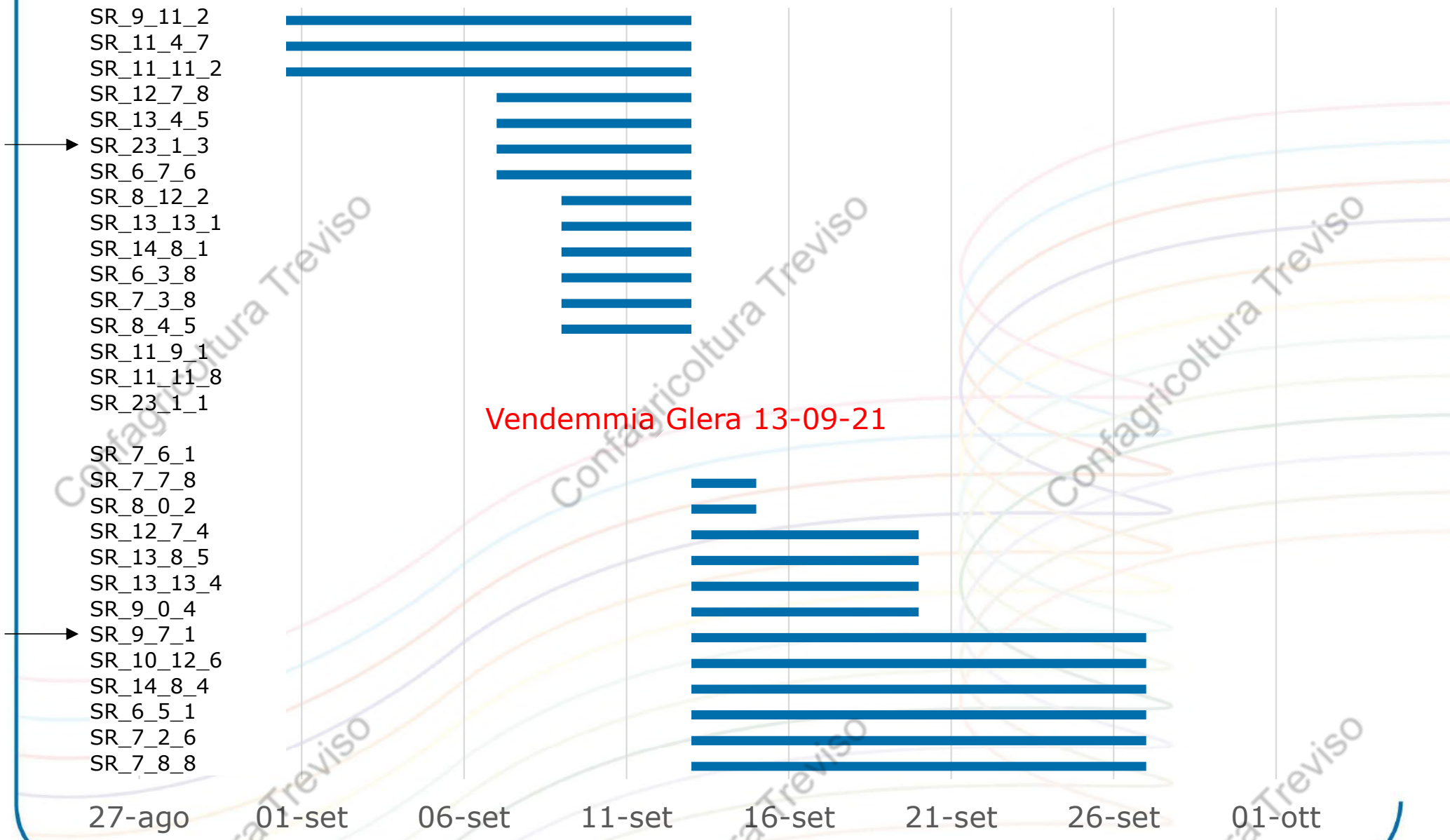
Di cui 5 anno 2020 (3 non avevano produzione sufficiente) e 24 nuovi genotipi

GRADO BRIX ALLA VENDEMMIA

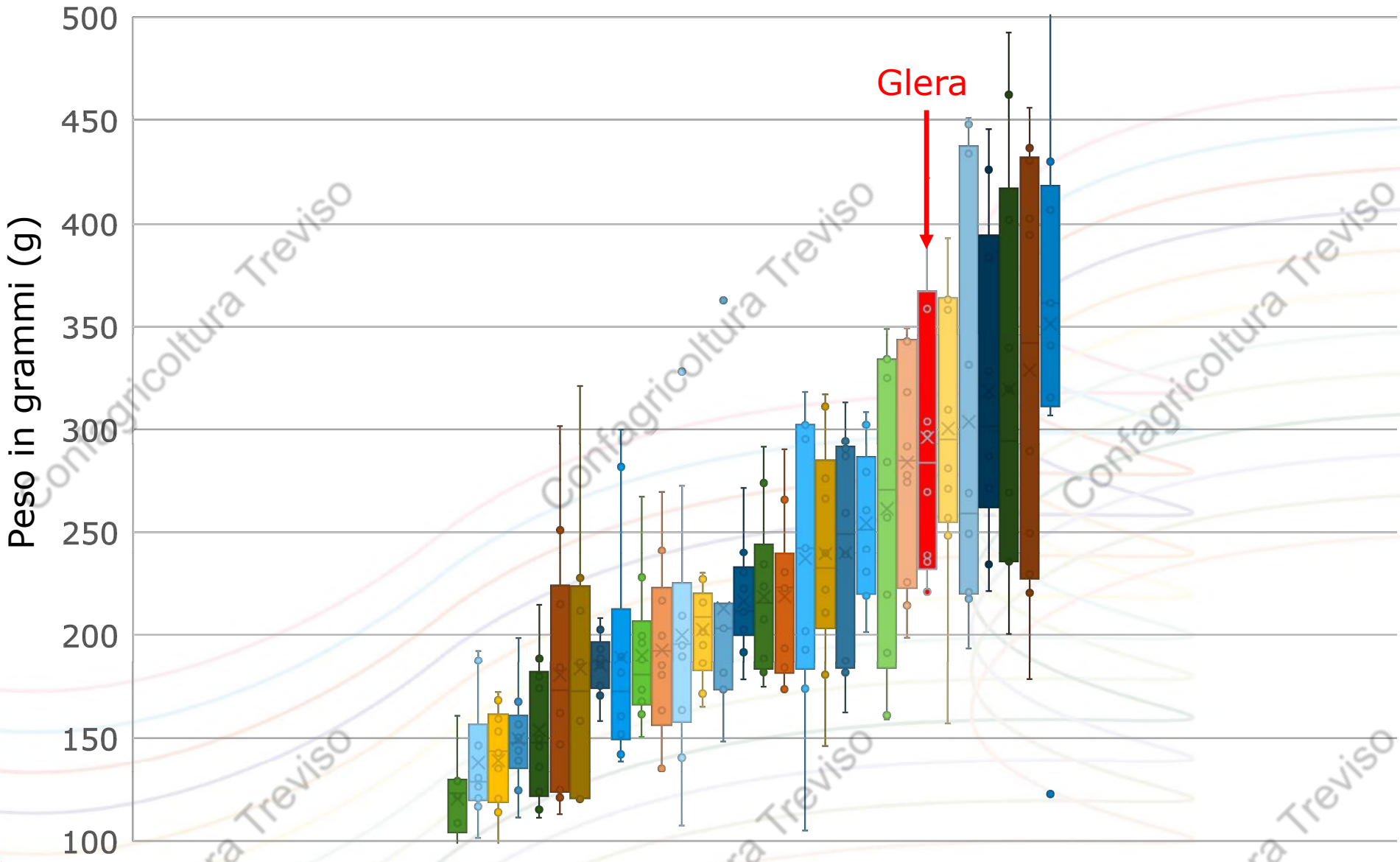


Confagricoltura Treviso

DATA DI VENDEMMIA 2021



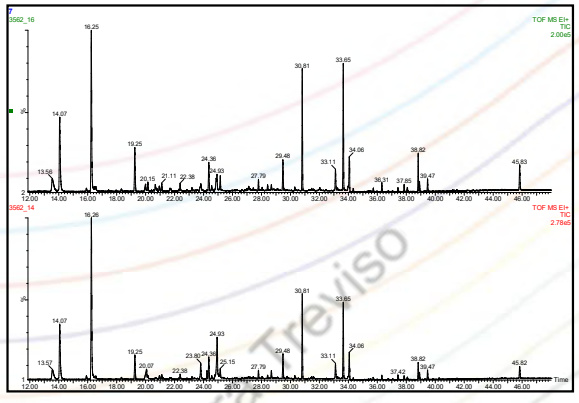
PESO MEDIO GRAPPOLI SELEZIONI 2021



PRECURSORI AROMATICI DI DUE SELEZIONI

principali precursori di aromi in forma glicosilata	Parentale Glera	Genotipo C 7-8-8	Genotipo C 7-3-8
Terpenoli			
somma furan linalolo ossidi	*	*	*
linalolo	*	*	**
α terpineolo	*	*	*
somma piran linalolo ossidi	**	**	*
nerolo	*	*	*
geraniolo	***	***	***
eso-2-idrossicineolo	n.d.	n.d.	n.d.
diolo I	*	*	*
trans-8-idrossilinalolo	**	**	**
idrossigeraniolo	***	**	***
cis-8-idrossilinalolo	***	***	***
acido geranico	***	**	**
7-idrossi-α-terpineolo	**	**	***

principali precursori di aromi in forma glicosilata	Parentale Glera	Genotipo C 7-8-8	Genotipo C 7-3-8
Composti benzenoidi			
benzaldeide	**	**	**
guaiacolo	*	**	n.d.
alcol benzilico	***	***	***
β-feniletanolo	***	***	***
eugenolo	**	**	*
vinil guaiacolo	***	***	***
trimetossifenolo	***	***	**
vanillina	**	**	*
vanillato di metile	*	**	**
alcol omovanillico	**	***	**
siringaldeide	*	**	n.d.
3-idrossibenzenemetanolo	**	**	***
Norisoprenoidi			
3-idrossi-β-damascone	**	***	***
3-oxo-α-ionolo	***	***	***
3,9-diidrossimegastigma-5-ene	**	**	***
vomifoliolo	***	***	***
Composti alifatici			
1-esanolo	**	**	**
trans-3-esen-1-olo	n.d.	*	n.d.
cis-3-esen-1-olo	**	*	**
2-esen-1-olo	*	*	*
esanale	**	*	*
2-esenale	**	**	**
furfurale	*	*	n.d.

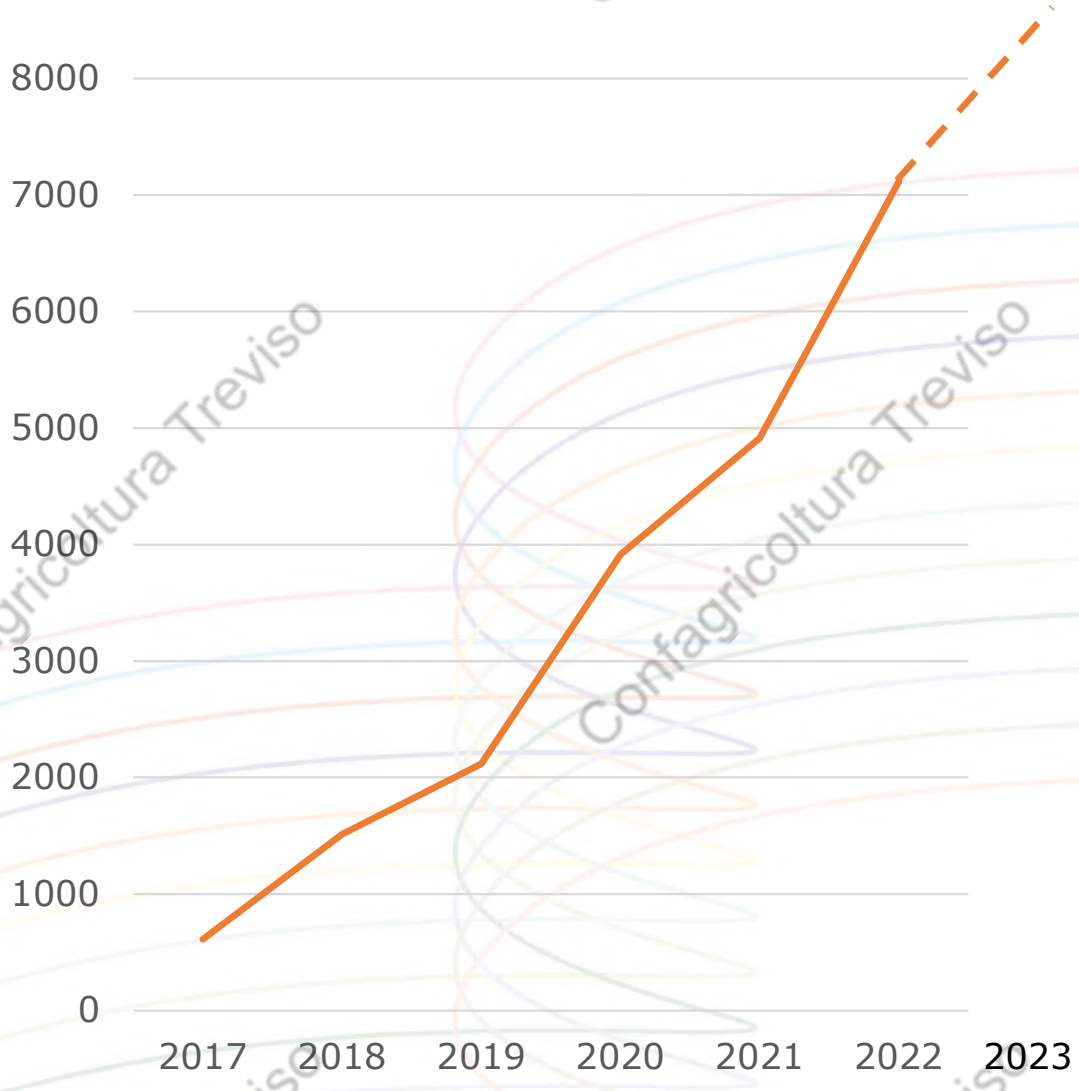


LA SELEZIONE PER I CARATTERI AGRONOMICI

Anno di valutazione	**2020**	**2021**	**2022**
F1 con un capo a frutto	147	477	**1475**
F1 con grappoli e una completa valutazione fenologica	135	305	**1203**
F1 con ridotta vigoria-produzione, mutazioni, caratteristiche negative dei grappoli (dimensione, acinellatura, etc.), e molto suscettibili alle malattie	68	54	**1118**
F1 osservate nel corso della maturazione	12	56	**152**
F1 con valutazioni alla vendemmia	**8**	**21**	**142**

IMPIANTO INCROCI

Incroci	Anno d'impianto		Selezioni di Glera
2012-2015	2017	8	200
2016	2018	21	900
2017	2019	142	600
2018	2020		1800
2019	2021	….	1000
2020	2022	….	2200
2020/21	2023	….	1500



400/500 piante moltiplicate per la microvinificazione entro il 2030

2020/23 – Nuovo campo di selezione

8.200 piante oggi disponibili per la selezione

Valutazioni 2022 in corso….

Glera

Gleres F1

Gleres F1

Biotecnologie “antiche” e “moderne”

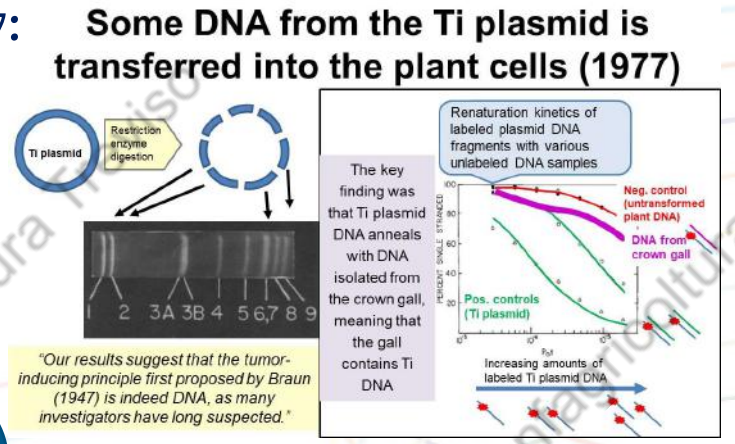
Quali prospettive?

Confagricoltura Treviso

Dal miglioramento genetico all'avvento delle biotecnologie vegetali

1950: le leggi di Mendel e la rivoluzione verde

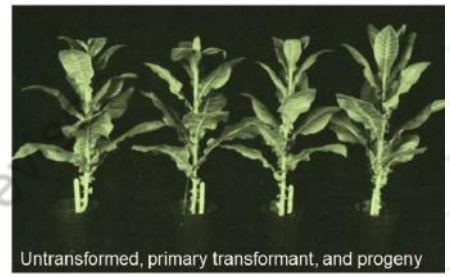
1977:



1982: le prime piante OGM

The development of *Agrobacterium* as a vector for plant transformation

- Modifications to the Ti plasmid
- Regeneration of transgenic plants from transformed cells



Stralci della 18/2001

Riguardo agli organismi geneticamente modificati la Direttiva 2001/18/EC recita all'articolo 2:

«organismo geneticamente modificato (OGM)», un organismo, diverso da un essere umano, il cui materiale genetico è stato modificato in modo diverso da quanto avviene in natura con l'accoppiamento e/o la ricombinazione genetica naturale. Ai fini della presente definizione:

a) una modificazione genetica è ottenuta almeno mediante l'impiego delle tecniche elencate nell'allegato I A, parte 1;

...

Il successivo Articolo 3 specifica delle deroghe:

Deroghe

1. La presente direttiva non si applica agli organismi ottenuti con le tecniche di modificazione genetica di cui all'allegato I B.

...

Segue...

Allegato 1A
TECNICHE DI CUI ALL'ARTICOLO 2, PARAGRAFO 2
PARTE 1

Sono OGM

Le tecniche di modificazione genetica di cui all'articolo 2, paragrafo 2, lettera a), comprendono tra l'altro:
*1) **tecniche di ricombinazione** dell'acido nucleico che comportano la formazione di nuove combinazioni di materiale genetico mediante inserimento in un virus, un plasmide batterico o qualsiasi altro vettore, di molecole di acido nucleico prodotte con qualsiasi mezzo all'esterno di un organismo, nonché la loro incorporazione in un organismo ospite nel quale non compaiono per natura, ma nel quale possono replicarsi in maniera continua;*
*2) **tecniche che comportano l'introduzione diretta** in un organismo di materiale ereditabile preparato al suo esterno, tra cui la microiniezione, la macroiniezione e il microincapsulamento;*
*3) **fusione cellulare** (inclusa la fusione di protoplasti) o tecniche di ibridazione per la costruzione di cellule vive, che presentano nuove combinazioni di materiale genetico ereditabile, mediante la fusione di due o più cellule, utilizzando metodi non naturali (**non-sessualmente compatibili**).*
.....

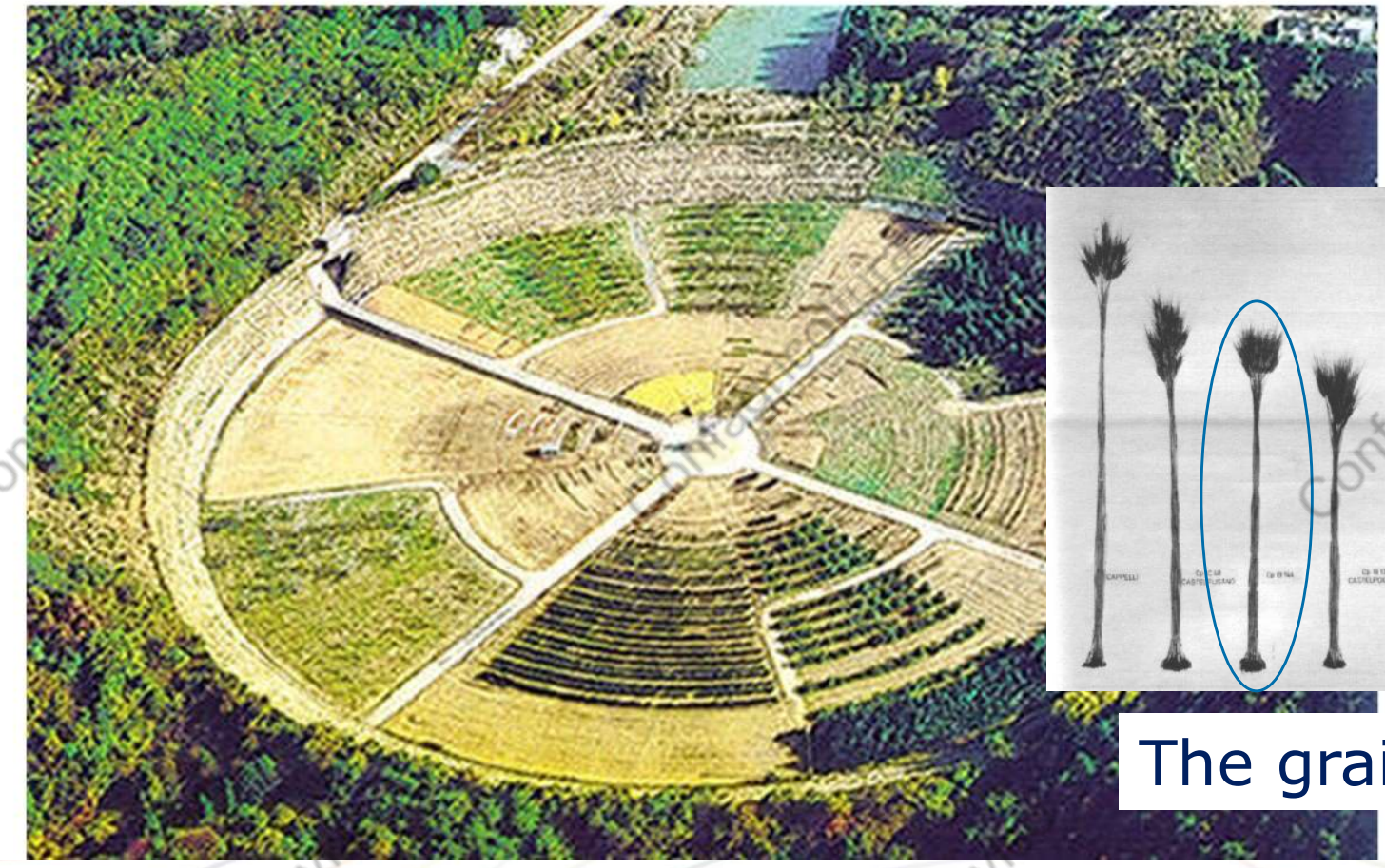
Allegato I B
TECNICHE DI CUI ALL'ARTICOLO 3

NON-Sono OGM

Le tecniche o i metodi di modificazione genetica che implicano l'esclusione degli organismi dal campo di applicazione della presente direttiva, a condizione che non comportino l'impiego di molecole di acido nucleico ricombinante o di organismi geneticamente modificati diversi da quelli prodotti mediante una o più tecniche oppure uno o più metodi elencati qui di seguito sono:
*1. la **mutagenesi;***
*2. la **fusione cellulare** (inclusa la fusione di protoplasti) di cellule vegetali di organismi che possono scambiare materiale genetico anche con metodi di riproduzione tradizionali (**sessualmente compatibili**).*

Radiation mutagenesis: plant CP B144

Experimental field ENEA ('50-'60)



The grain CRESO

Varietà mutate ottenute in numerose specie di uso agricolo:

2500 varietà coltivate di cereali, industriali e ornamentali

Largamente utilizzate in tutto il mondo inclusa la coltivazione biologica

Il pompelmo rosa

È un agrume ottenuto per mutagenesi

OIDIO

LOCI principali disponibili associati alla resistenza a *Erysiphe necator*

Run 1, 2.1 e 2.2: *M. rotundifolia*
Ren 1: *V. vinifera!*
Ren 2: *V. cinerea*
Ren 3: *V. rupestris*? (in Regent)
Ren 4 e 5: *V. romanetii*
Ren 6 e 7: *V. piasezkii*
Ren 9: *V. rupestris*? (in Regent)

PERONOSPORA

LOCI principali disponibili associati alla resistenza a *Plasmopara viticola*

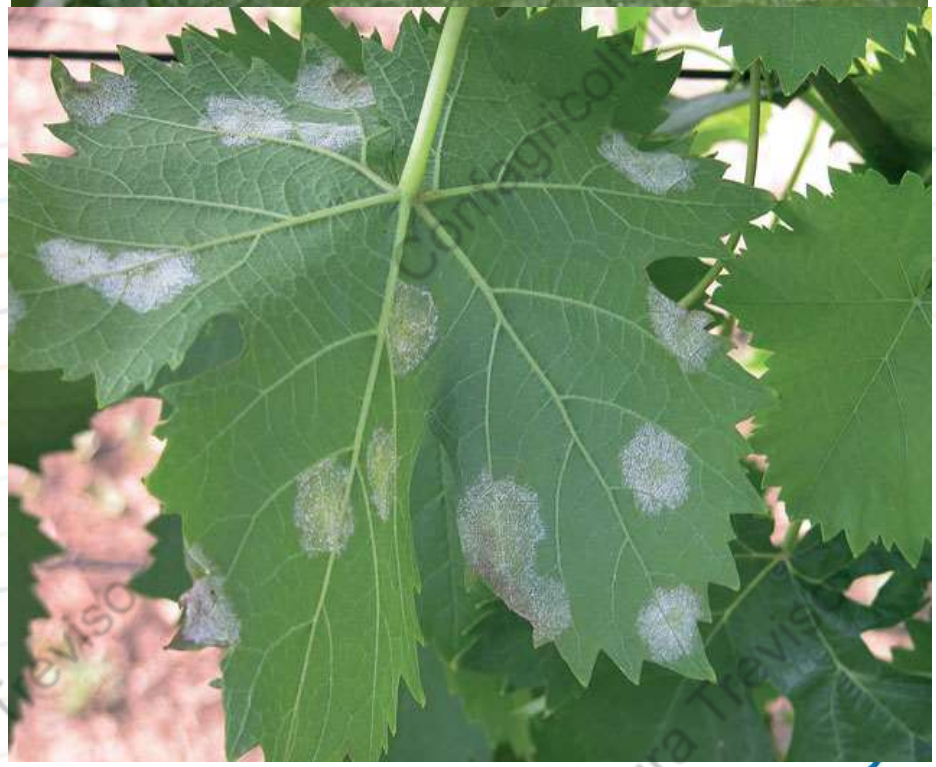
Rpv 1 e 2: *M. rotundifolia*

Rpv 3: *V. rupestris, V. lincecumii*

Rpv 5 e 9: *V. riparia*

Rpv 8, 10 e 12: *V. amurensis*

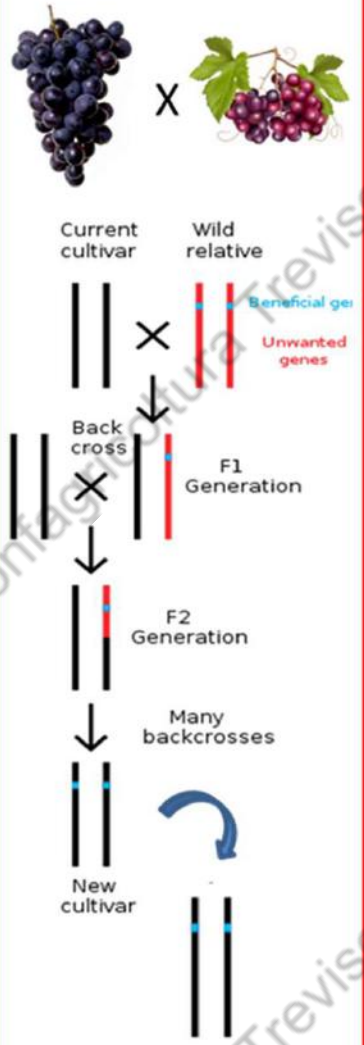
Rpv 14: *V. cinerea*



Anni ’90: i primi geni di vite associati a resistenze genetiche vengono isolati nelle viti americane

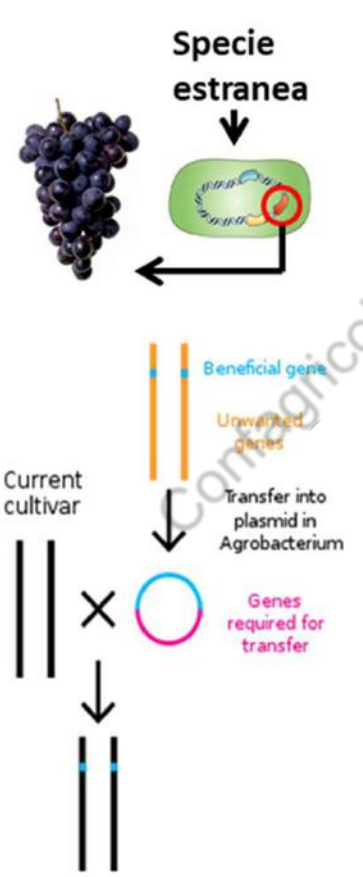
Modifica Genetica

Incrocio Convenzionale



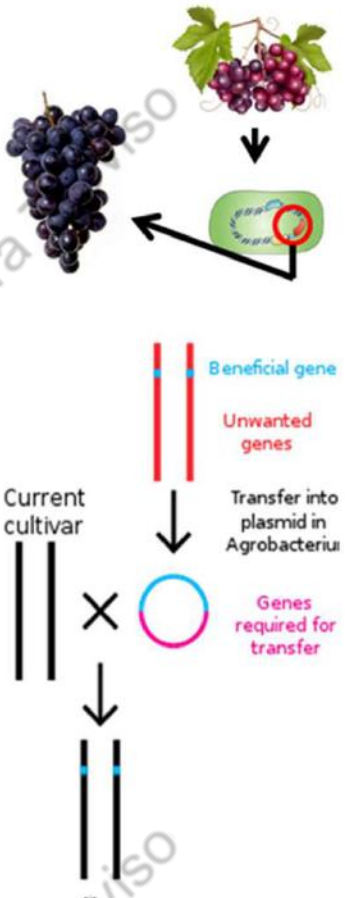
15-25 anni

Trangenesi



3 anni

Cisgenesi



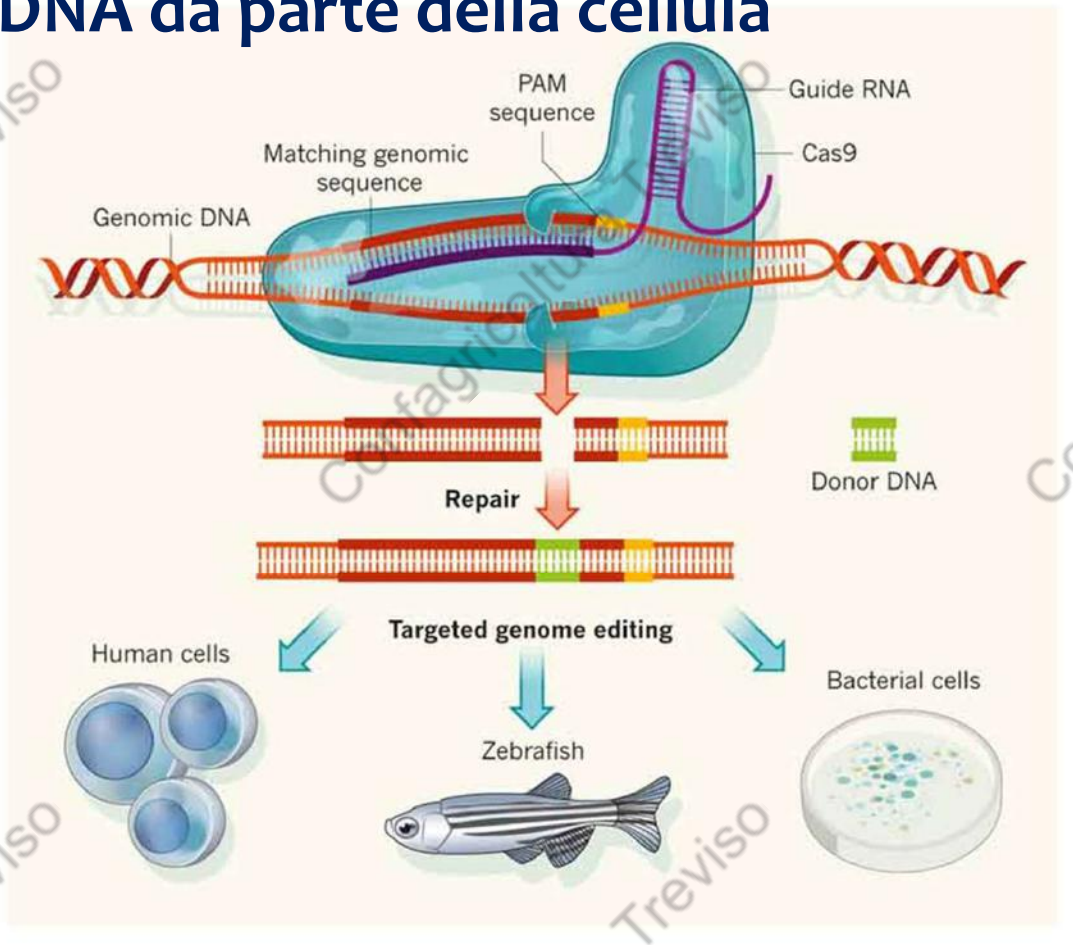
3 anni

Cisgenesi

Specie affini

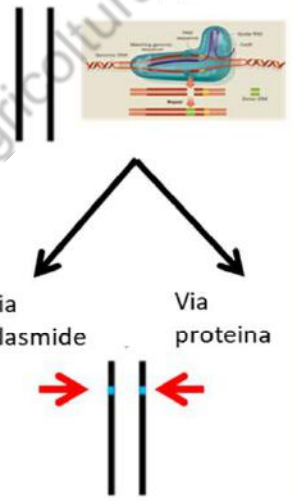
1. Materiale genetico trasferibile sessualmente
2. Gene trasferito nella forma “nativa”
3. Nessuna traccia di DNA esogeno rimannente dopo il trasferimento

CRISPR/Cas9 una proteina capace di indurre mutagenesi tramite taglio dello «specifico» sito del DNA seguito da riparazione dello stesso DNA da parte della cellula



Genome Editing (mutagenesi)

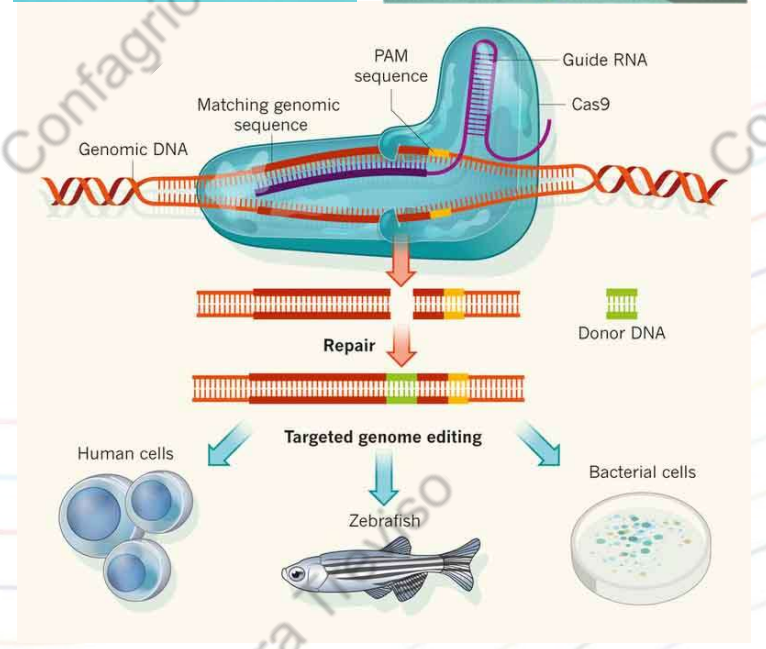
Crispr/cas9



Espressione transitoria e non introducendo DNA

3 anni

CRISPR/Cas9: biotechonology revolution (genome editing = mutagenesi biologica?)



Premi Nobel per la chimica 2020
J. Doudna e M. Charpentier

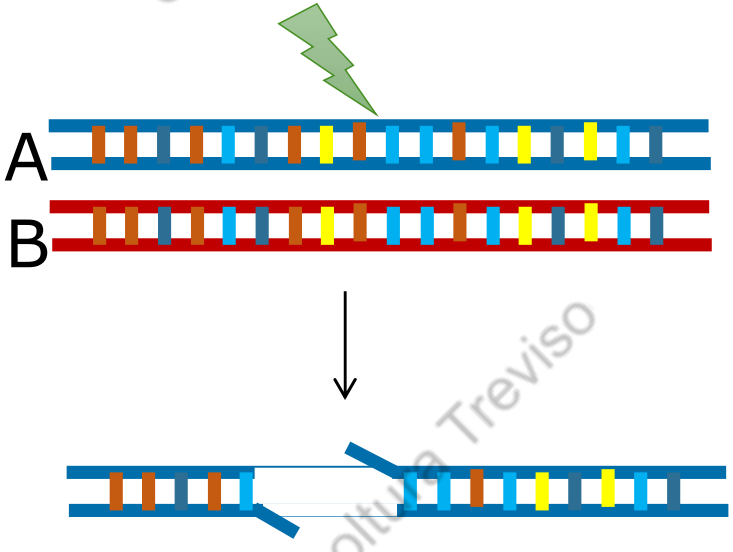
Sono da considerarsi OGM o no?

Confagricoltura Treviso

DNA danneggiato viene riparato nella cellula

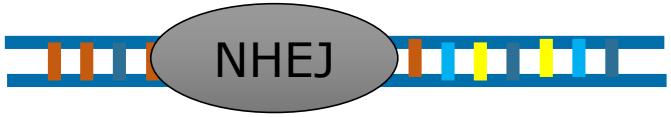
Esterno
Solar radiation
CRISPR/Cas9

Interno
Chromosomal stress,
Duplication of the DNA,
DNA crossing over,
O2 free radicals



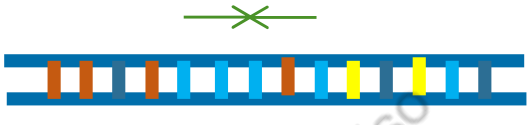
Dooppia rottura (DSB)

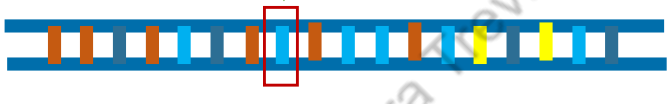
DNA repair (possible errori)



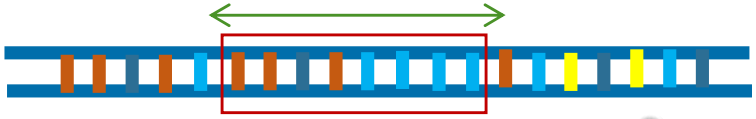
Non Homologous End Joining

Delezione





Inserzione



Applicazione delle nuove biotecnologie alla vite:

Colli di bottiglia e soluzioni

Confagricoltura Treviso

Un network italiano

IGA
Istituto di Genomica Applicata Udine

UNIVERSITÀ di VERONA

crea
Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria

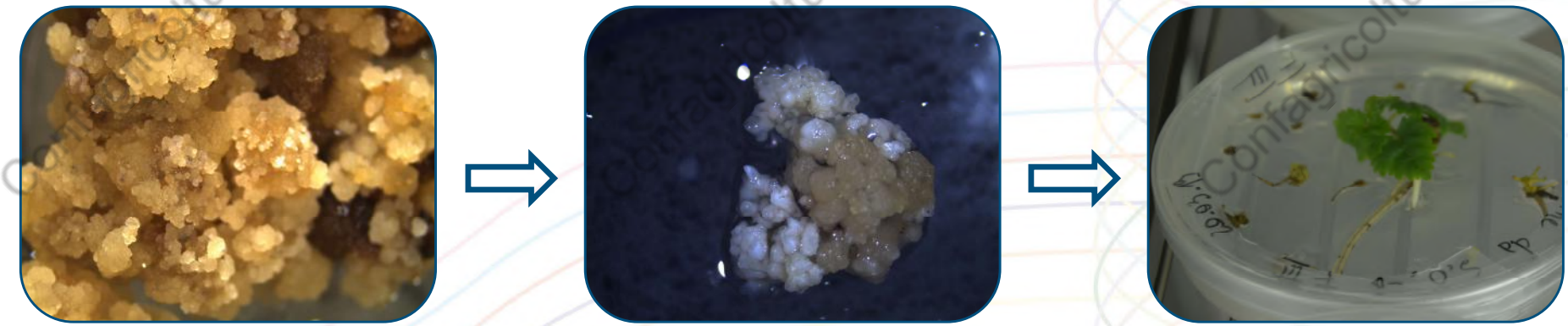
FONDAZIONE EDMUND MACH

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO

IPSP
Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante
Consiglio Nazionale delle Ricerche

1° difficoltà: genotipi recalcitranti

Callo embriogenico e rigenerazione di una pianta identica alla madre



Confagricoltura Treviso

Miglioriamo anno dopo anno tuttavia molte varietà non sono ancora gestibili

anno 2021

use	Variety	embryogenic callus (%)
W	Aglianico	2,1
T	Autumn Royal	2,4
W	Chardonnay	16,9
T	Crimson	6,2
W	Glera	0,7
T	Italia	0,4
W	Negromaro	0,5
T	Palieri	0,5
W	Primitivo	0
T	Red Globe	2,1
T	Sultanina	10,5
T	Summer Royal	3,8
T	Victoria	2,1

anno 2022

use	Variety	embryogenic callus (%)
W	Chardonnay	28,8
T	Italia	0,9
W	Nero di Troia	0,2
W	Primitivo	0,4
T	Red Globe	3,1
T	Sultanina	38,2
T	Victoria	2,9

% respect to the cultured anthers

W varietà da vino

T varietà da tavola

Lucia Rosaria Forleo

La vite è altamente eterozigote e le varietà devono:

1. Essere trasformate ed il CRISPR/Cas eliminato (CIS-GENESI e GENOMA EDITING)

2. Rigenerate senza essere passate per una fase di trasformazione (GENOMA EDITING)

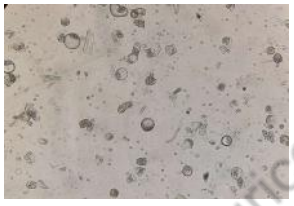
Confagricoltura Treviso

Due vie possibili:

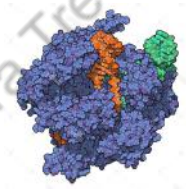
calli embriogenici (cisgenesi+genoma editing) o protoplasti (genoma editing puro)

Infiorescenza

Calli embriogenici di Victoria

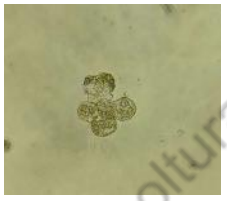


Protoplasti

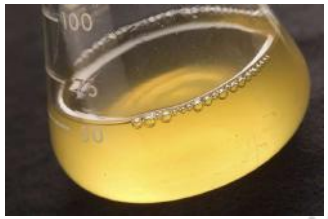


Cas9/Cas12 complessati con gRNA

Editing DNA-Free

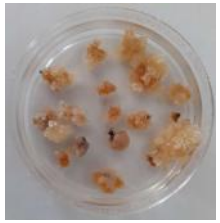


Selezione e Rigenerazione



Agrobacterium EHA105 trasformato con vettore binario pHAtC

Espressione transiente



Trasformazioni effettuate: *mlo (oidio)*, *GST*, *NPR3 (stress)*

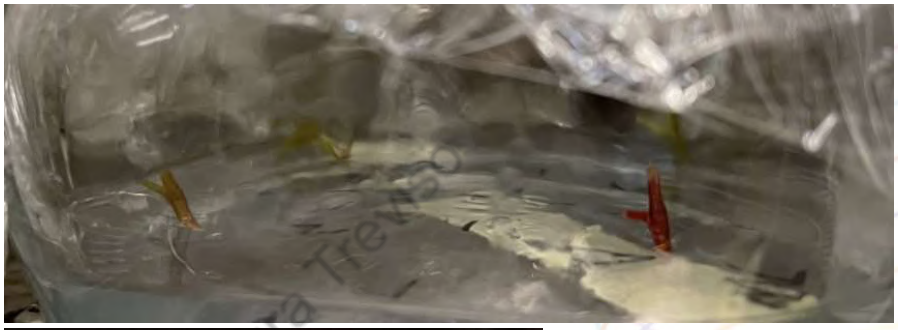
Co-coltura 72h
Rigenerazione…

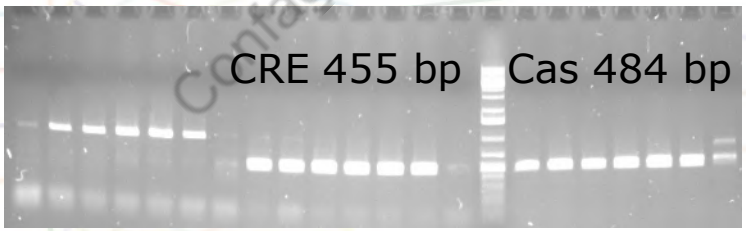
Genotipo	Costrutto	Trasformazione
Chardonnay	pDIRECT_22c_EXIT_MLO6+7	GT-1 10/2020
Microvine	pDIRECT_22c_EXIT _MLO6+7	GT-1 10/2020
110 Richter	pDIRECT_22c_EXIT _GST30+40	GT-2 11/2020
Microvine	pDIRECT_22c_EXIT _GST30+40	GT-2 11/2020
Chardonnay	pDIRECT_22c_EXIT_MLO6+7	GT-3 12/2020
Microvine	pDIRECT_22c_EXIT _MLO6+7	GT-3 12/2020
110 Richter	pDIRECT_22c_EXIT _PME3+1	GT-4 01/2021
Microvine	pDIRECT_22c_EXIT _PME3+1	GT-4 01/2021
110 Richter	pDIRECT_22c_EXIT _NPR3	GT-5 07/2021
SO4	pDIRECT_22c_EXIT _NPR3	GT-5 07/2021
Chardonnay	pDIRECT_22c_EXIT _NPR3	GT-5 07/2021
Chardonnay	pDIRECT_22c_EXIT _GST30+40	GT-5 07/2021
SO4	pDIRECT_22c_EXIT _GST30+40	GT-5 07/2021
Glera	pDIRECT_22c_EXIT _MLO6+7	GT-8 12/2021
Chardonnay	pDIRECT_22c_EXIT _MLO6+7	GT-8 12/2021
110 Richter	pDIRECT_22c_EXIT _GST30+40	GT-8 12/2021

Loredana Moffa

Linee positive sono state testate per l'eliminazione del DNA estraneo con successo

42° C





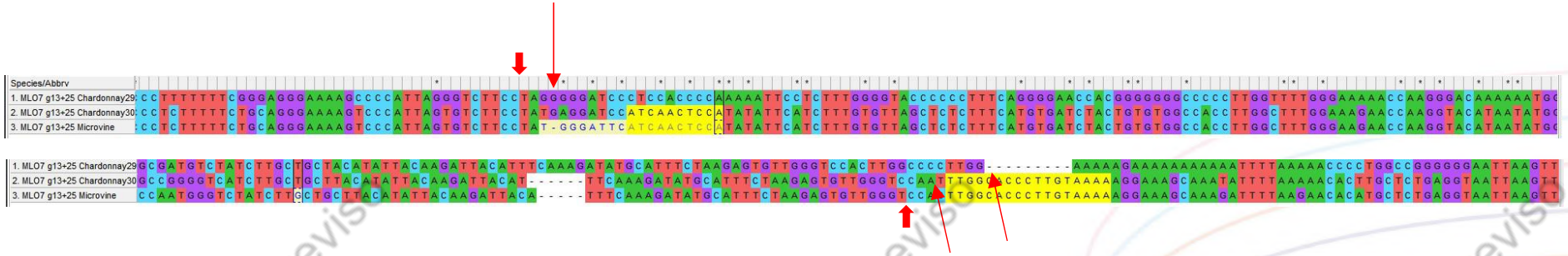
33 eventi indipendenti hanno prodotto 33 individui in Corso di analisi

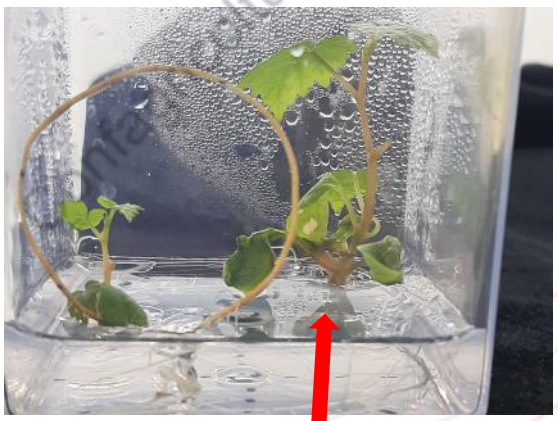
42° C induzione della eliminazione del DNA esterno

Loredana Moffa

Embryos	Transformations
4	GT-1
29	GT-3

Verified editing by sequencing amplicons





Line 29.1

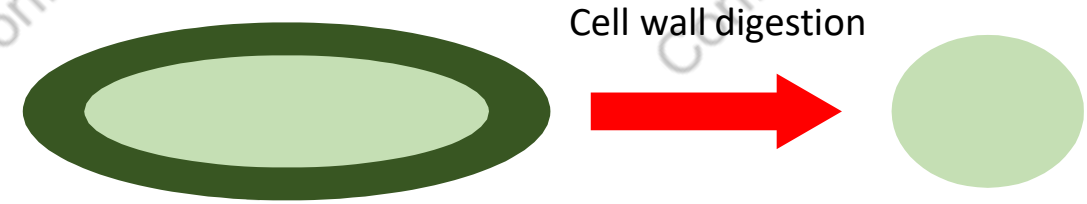
Line	guide	INDELs
Plant 29.1	g25	Ins di 1 A
Plant 30.1	g25	Del 9 bp
Plant 29.1	g13	Ins G
Plant 30.1	g13	Ins di 1 G

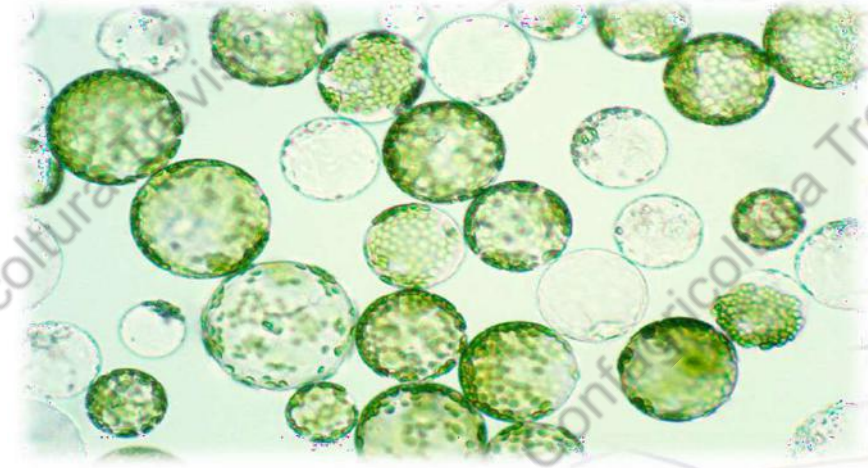
Line 30.1

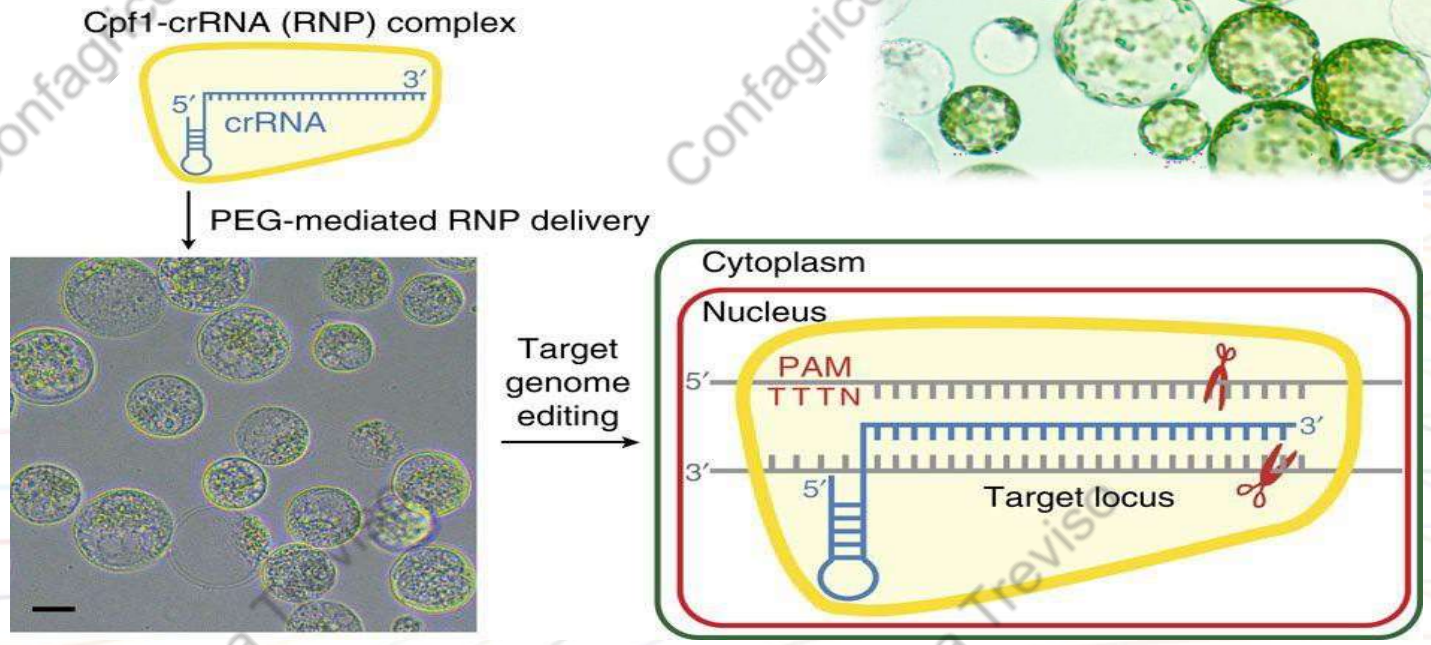
Luca Nerva

Protoplasti + sgRNA + Cas9 = no OGM

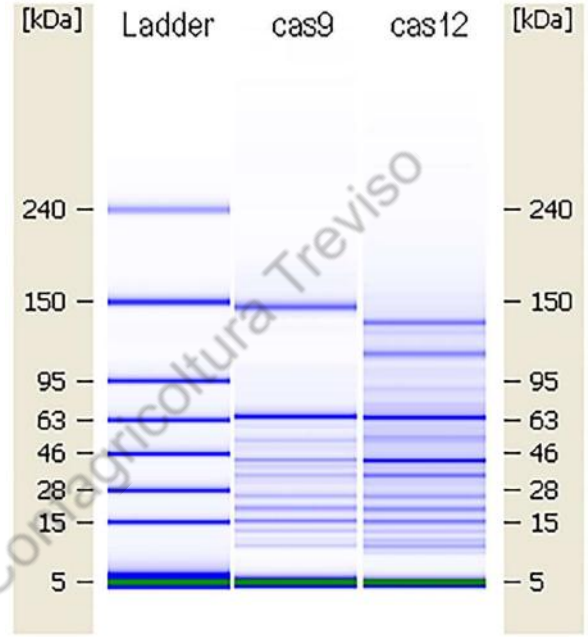
Confagricoltura Treviso

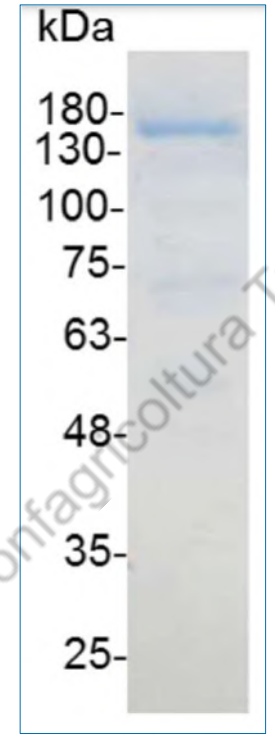

Cell wall digestion
Plant cell
Protoplast

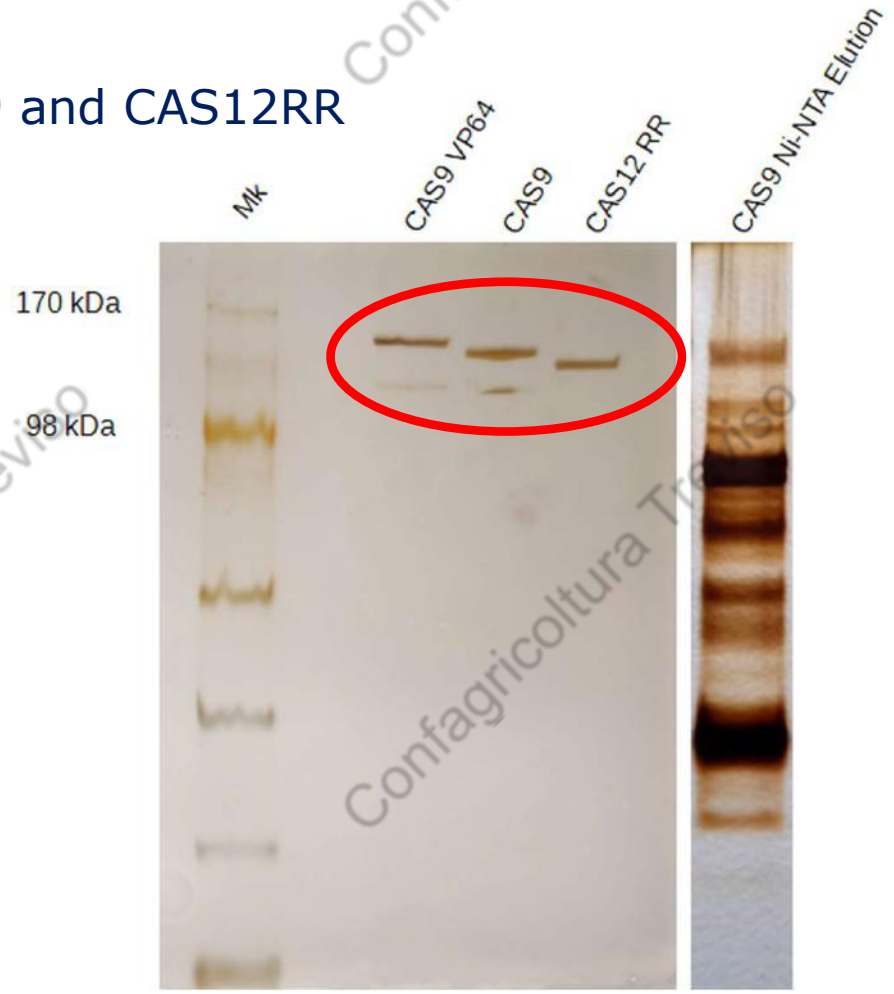



Cpf1-crRNA (RNP) complex
5′
3′
crRNA
PEG-mediated RNP delivery
Target genome editing
Cytoplasm
Nucleus
PAM
TTTN
5′
3′
3′
5′
Target locus

Purificazione di dCAS9-VP64, CAS9 and CAS12RR







Proteina	kDa	Concentrazione (mg/ml)
dCAS9-VP64	167	0,37
CAS9	158	2,28
CAS12 RR	130	2,39

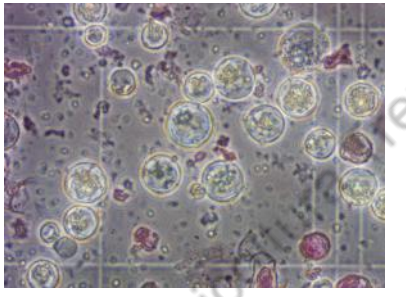
Selected target for dCAS9-VP64
SERK1 (somatic embryogenesis receptor kinase)
BBM (ap2 domain-containing transcription factor)
LEC1 (leafy cotyledon)

Kindly provided by Carlo Bergamini

Protoplasts of Italia transfected with CAS12 RR + sgRNA AGL11_7c + PEG

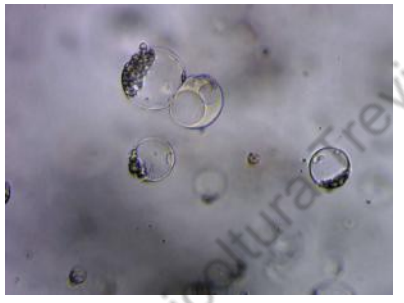
Vitalità dei protoplasti e conta

Floating



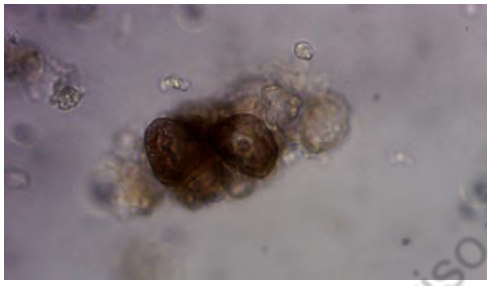
$3x10^4$ protoplasti/ml

Trasfezione



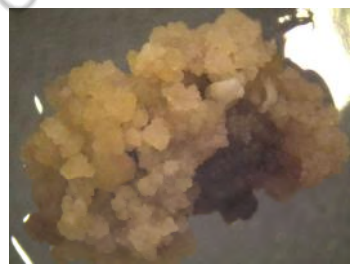
Inclusione

Gocce di Gellan gum



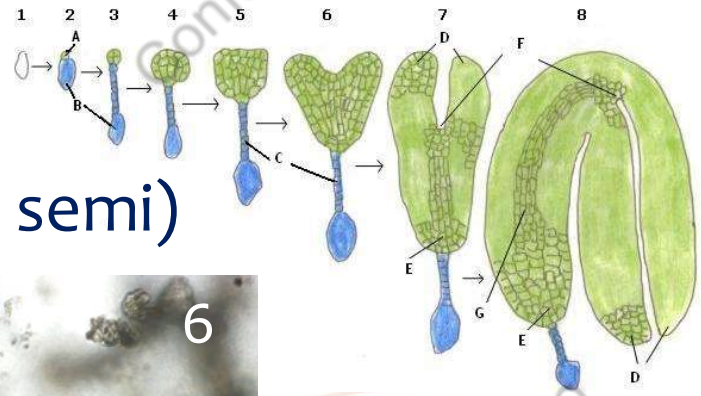
Microcallus di Italia

Digestione e purificazione

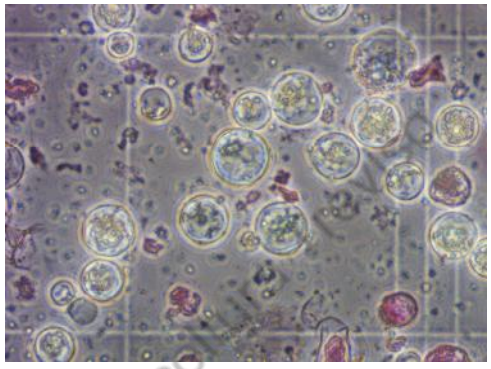


Callo embriogenico di uva Italia

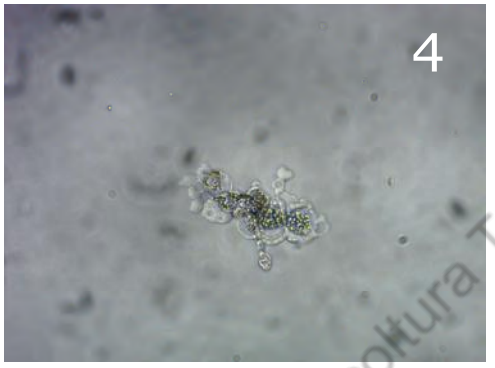
Carlo Bergamini



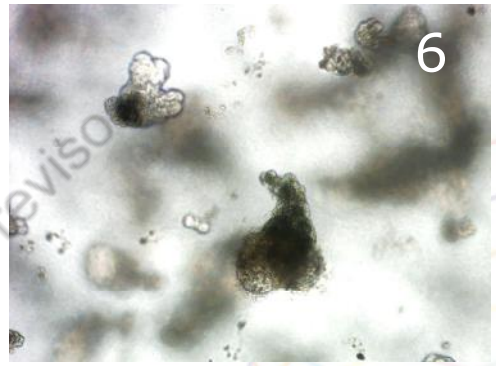
Saranno editati? (AGL11 gene per l'assenza di semi)



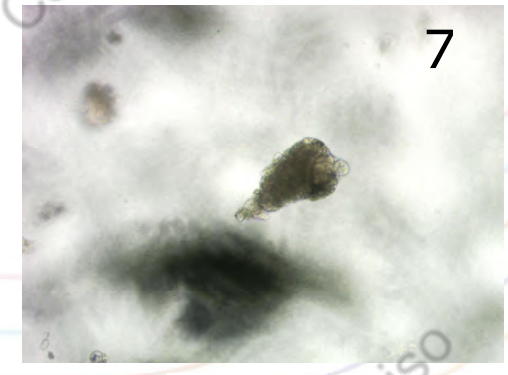
Conta dei protoplasti (Chardonnay)



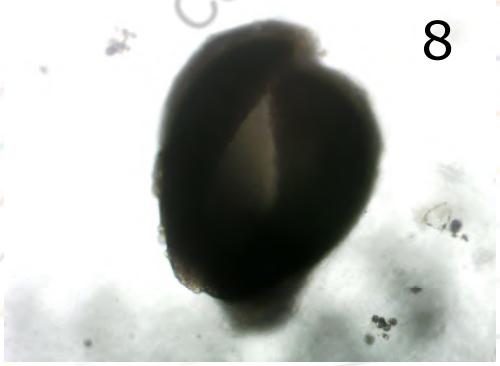
Fase globulare (Chardonnay)



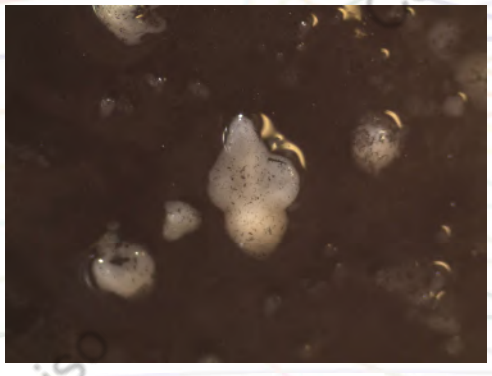
Victoria fase a cuore



Chardonnay fase torpedo



Victoria embrioni vitali



Victoria embrioni in sviluppo

Margherita D'Amico

Caratteri su cui stiamo lavorando nel Progetto Biotech-Vitech

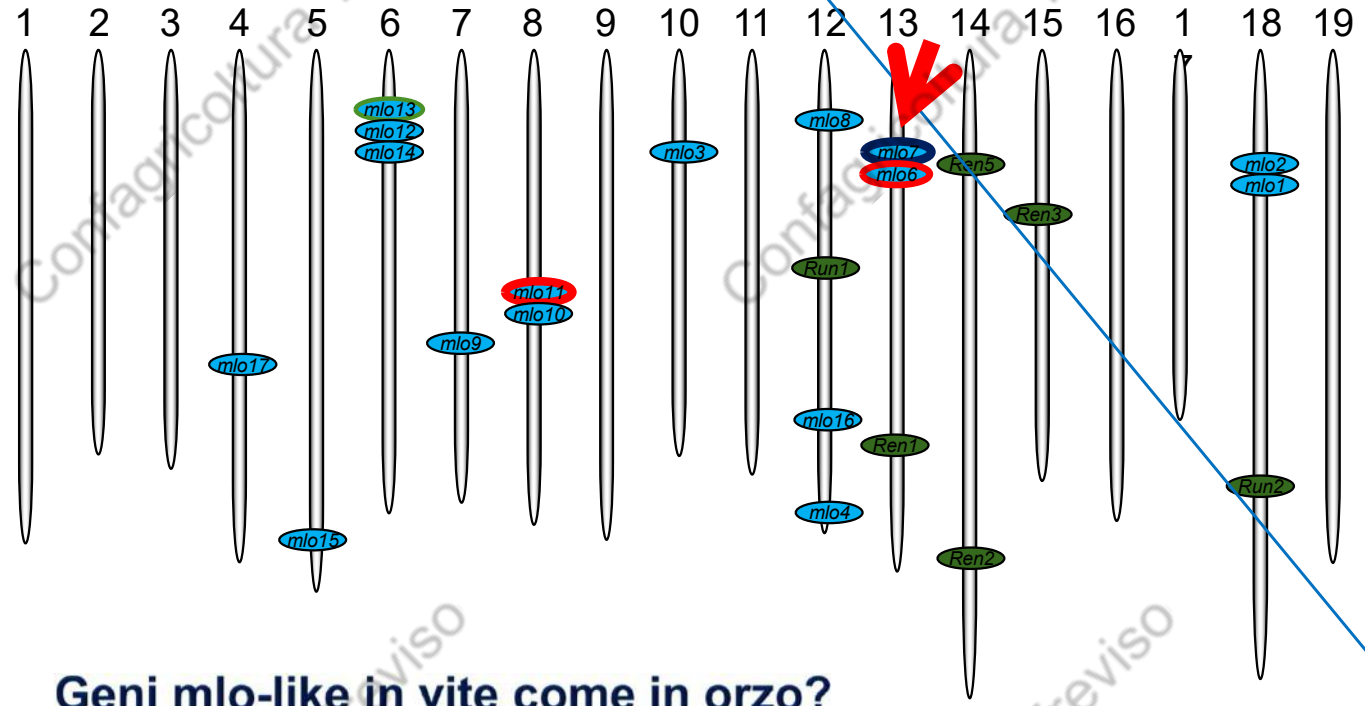
Confagricoltura Treviso

Büschges, R. et al., (1997)
The barley *Mlo* gene: a novel control element of plant pathogen resistance. *Cell 88: 695-705*

Orzo *Mlo* vs. *mlo*

Pessina, S. et al., (2016)
Knock out of *Mlo* genes reduce susceptibility to powdery mildew in grapevine. *Hort Research 3: 16016*

Mlo gene family in grapevine – distribution along the 19 chromosomes



Geni mlo-like in vite come in orzo?

Brachetto vite suscettibile

Brachetto-mlo07 mutata

Confagricoltura Treviso

Il primo esempio di viti cisgeniche

Genotipo	TNL2a + TNL2b	TNL2a	TNL2b	Elementi del T-DNA
Chardonnay	X	Sì	No	Nessuno
Chardonnay	X	Sì	No	Nessuno
Chardonnay	V	Sì	Sì	Nessuno
Chardonnay	X	Sì	No	Nessuno
Chardonnay	X	Sì	No	Nessuno
Chardonnay	X	Sì	No	Nessuno
Chardonnay	V	Sì	Sì	Nessuno
Chardonnay	X	Sì	No	Nessuno
Chardonnay	X	Sì	No	Nessuno
Chardonnay	X	Sì	No	Nessuno
Chardonnay	X	Sì	No	Nessuno
Chardonnay	V	Sì	Sì	Nessuno
Chardonnay	X	Sì	No	Nessuno
Chardonnay	X	Sì	No	Nessuno
Chardonnay	V	Sì	Sì	Nessuno
Chardonnay	X	Sì	No	Nessuno

Totale piante rigenerate: **22**

Totale piante cisgeniche: **18**

Totale piante cisgeniche Tnl2a+Tnl2b:4

4 piante cisgeniche

Resoconto trasformazioni

Geni Target: MLO6+7 (suscettibilità oidio)

Genotipo	Trasformate	% editing	Tipo mutazioni	
			MLO7	MLO6
Chardonnay	Sì	95%	+1 bp omozigosi	-2 bp omozigosi
Chardonnay	Sì	96%	+1 bp omozigosi	-2 bp omozigosi
Chardonnay	Sì	95%	- 1 bp omozigosi	-1 bp omozigosi
Chardonnay	Sì	-	Nessuno	
Chardonnay	Sì	96%	- 2 bp omozigosi	-4 bp omozigosi
Chardonnay	Sì	-	Nessuno	
Chardonnay	Sì	92%	+ 1 bp eterozigosi	
Chardonnay	Sì	93%	+ 1 bp eterozigosi	-2 bp omozigosi
Chardonnay	Sì	97%	+ 1 bp eterozigosi	
Chardonnay	Sì	91%	+1 bp omozigosi	
Chardonnay	Sì	89%	+1 bp omozigosi	
Chardonnay	Sì	74%	+1 bp omozigosi	

Totale piante rigenerate: **18**

Totale piante Cas+: **15**

Totale piante editate: **12**

Resoconto trasformazioni

Gene Target: NPR3 (repressore di NPR1)

Genotipo	Trasformate	% editing	Tipo mutazioni
Chardonnay	Si	95%	+1 bp eterozigosi
Chardonnay	Si	69%	-3 bp eterozigosi
Chardonnay	Si	97%	- 2 bp eterozigosi
Chardonnay	Si	96%	- 2 bp eterozigosi
Chardonnay	Si	96%	- 11 bp omozigosi
Chardonnay	Si	94%	- 4bp omozigosi
Chardonnay	Si	93%	- 37 bp omozigosi
Chardonnay	Si	79%	- 37 bp omozigosi
Chardonnay	Si	96%	- 3 bp omozigosi
Chardonnay	Si	79%	- 37bp omozigosi
Chardonnay	Si	-	Nessuno
Chardonnay	Si	42%	- 37 bp eterozigosi
Chardonnay	Si	94%	- 37 bp omozigosi
Chardonnay	Si	50%	- 4 bp eterozigosi
Chardonnay	Si	48%	-2 bp omozigosi
Chardonnay	Si	96%	- 37 bp omozigosi
Chardonnay	Si	91%	- 37 bp omozigosi
Chardonnay	Si	94%	- 37 bp omozigosi
Chardonnay	Si	96%	- 37 bp eterozigosi
Chardonnay	Si	94%	- 37 bp omozigosi
Chardonnay	Si	-	Nessuno
Chardonnay	Si	36%	- 37 bp eterozigosi
Chardonnay	Si	95%	+1 bp omozigosi

Totale piante rigenerate: **42**

Totale piante Cas+: **32**

Totale piante editate: **26**

14 piante con efficienza ≥90%

I risultati di editing su GST30/GST40

Genotipo	Trasformate	% editing	Tipo mutazioni	
			GST30	GST40
Chardonnay	Sì	-	Nessuno	
Chardonnay	Sì	-	Nessuno	
Chardonnay	Sì	-	Nessuno	
Chardonnay	Sì	-	Nessuno	
Chardonnay	Sì	-	Nessuno	
Chardonnay	Sì	-	Nessuno	
Chardonnay	Sì	-	Nessuno	
Chardonnay	Sì	93%	-2 bp omozigosi	-2 bp omozigosi
Chardonnay	Sì	95%		+1 bp omozigosi
Chardonnay	Sì	91%	-1 bp omozigosi	
Chardonnay	Sì	-	Nessuno	
Chardonnay	Sì	97%	-2 bp omozigosi	

Totale piante rigenerate: **22**

Totale piante Cas+: **16**

Totale piante editate: **4**

4 piante con efficienza ≥91%

I risultati di editing su PME1/PME3

Genotipo	Trasformate	% editing	Tipo mutazioni	
			PME1	PME3
110 Richter	Sì	_	Nessuno	
110 Richter	Sì	_	Nessuno	
110 Richter	Sì	87%	-3 bp	Nessuno
110 Richter	Sì	-	Nessuno	
110 Richter	Sì	_	Nessuno	
110 Richter	Sì	-	Nessuno	

Totale piante rigenerate: **8**

Totale piante Cas+: **6**

Totale piante editate: **1**

1 pianta con efficienza ≥85%

Altri eventi di editing in rigenerazione…

Genotipo	Trasformazione	Embrioni in rigenerazione
Glera	MLO	79
Chardonnay	MLO	47
Chardonnay	GST	34
110 Richter	GST	17
Chardonnay	FER	8
110 Richter	PME	4
Chardonnay	DOF4	7

Pinot noir
Sangiovese
…

Il vuoto legislativo

NON ricadono nella definizione vigente di OGM:

- Piante dove è stato eliminato il DNA transgenico (ma rimane solo il DNA cis-genico)

- Piante dove è stato eliminato il transgene per realizzare il genome editing (ma resta il DNA editato)

- Piante ottenute tramite azione della proteina mutagena e rigenerate post-mutagenesi

Confagricoltura Treviso

In attesa del Parlamento Europeo….

Grazie dell'attenzione