

WEBINAR VALFRUIT **VALorization of genetic resources to improve FRUIT crops**

Valorizzazione delle risorse genetiche
per il miglioramento della resilienza
dei sistemi frutticoli

Martedì 28 ottobre
Ore 16:30–18:30



agritech

National Research Center for
Technology in Agriculture

GENOME EDITING NELLE SPECIE ARBOREE: SFIDE E STRATEGIE

Alessandra Amato *Università di Verona*

- IL NOSTRO RUOLO NEL PROGETTO
- LA SFIDA: GENOME EDITING DNA-FREE
- LE STRATEGIE
 - Definizione di protocolli di isolamento e rigenerazione da protoplasti per l'applicazione delle TEA in uve da tavola
 - Definizione di protocolli di isolamento e rigenerazione da protoplasti per l'applicazione delle TEA in varietà di melo e pero

GENOME EDITING NELLE SPECIE ARBOREE: SFIDE E STRATEGIE

IL NOSTRO RUOLO NEL PROGETTO

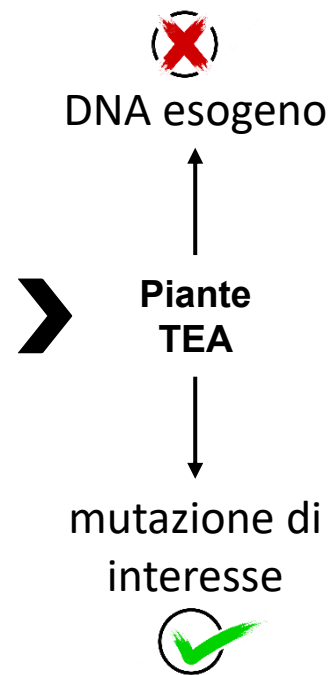
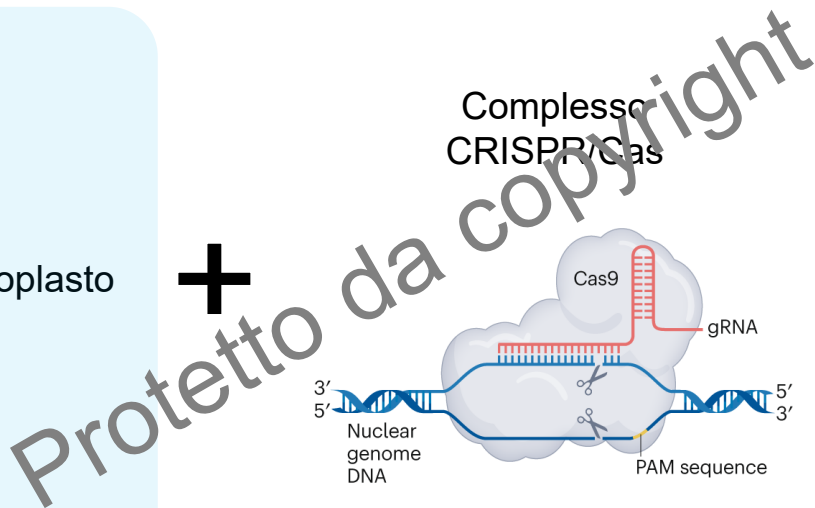
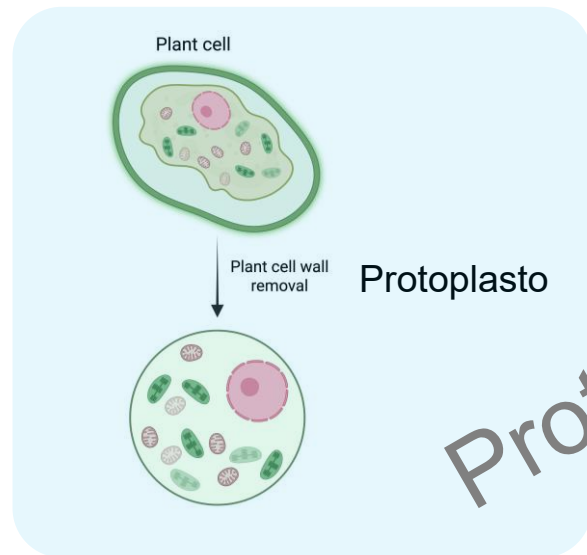
Applicazione di tecniche di rigenerazione ed evoluzione assistita in specie e/o varietà recalcitranti



Migliorarle geneticamente mantenendone invariate le caratteristiche produttive ed organolettiche

GENOME EDITING NELLE SPECIE ARBOREE: **SFIDE** E STRATEGIE

GENOME EDITING DNA-FREE



GENOME EDITING NELLE SPECIE ARBOREE: SFIDE E STRATEGIE



Alessandra Amato *Università di Verona*

- IL NOSTRO RUOLO NEL PROGETTO
- LA SFIDA: GENOME EDITING DNA-FREE

• LE STRATEGIE

- Definizione di protocolli di isolamento e rigenerazione da protoplasti per l'applicazione delle TEA in uve da tavola
- Definizione di protocolli di isolamento e rigenerazione da protoplasti per l'applicazione delle TEA in varietà di melo e pero

GENOME EDITING NELLE SPECIE ARBOREE: SFIDE E STRATEGIE

DEFINIZIONE DI PROTOCOLLI DI ISOLAMENTO E RIGENERAZIONE DA PROTOPLASTI PER L'APPLICAZIONE DELLE TEA IN UVE DA TAVOLA

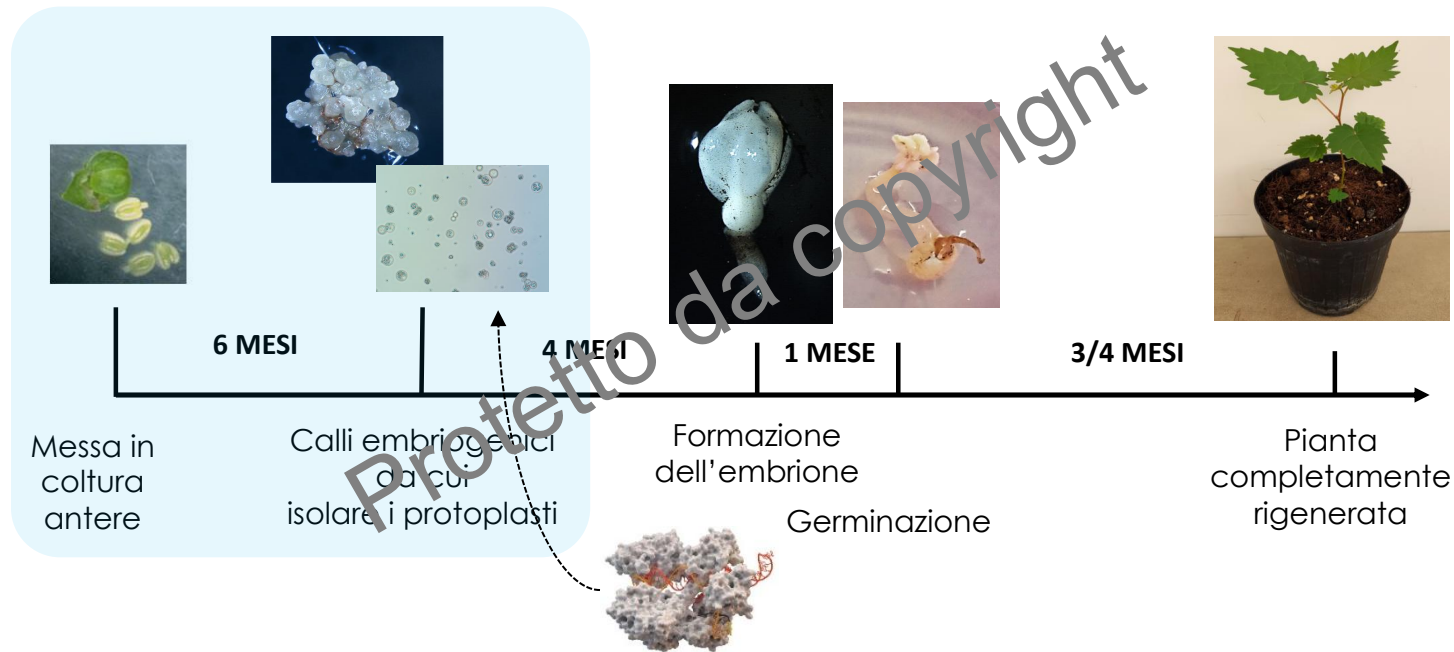
Protetto da copyright

Italia
Jack's Salute
Kelly
Apulia Rosè
Sweet Celebration
Great Green
Allison
Sugar Crispy



GENOME EDITING NELLE SPECIE ARBOREE: SFIDE E STRATEGIE

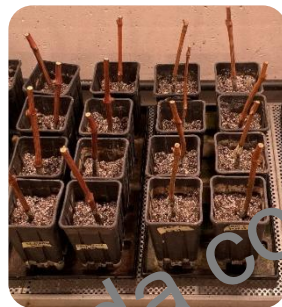
Editing genomico DNA-free in vite





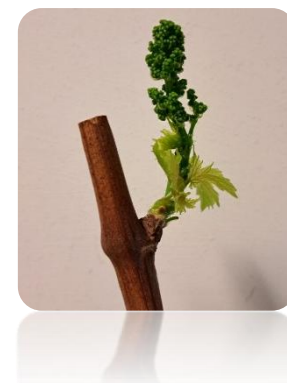
GENOME EDITING NELLE SPECIE ARBOREE: SFIDE E STRATEGIE

Il sistema delle talee fruttifere



GENOME EDITING NELLE SPECIE ARBOREE: SFIDE E STRATEGIE

Il sistema delle talee fruttifere



Varietà	Talee in letto caldo	Talee radicate	% Radicazione	Talee in fitotrone	Talee germogliate	% Germogliamento	N° Infiorescenze	% Fioritura
S. CELEBRATION	12	6	50,0	8	10	87,50	5	71,4
JACK'S S.	32	12	37,5	26	10	35,71	3	30,0
ITALIA	18	7	38,9	8	4	50,00	1	25
G. GREEN	12	7	58,3	8	5	62,50	1	20
ALLISON	17	/	/	13	/	/	/	/
APULIA R.	25	/	/	13	1	7,69	/	/
KELLY	36	5	13,9	28	/	/	/	/
S. CRISPY	20	/	/	8	5	62,50	/	/

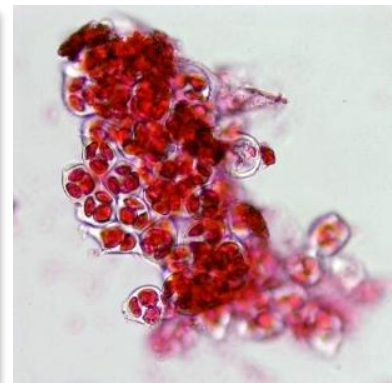
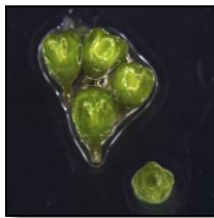


GENOME EDITING NELLE SPECIE ARBOREE: SFIDE E STRATEGIE

Campionamento di organi florali

4/8 cultivars

S. CELEBRATION
JACK'S S.
ITALIA
G. GREEN



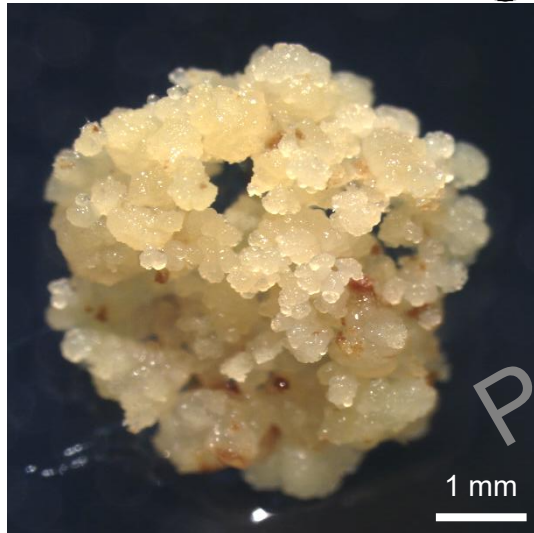
Coltura in terreno per induzione di
callo embriogenico
(MSII_Bertini et al. 2025)



GENOME EDITING NELLE SPECIE ARBOREE: SFIDE E STRATEGIE

Induzione di calli embriogenici

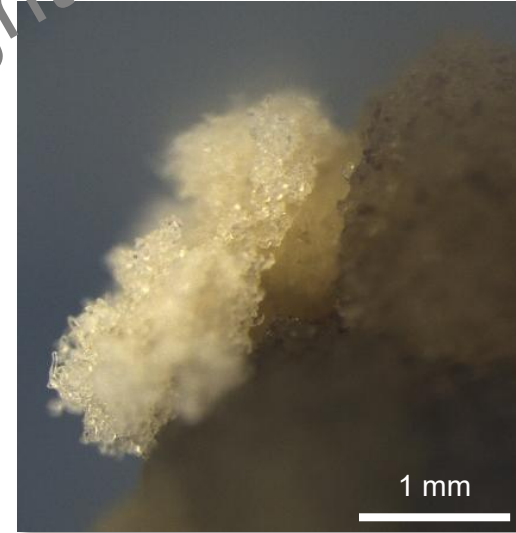
ITALIA



JACK'S S.



S. CELEBRATION
G. GREEN





GENOME EDITING NELLE SPECIE ARBOREE: SFIDE E STRATEGIE

Induzione di calli embriogenici

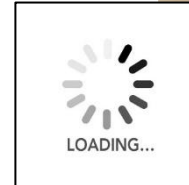
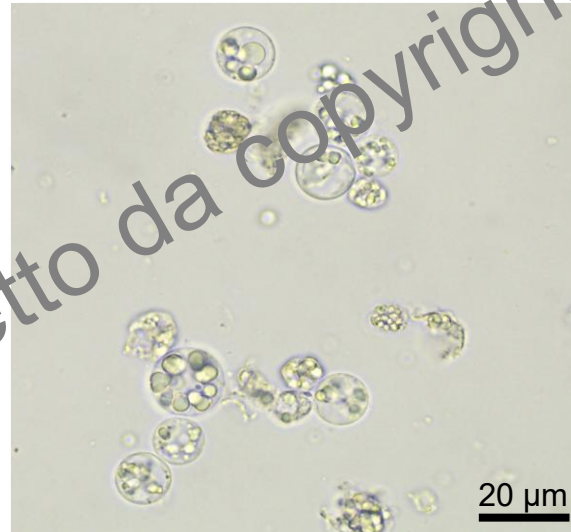
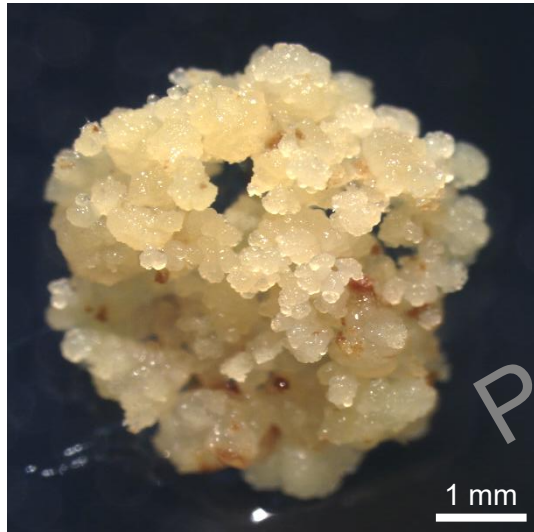
Varietà	N° Stami	N° Pistilli	N° calli embriogenici da stami	% calli embriogenici da stami	N° calli embriogenici da pistilli	% calli embriogenici da pistilli
S. CELEBRATION	12	6	0	0,00	0,00	0,00
JACK'S S.	828	368	63	7,61	0,00	0,00
ITALIA	684	304	0	0,00	14,00	4,61
G. GREEN	432	192	0	0,00	0,00	0,00



GENOME EDITING NELLE SPECIE ARBOREE: SFIDE E STRATEGIE

Isolamento di protoplasti

ITALIA





GENOME EDITING NELLE SPECIE ARBOREE: SFIDE E STRATEGIE

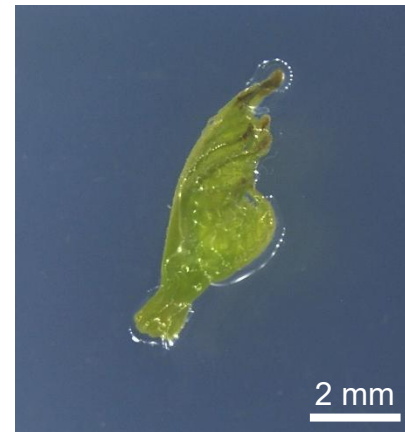
Prospettive

6/8 cultivars

S. CELEBRATION
JACK'S S.
ITALIA
G. GREEN
APULIA R.
S. CRISPY



Micropropagazione *in vitro*
(3/4 MS + IAA)



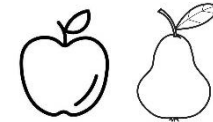
Coltura in terreno per
induzione di callo embriogenico
(NB2_Bertini et al. 2025)

GENOME EDITING NELLE SPECIE ARBOREE: SFIDE E STRATEGIE

DEFINIZIONE DI PROTOCOLLI DI ISOLAMENTO E RIGENERAZIONE DA PROTOPLASTI PER L'APPLICAZIONE DELLE TEA IN VARIETÀ DI MELO E PERO

↙
**Bernina
Golden Delicious**

↘
**Abate
Conference
Max Red Bartlett**



GENOME EDITING NELLE SPECIE ARBOREE: SFIDE E STRATEGIE

Micropropagazione *in vitro*



Pero

Conference

Abate

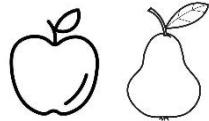
Max Red Bartlett



Melo

Bernina

Golden Delicious



GENOME EDITING NELLE SPECIE ARBOREE: SFIDE E STRATEGIE

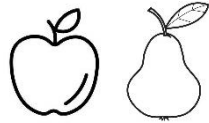
Micropropagazione *in vitro*



➤ ORGANOGENESI

➤ ISOLAMENTO DI PROTOPLASTI

➤ EMBRIOGENESI



GENOME EDITING NELLE SPECIE ARBOREE: SFIDE E STRATEGIE

Organogenesi diretta

26/06/2025



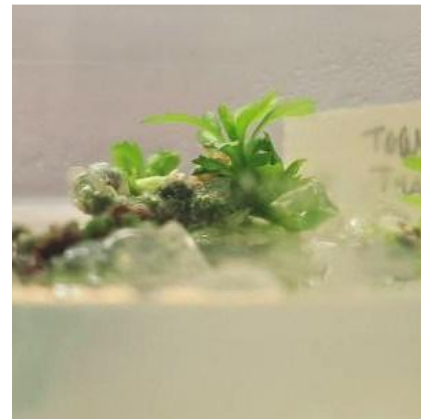
11/07/2025



31/07/2025

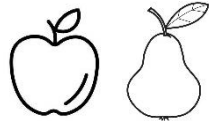


05/08/2025



Melo - Golden Delicious

SHOOT reg medium_ <https://doi.org/10.1093/hr/uhab014>



GENOME EDITING NELLE SPECIE ARBOREE: SFIDE E STRATEGIE

Isolamento di protoplasti da tessuto fogliare di pero

18h digestione

Lavaggio e filtrazione

Foglie giovani e sane

+

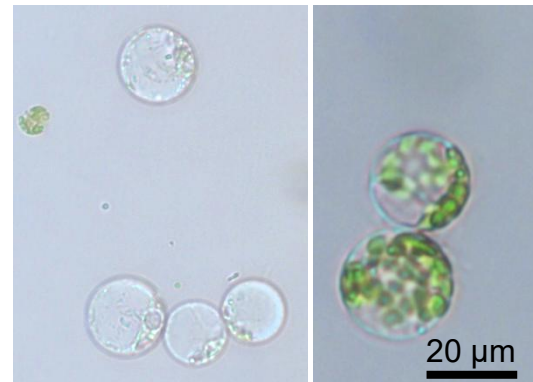
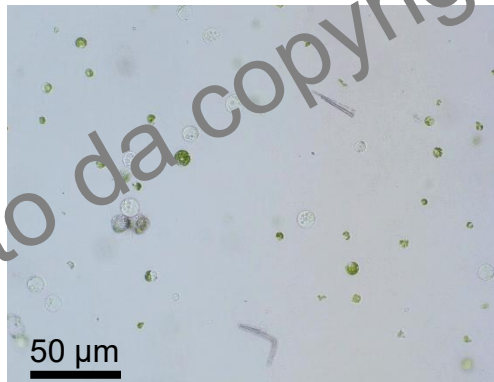
Vuoto

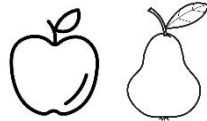
20 minuti – 90 Bar

+

Soluzione di digestione ottimizzata

macerozyme 0.5% - cellulase 2% - hemicellulase 2%





GENOME EDITING NELLE SPECIE ARBOREE: SFIDE E STRATEGIE

Isolamento di protoplasti da tessuto fogliare di melo

Foglie giovani e sane

+

Plasmolisi

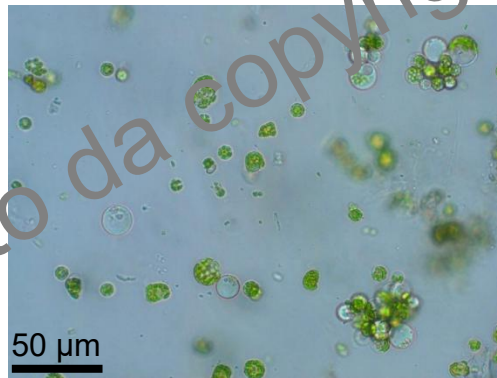
sali - alta concentrazione di mannitolo

+

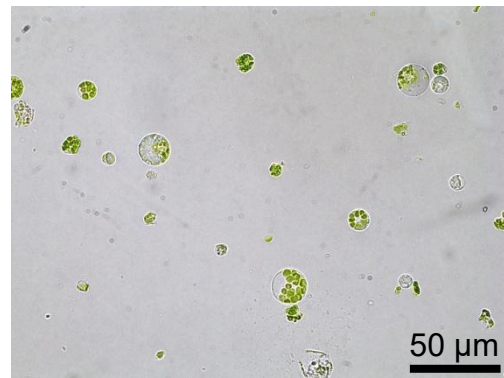
Soluzione di digestione ottimizzata

pectolease 0.1% - cellulase 2% - hemicellulase 2%

18h digestione

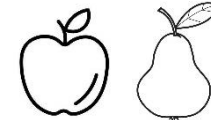


Lavaggio e filtrazione
alta concentrazione di
mannitolo

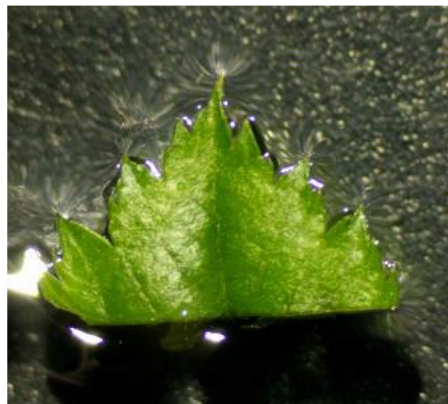


GENOME EDITING NELLE SPECIE ARBOREE: SFIDE E STRATEGIE

Embriogenesi



11/07/2025



06/08/2025



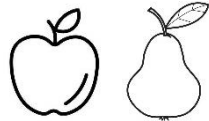
22/08/2025



11/09/2025



Ipotetica struttura
pre-embrionale

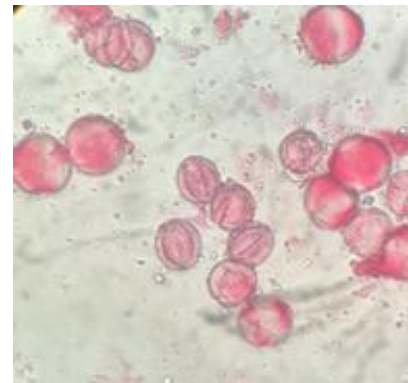
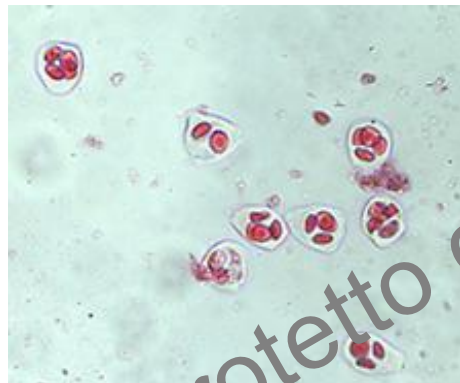


GENOME EDITING NELLE SPECIE ARBOREE: SFIDE E STRATEGIE

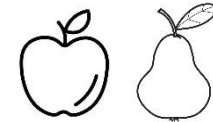
Campionamento di organi florali



Melo
Bernina



Pero
Max Red Bartlett
Abate



GENOME EDITING NELLE SPECIE ARBOREE: SFIDE E STRATEGIE

Campionamento di organi florali

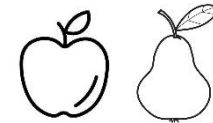
Specie-varietà	N° Stami	N° Pistilli
Melo-Bernina	696	166
Pero-Abate	216	58
Pero-Max Red	797	173



Callo di cellule indifferenziate

Apparentemente non
embrionogenico

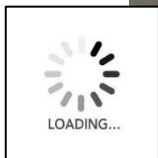
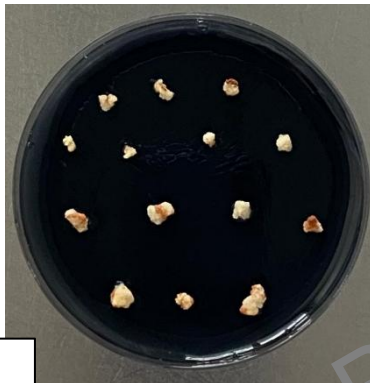




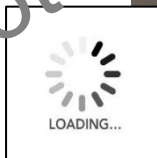
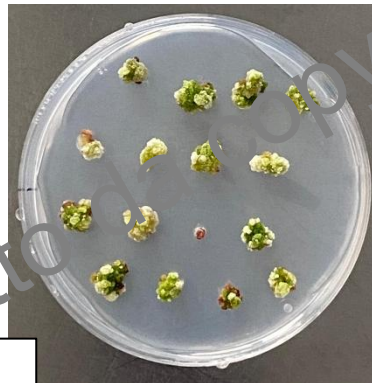
GENOME EDITING NELLE SPECIE ARBOREE: SFIDE E STRATEGIE

Prospettive

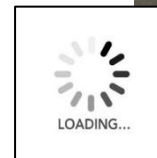
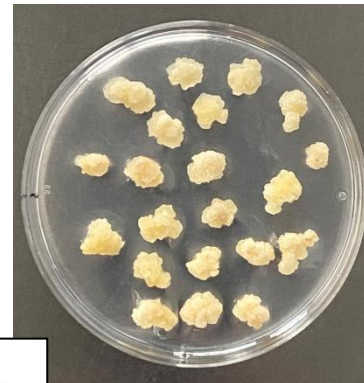
Terreno per l'induzione
dell'embrigenesi somatica



Terreno per organogenesi
indiretta



Terreno di mantenimento
del callo



Pero
Max Red Bartlett
Abate

Melo
Bernina

GENOME EDITING NELLE SPECIE ARBOREE: SFIDE E STRATEGIE

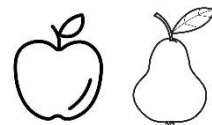
CONCLUSIONI



- Per le varietà di uva da tavola Italia, Jack's Salute, Sweet Celebration e Great Green è stato messo a punto il sistema di talea fruttifera
- Nelle varietà di uva da tavola Italia e Jack's Salute sono stati ottenuti calli embriogenici a partire da espianti fiorali
- Protoplasti isolati da calli embriogenici per la varietà Italia sono stati isolati, purificati e messi in coltura per la rigenerazione di una nuova pianta

GENOME EDITING NELLE SPECIE ARBOREE: SFIDE E STRATEGIE

CONCLUSIONI



- Messa a punto nei nostri laboratori della capacità di organogenesi diretta da tessuto fogliare
- Definizione di un protocollo per l'isolamento di protoplasti da tessuto fogliare
- Protoplasti di melo (da tessuto fogliare della varietà Bernina) sono stati messi in coltura
- Raccolta e messa in coltura di organi fiorali per l'ottenimento di calli indifferenziati la cui capacità embriogenica è in analisi

Prof.ssa Sara Zenoni
Prof.ssa Marianna Fasoli

Giulia Marchisella
Alessia Perusi
Clarissa Ciffolillo
Nicole Furlan
Irene Perlati
Riccardo De Luca
Carminc Carratore
Oscar Bellon

WEBINAR VALFRUIT
VALORIZATION of genetic
resources to improve
FRUIT & G

Protetto da copyright
GRAZIE

Valorizzazione delle risorse genetiche
per il miglioramento della resilienza
dei sistemi frutticoli

Martedì 28 ottobre
Ore 16:30-18:30