



# *Breeding finalizzato alla costituzione di varietà resistenti al brusone*



*Dr.ssa Lætitia Borgo*

*Sperimentazione agronomica e attività sementiera per una risicoltura d'eccellenza*



*Centro Ricerche sul Riso  
4 febbraio 2015*

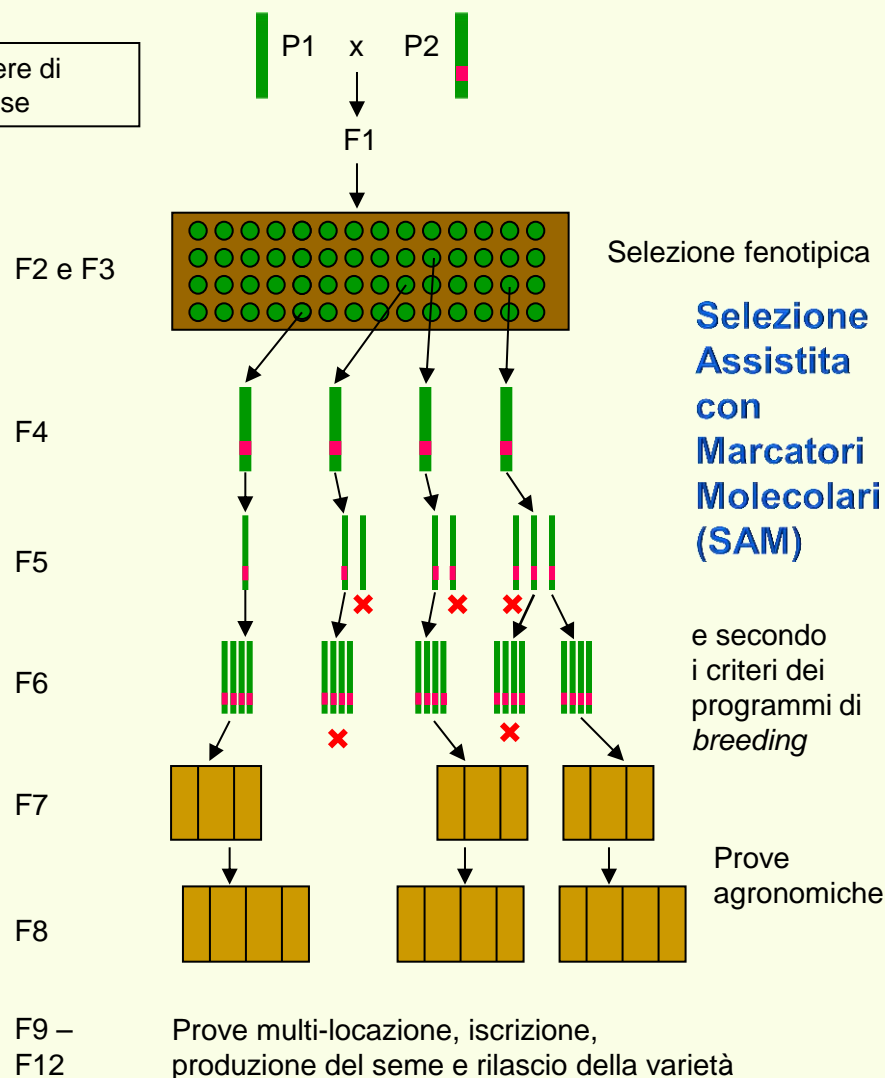
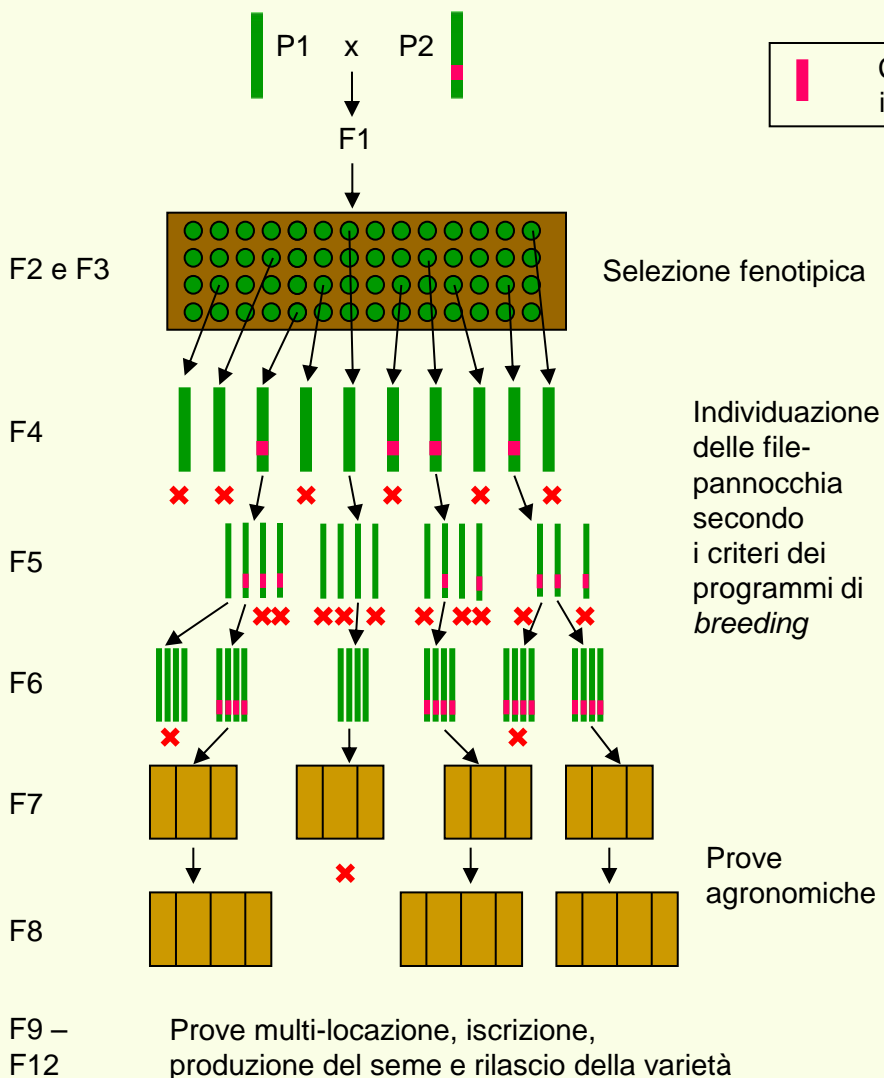
# Breeding tradizionale

vs.

# Breeding moderno

Incrocio e selezione di progenie in base alle caratteristiche fenotipiche

Incrocio e selezione di progenie in base alle caratteristiche genotipiche e fenotipiche

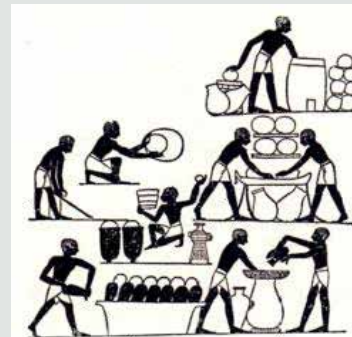


# BIOTECNOLOGIA

Applicazione tecnologica che si serve dei sistemi biologici, degli organismi viventi o di derivati di questi per produrre o modificare prodotti o processi per un fine specifico.



6000 a.C.  
Babilonesi  
birra

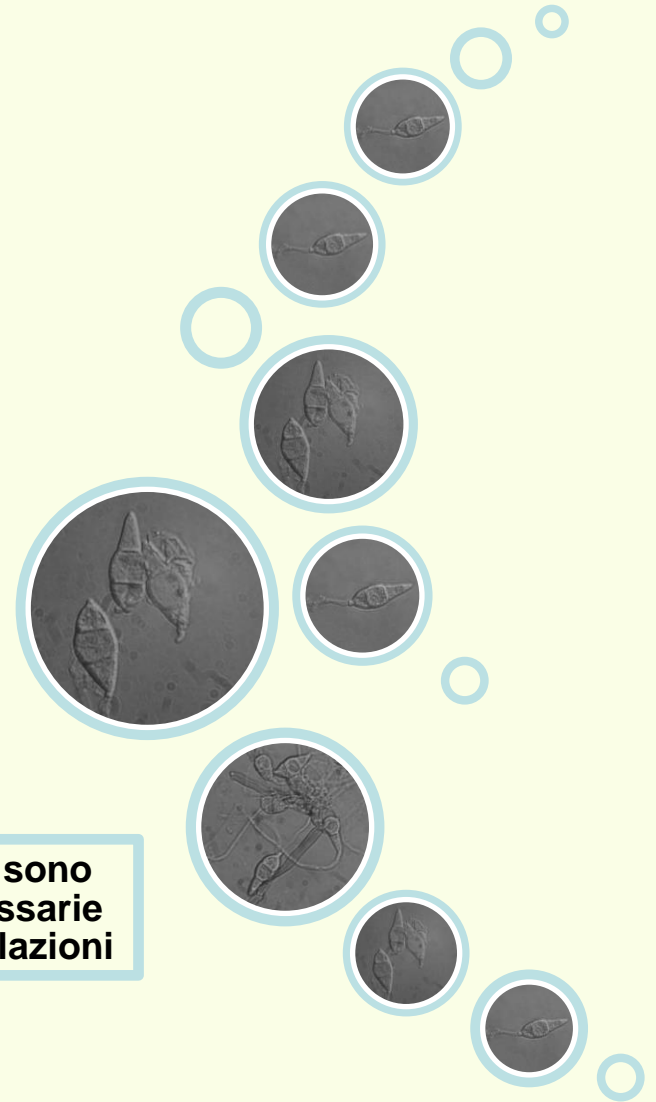


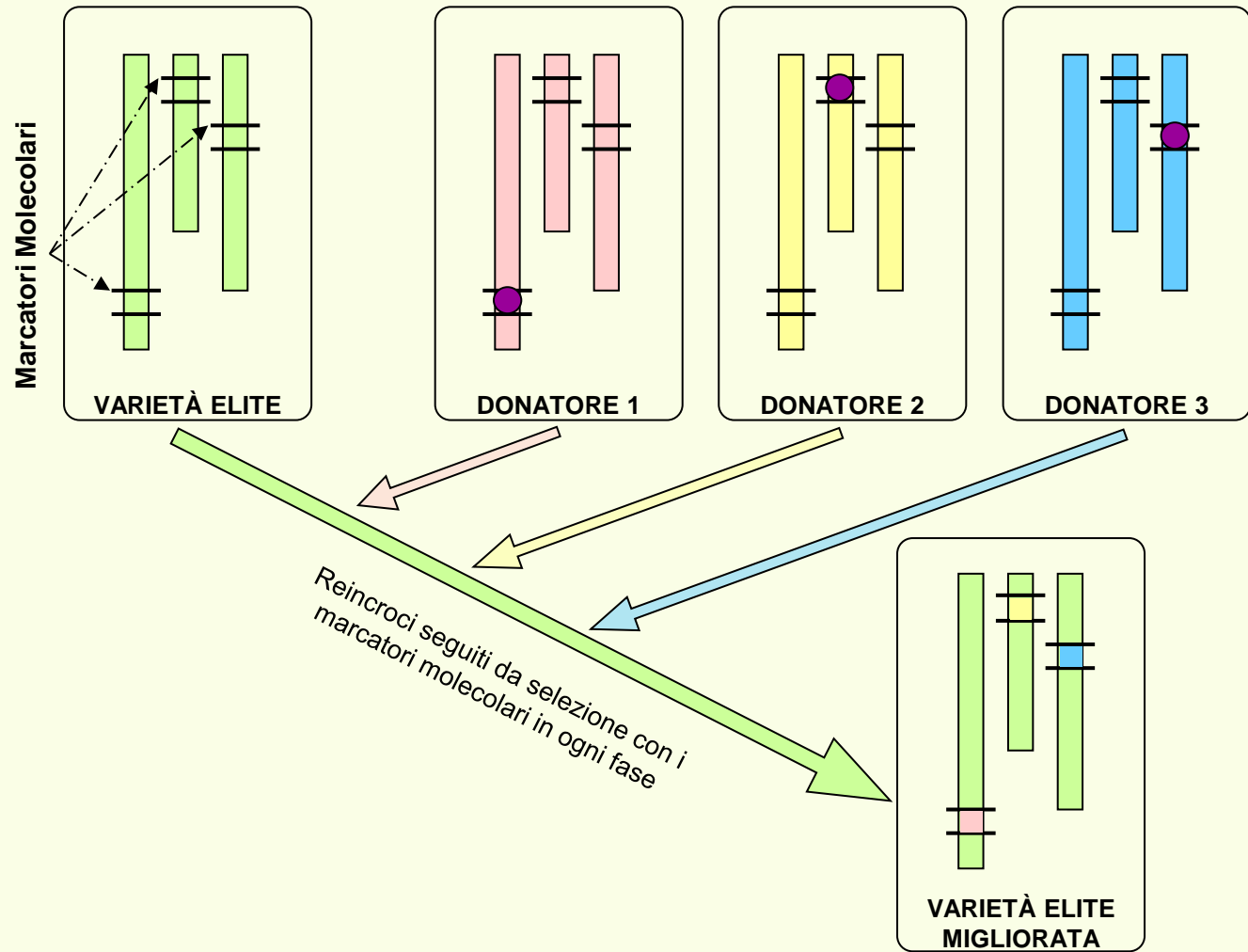
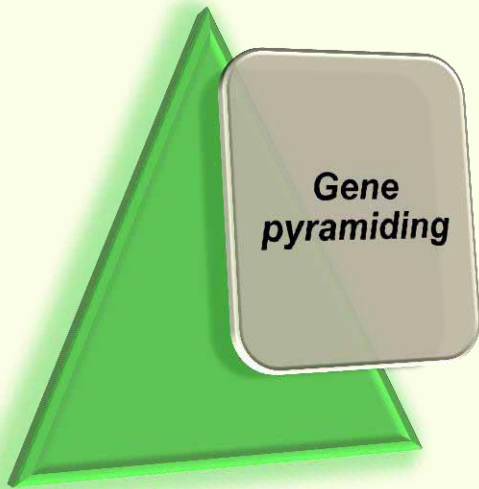
4000 a.C.  
Egizi  
pane lievitato

# I vantaggi della SAM

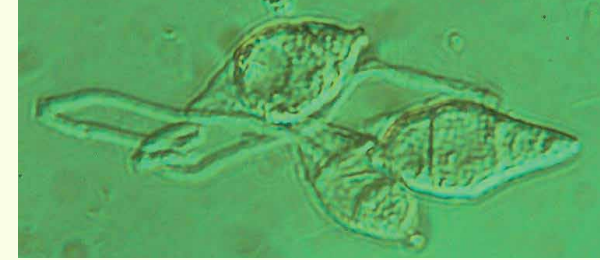


Non sono necessarie  
inoculazioni





# BRUSONE - Agente causale: *Pyricularia grisea*



- Infetta tutte le parti della pianta, inducendo necrosi
- 30% perdita produzione
- Solo forma asessuata presente in Italia

## Resistenza meccanica

Cuticola spessa, presenza tricomi sulle foglie, apertura stomatica limitata, ...

## Resistenza genetica

- Geni di difesa
- Geni di resistenza (*Pi*)

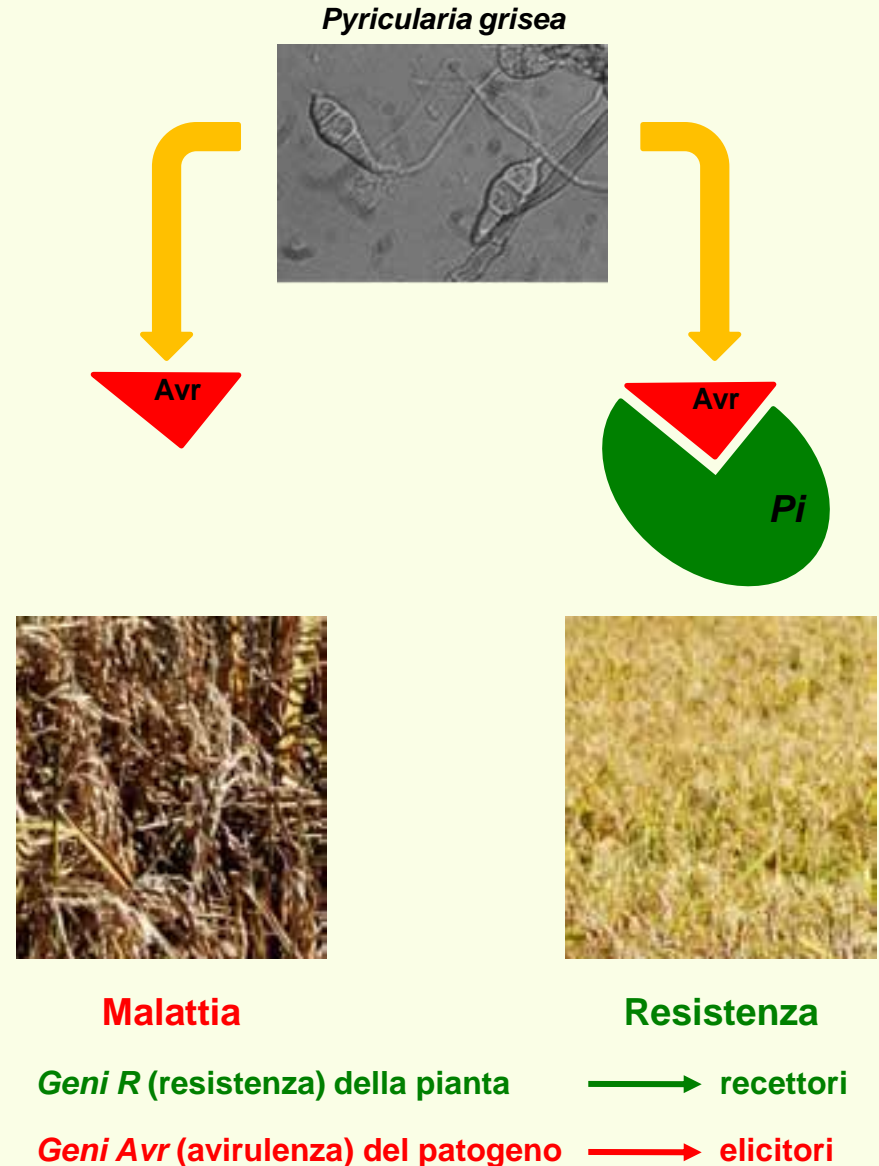


Fotografie Bruno Villa - ENR

# Geni di resistenza a *Pyricularia grisea*

Circa **80 geni *Pi*** (geni *R*) sono stati mappati in diverse varietà di riso

- Gli elicitori sono codificati da geni di avirulenza (*Avr*) del patogeno e sono riconosciuti da proteine di resistenza (*PR*) della pianta, attraverso un meccanismo specifico descritto nel 1971 da **Flor** nella **teoria gene-per-gene**
- L'interazione tra gli elicitori del patogeno ed il prodotto di un gene di resistenza specifico della pianta induce **fenomeni di resistenza** della pianta ospite, che risulta quindi in grado di bloccare l'attacco del patogeno
- Nel caso in cui non avviene il riconoscimento tra le molecole della pianta e quelle del patogeno, quest'ultimo prenderà il sopravvento ed infetterà la pianta



# Caratterizzazione dei ceppi italiani di *Pyricularia grisea*

In uno studio di Roumen *et al.* (1997), 41 ceppi di *Pyricularia grisea* raccolti in diversi anni su cultivar di riso differenti, provenienti da cinque paesi europei (Francia, Spagna, Ungheria, Portogallo e Italia) sono stati caratterizzati dal punto di vista molecolare...

Roumen E, Levy M, Notteghem JL, 1997. Characterization of the European pathogen population of *Magnaporthe grisea* by DNA fingerprinting and pathotype analysis. *European Journal of Plant Pathology* 103: 363-371

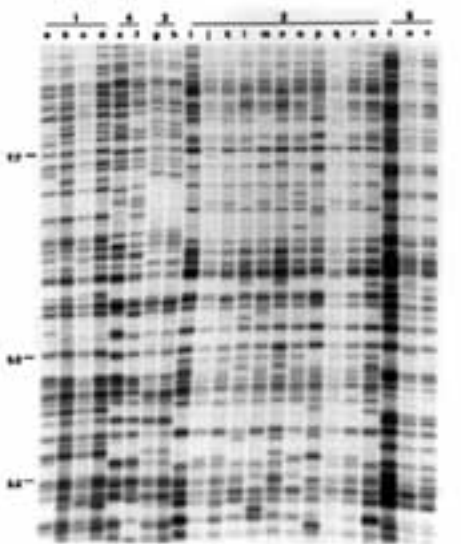


Figure 2. MGR586-DNA fingerprints of European rice blast fungus isolates. Marginal numbers indicate scale of fragment sizes in kilobases. Numeric column headings indicate lineage associations of the isolates that are loaded as follows: a) SP1, b) FR13, c) FR41, d) IT10, e) SP3, f) SP4, g) HN1, h) ID3, i) IT4, j) SP2, k) FR1, l) IT14, m) PR2, n) FR10, o) FR71, p) FR8, q) PR61, r) FR18, s) PR76, t) IT7, u) PR14 and v) IT20.

... e raggruppati in 5 famiglie distinte.

I ceppi italiani del patogeno si collocano nelle famiglie 1, 2 e 5 insieme ai ceppi francesi e portoghesi, mentre le famiglie 3 e 4 sono costituite esclusivamente da ceppi ungheresi e spagnoli rispettivamente.

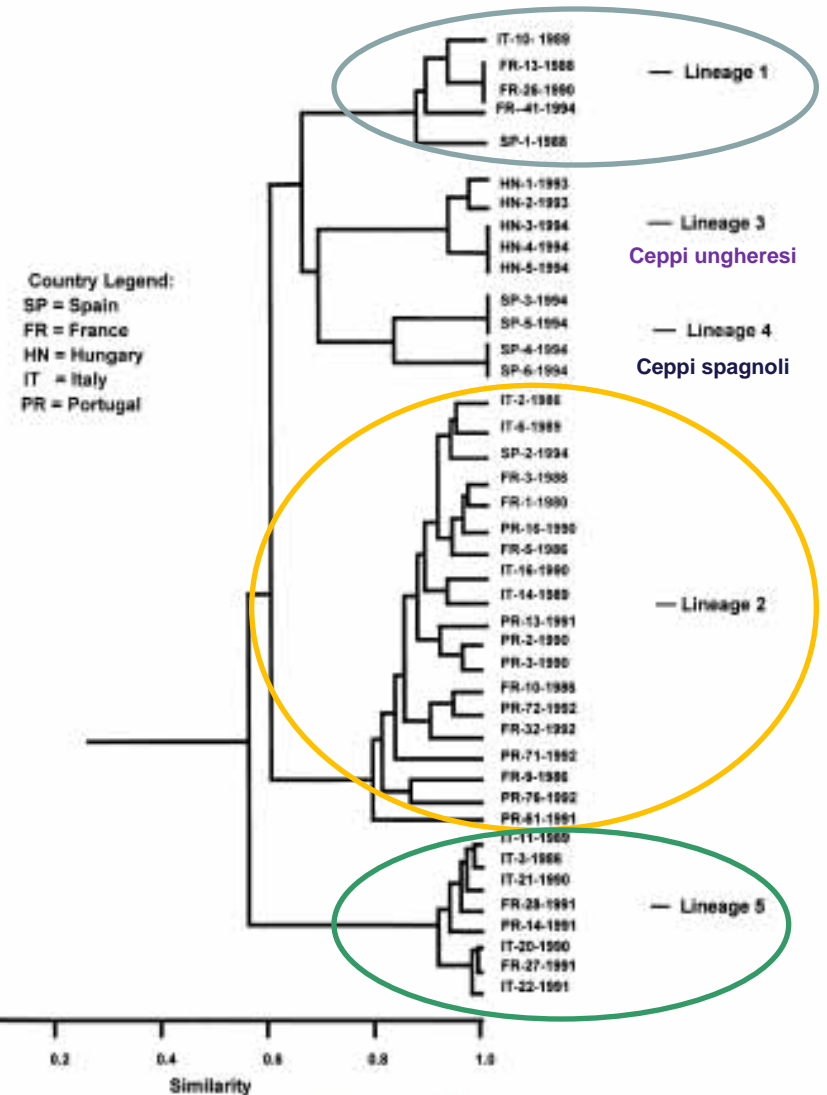


Figure 3. Rice blast pathogen lineage diversity in Europe. UPGMA phenogram of MGR586-fingerprint variation. The country and year of isolate collection is indicated.





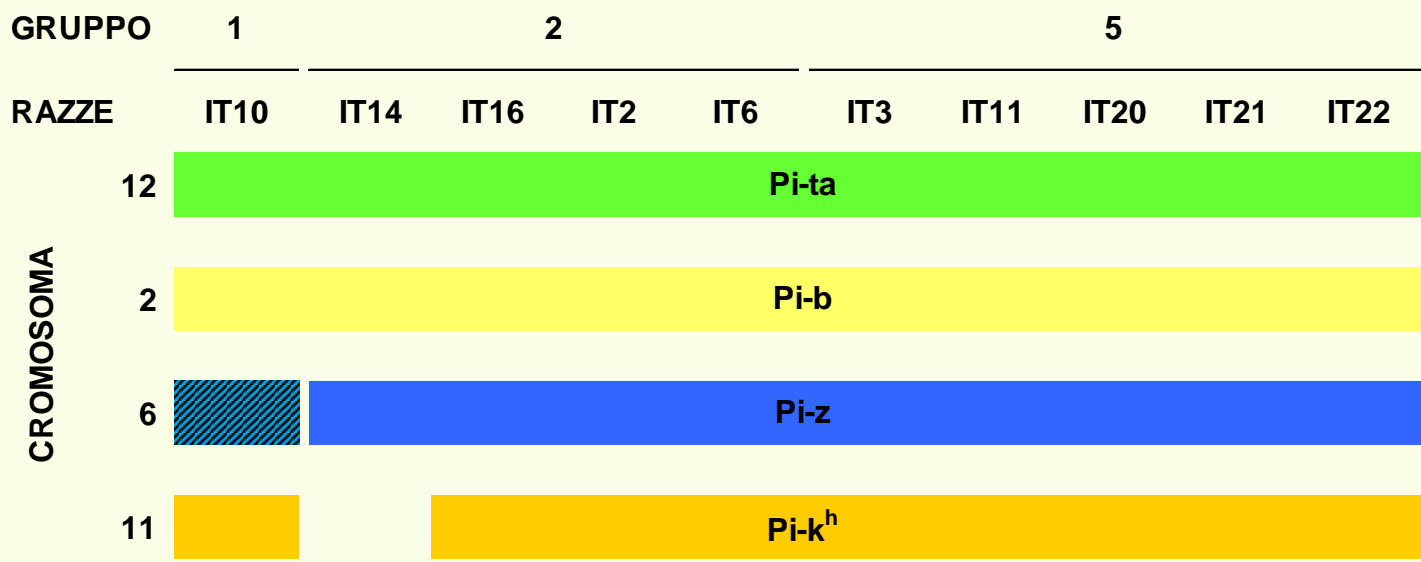
# Caratterizzazione dei ceppi italiani di *Pyricularia grisea*

In seguito ad un saggio di patogenicità con i 41 ceppi del patogeno su varietà differenziali, di cui è nota la presenza dell/i gene/i *Pi* nel genoma, si è concluso che i geni *Pi-ta* e *Pi-b* determinano resistenza completa ai ceppi italiani considerati, mentre *Pi-z* e *Pi-k<sup>h</sup>* mostrano resistenza a tutti i ceppi tranne *IT10* e *IT14* rispettivamente.

Table 3. Differential reactions observed between rice cultivars and European isolates of the blast pathogen. Solid black boxes indicate a fully susceptible IT (Genus type 1-4). Boxes that are half or three quarters black indicate an intermediate IT (Genus type 1, 4 with a minor amount of type 2 possible). Boxes with a small black right corner indicate a resistant IT with type 2 lesions. Diagonal boxes indicate a resistant IT without symptoms or with type 1 lesions. Results for cultivars that were accurately resistant (30-1, Pusa-4, Kalya, Gajana overall, Emerald) or susceptible (Olatelli, Lohi) are not included.

CULTIVAR	RESISTANCE GENES	LINDA		2		6		3		4		1		3			
		IT10	IT14	IT16	IT2	IT6	IT3	IT11	IT20	IT21	IT22	IT10	IT14	IT16	IT2	IT6	
INDIA 4300	Pi-ta	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
PULAKHANI 1	Pi-ta/Pi-b	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
PULAKHANI 2	Pi-ta/Pi-b	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
K-34	Pi-ta	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
K-35	Pi-ta	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
HAUTON, KUMBLE	Pi-ta/Pi-b/Pi-z	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
WPTO	unknown	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
WPPHARI	Pi-ta	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
NORIN 32	Pi-ta	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
REGO 1	unknown	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
WPH 2	Pi-ta/Pi-b	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
ET 1	Pi-ta	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
TRABONNET	unknown	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□

■ suscettibile  
□ Resistente

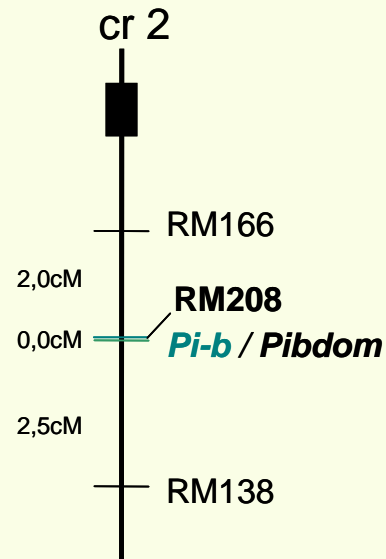


GENI DI RESISTENZA

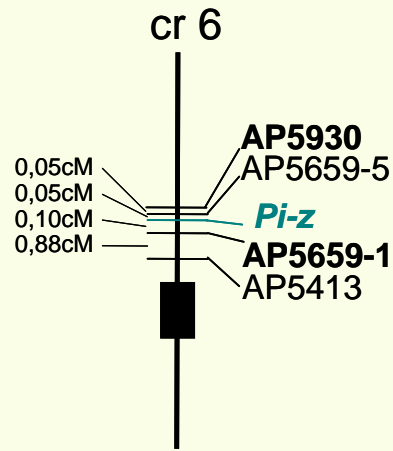
Attività del LBM: ricerca della presenza dei geni *Pi-ta*, *Pi-k<sup>h</sup>*, *Pi-b*, *Pi-z*



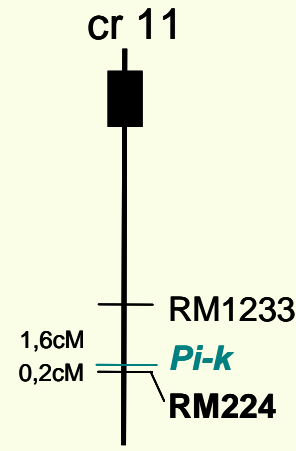
# SAM - Geni di resistenza a *Pyricularia grisea*



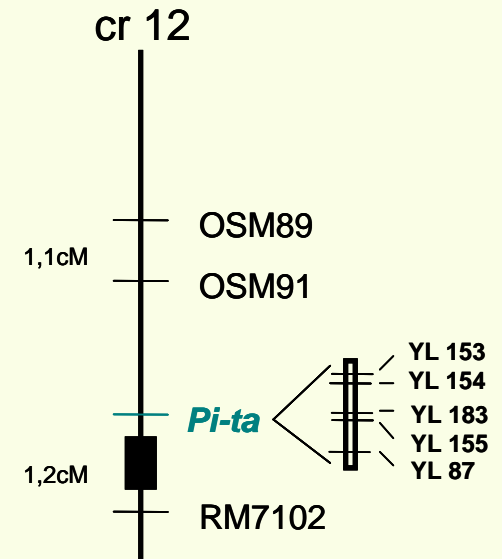
Fjellstrom *et al.*, 2004



Fjellstrom *et al.*, 2006

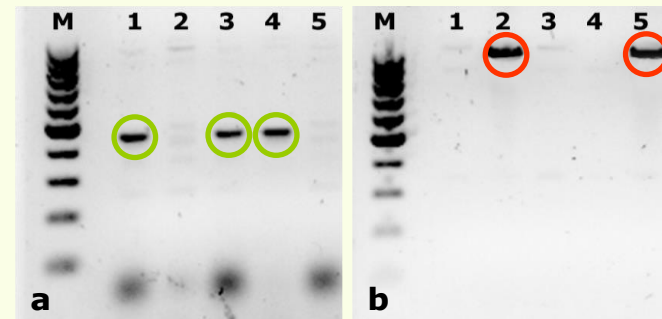
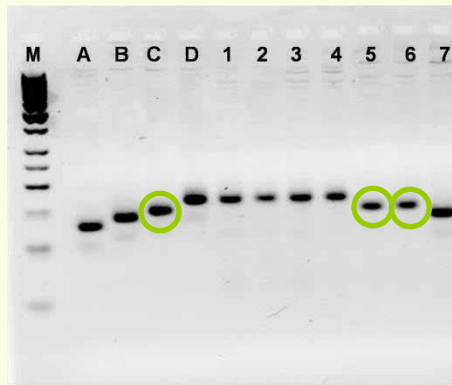


Fjellstrom *et al.*, 2004



Jia *et al.*, 2002

*Pi-k<sup>h</sup>*  
RM224



YL153 /YL154

YL183 /YL87

# Progetto RISOVAL

“Rete di sperimentazione varietale riso e messa a punto di metodiche molecolari per la valorizzazione delle varietà di riso coltivate in Lombardia”



Finanziato : Regione Lombardia  
Partners: ENR e PTP

- 72 varietà italiane
- fingerprinting
- resistenza a *Pyricularia grisea*
- SAM contenuto in amilosio

Quaderni della Ricerca n. 123 – novembre 2010  
[www.agricoltura.regione.lombardia.it](http://www.agricoltura.regione.lombardia.it)

# Progetto RISOVAL

## Screening per la presenza dei geni di resistenza *Pi-ta*, *Pi-b*, *Pi-k<sup>h</sup>* e *Pi-z*

Gene	Primer Combination	Prodotto amplificato (bp)	Tipo di marcatore	Controllo positivo	Genotipi che presentano il gene
Pi-ta	YL 153/ YL 154	440 bp	Dominante	Tequing	Artiglio Venere
	YL 155/ YL 87	1086 bp	Dominante	Tequing	
	YL 183/ YL 87	1087 bp	Dominante	Nipponbare	
Pi-b	Pibdom	365 bp	Dominante	Tequing	/
	RM 208	177 bp	Codominante	Tequing	
Pi-k <sup>h</sup>	RM 224	139 bp	Codominante	Wells	Arsenal Atlante Cadet Libero Marte
Pi-z	AP 5659-1	220 bp	Codominante	Zenith	Artiglio Arsenal Atlante Augusto Cadet Carmen Rodeo
	AP 5930	159 bp	Codominante		

- 62 genotipi non hanno alcun gene di resistenza,
- Nessuna delle varietà studiate presenta il gene *Pi-b*,
- **Venere** possiede il gene *Pi-ta*,
- **Artiglio** i geni *Pi-ta* e *Pi-z*,
- **Libero** e **Marte** il gene *Pi-k<sup>h</sup>*,
- **Augusto**, **Carmen** e **Rodeo** il gene *Pi-z*,
- **Arsenal**, **Atlante** e **Cadet** i geni *Pi-k<sup>h</sup>* e *Pi-z*.

# Progetto RISOVAL – fenotipizzazione presso PTP



# Progetto RISOVAL – Presenza di geni *Pi* e resistenza

Fenotipizzazione a seguito delle inoculazioni effettuate con i tre ceppi di *Pyricularia grisea* IT2, IT3 e IT10.

ID	Varietà	IT02	IT10	IT03
1	Aiace	4	2	2
2	Albatros	4	2	3
3	Apollo	1	2	2
4	Arborio	3	1	3
5	Argo	1	1	2
6	Ambra	3	1	1
7	Ariete	3	1	1
8	Arpa	3	1	1
9	Artemide	3	2	3
10	Artiglio	1	1	1
11	Asso	4	1	3
12	Augusto	3	1	1
13	Baldo	3	3	1
14	Balilla	4	1	2
15	Bianca	4	1	2
16	Bravo	4	3	3
17	Brio	2	4	2
18	Cadet	1	1	2
19	Carmen	2	1	2
20	Carnaroli	4	2	3
21	Castelmochi	2	2	1
22	Centauro	2	2	3
23	CR LB1	4	2	1
24	Creso	1	1	2
25	Cripto	2	4	3
26	Delfino	2	1	3
27	Elba	5	1	3
28	Elio	1	1	2
29	Ellebi	1	1	2
30	Eolo	2	1	2
31	Ercole	5	3	2
32	Eurosis	3	2	2
33	Flipper	2	1	2
34	Fragrance	1	2	2
35	Galileo	4	2	2
36	Gange	1	1	1

ID	Varietà	IT02	IT10	IT03
37	Giano	1	1	1
38	Gladio	3	1	2
39	Karnak	2	4	3
40	Koral	2	1	2
41	Libero	1	1	1
42	Lido	4	1	3
43	Loto	1	1	1
44	Marte	1	2	1
45	Nembo	1	1	2
46	Padano (Bahia)	2	1	2
47	Perla	1	2	1
48	Poseidone	2	1	2
49	Rodeo	2	2	2
50	Roma	4	2	3
51	S. Andrea	1	1	1
52	Savio	1	1	2
53	Scirocco	1	1	1
54	Scudo	1	1	1
55	Selenio	1	1	2
56	SIS R215	3	1	1
57	Sprint	4	1	1
58	Tea	4	1	3
59	Tejo	3	2	4
60	Thaibonnet	2	2	2
61	Atlante	2	2	1
62	Tosca	2	4	3
63	Ulisse	2	3	3
64	Venere	1	2	3
65	Vialone Nano	5	2	3
66	Volano	4	1	4
67	Opale	2	1	2
68	Luxor	4	1	2
69	Carnise	3	1	2
70	Carnise precoce	3	1	3
71	Arsenal	1	1	1
72	Samba	1	1	1

## PRESENZA GENI *Pi*

Venere *Pi-ta*

Artiglio *Pi-ta* e *Pi-z*

Libero e Marte *Pi-k<sup>h</sup>*

Augusto, Carmen e Rodeo *Pi-z*

Arsenal, Atlante e Cadet *Pi-k<sup>h</sup>* e *Pi-z*

## CLASSIFICAZIONE SINTOMI

1. Completamente resistente
2. Resistente
3. Parzialmente resistente
4. Suscettibile
5. Altamente suscettibile

La presenza dei geni di resistenza viene confermata dagli esiti della fenotipizzazione, dimostrando una correlazione tra la presenza di un determinato gene *Pi* e la resistenza al patogeno.

# Screening delle varietà della banca del germoplasma

- ✓ È in corso lo **screening** di alcuni genotipi presenti nella banca del germoplasma al fine di determinare le accessioni che possiedono i geni di resistenza.
- ✓ Collezione di **179 accessioni** costituite dal 1829 al 2004.

Varietà	Origine
bertone	Italia
allorio	Italia
fortuna	Italia
mantova	Italia
senatore novelli	Italia
razza77-I	Italia
adelaide chiappelli	Italia
R.B. (o Rinaldo Bersani)	Italia
gigante vercelli	Italia
rizzotto	Italia
olcenengo-I	Italia
lomello-G	Italia
laFeria	Italia
italpatna - F	Italia
ribe (Euribe)	Italia
s.rocco-I	Italia
arborio precoce	Italia
redi	Italia
ringo	Italia
rocca	Italia
anseatico	Italia
vitro-I	Italia
lieto-I	Italia
silla	Italia
bonni-I-SIS	Italia
europa	Italia
romanico	Italia
gritna	Italia
ribello	Italia
pierina marchetti	Italia
veneria	Italia
radon	Italia
sirio	Italia
nettuno	Italia
rodio	Italia
strella	Italia
onda	Italia
smeraldo	Italia
belgioioso	Italia
nilo	Italia
viale	Italia
molinella	Italia
cervo	Italia
drago	Italia
alpe	Italia

Varietà	Origine
rova	Italia
alice	Italia
sara	Italia
arco	Italia
riva	Italia
euro (Eurosis)	Italia
rialto-I	Italia
eurose	Italia
airone	Italia
molo	Italia
indio-I	Italia
miara	Italia
panda	Italia
vela	Italia
burma-I-SIS	Italia
zena	Italia
santerno	Italia
saturno	Italia
lamone	Italia
asia	Italia
vialone nero	Italia
P6	Italia
maratelli-I	Italia
roncarolo	Italia
ardizzone1018-I	Italia
balzaretti-P	Italia
novara	Italia
piemonte	Italia
agostano-I	Italia
oldenico	Italia
greggio	Italia
corbetta-I	Italia
trionfo Fassone-I	Italia
ferraris-I	Italia
balocco-G	Italia
monticelli	Italia
precoce monticelli	Italia
raffaello -I	Italia
orione-I	Italia
rosa marchetti	Italia
ice	Italia
nova	Italia
romeo-I	Italia
giovanni marchetti	Italia
sesilla - F	Italia



**70%**

Varietà	Origine
navile	Italia
nero - F	Italia
s.petronio	Italia
san petronio	Italia
neretto	Italia
italico roncarolo-I	Italia
castello	Italia
faro-I-SIS	Italia
alpha	Italia
lomellino	Italia
sorriso	Italia
prometeo	Italia
s.pietro	Italia
nuovo maratelli	Italia
minerva	Italia
pierrrot	Italia
petronio	Italia
vialone 190-I	Italia
auro	Italia
fulgente-I	Italia
italico	Italia
italico livorno	Italia
ostiglia	Italia
lencino	Italia
ranghino	Italia
originario	Italia
greppi	Italia
americano 1600-I	Italia
bellardone-I	Italia
balliga G. -I	Italia
baraggia	Italia
rubino	Italia
roncolo	Italia
benito-P	Italia
feronio	Italia
lucero-I	Italia
cigalon	Francia
puntal	Spagna
bomba	Spagna
rexmont	USA
maybelle	USA
texmont	USA
L201	USA
lemont	USA
L202	USA

Varietà	Origine
A301	USA
alan	USA
lacassine	USA
cypress	USA
dellmont	USA
adair	USA
Lagrué	USA
dellose	USA
A201	USA
dixiebelle	USA
drew	USA
jefferson	USA
L204	USA
cocodrie	USA
jacinto	USA
L205	USA
pecos	USA
M202	USA
M203	USA
orion	USA
bengal	USA
M204	USA
zenith	USA
lady wright	USA
skybonnet	USA
calmochi-201	USA
calmochi-101	USA
S101	USA
S102	USA
saber	USA
cheniere	USA
Teging	Cina
LTH	
Kassalath	
azucena	
IR64	
nipponbare	
Fukunishiki	Giappone
Kusabue	Giappone
akitakomachi	Giappone
CO39	India
CO34	India
kyeema	Australia
giza 177	Egitto

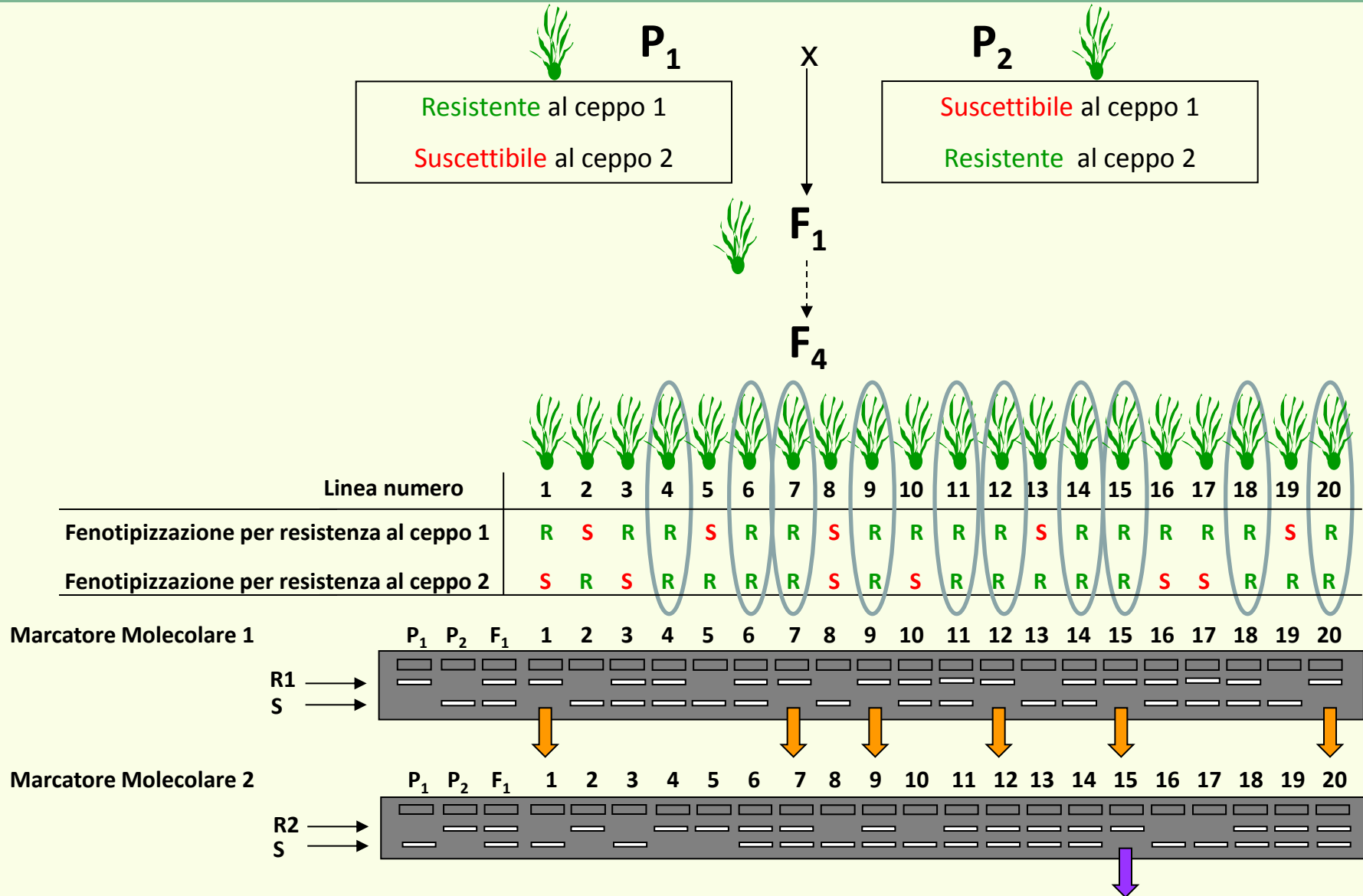
**21%**

**6%**

Gene	Stato della ricerca
Pi-ta	
Pi-k <sup>h</sup>	
Pi-b	
Pi-z	



# SAM: applicazione pratica





# Costituzione di varietà resistenti al brusone

Libero - Pi-k<sup>h</sup>

Elio - Pi-z

CL71 - Pi-k<sup>h</sup>

CL15 - Pi-k<sup>h</sup>

**SI GENI**

**SI GENI**

CL26 - Pi-k<sup>h</sup>

CL31 - Pi-k<sup>h</sup> e Pi-ta

CL80 - Pi-k<sup>h</sup>

CL28 - Pi-k<sup>h</sup>

CL12 - Pi-k<sup>h</sup>

CL33 - Pi-k<sup>h</sup>

CL46 - Pi-k<sup>h</sup>

**NO GENI**

Grazie per  
l'attenzione!

*Lætitia*

