

DAL CENTRO DI DOMESTICAZIONE DELLA VITE, NUOVE PROSPETTIVE PER LA RESISTENZA ALLA PERONOSPORA

Silvia Laura Toffolatti, Piero Attilio Bianco, Osvaldo Failla e Gabriella De Lorenzis

Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Università degli Studi di Milano, Via Celoria 2, 20133 Milano (Italy)

e-mail: silvia.toffolatti@unimi.it; gabriella.delorenzis@unimi.it

Fonti di resistenza nel germoplasma proveniente dal centro di domesticazione primario della vite

Da molto tempo è noto che le specie di vite originarie del Nord America e dell'Asia, a causa della coevoluzione instaurata nel tempo con il patogeno o con una specie simile, presentano dei geni di resistenza nei confronti di *P. viticola*. Tuttavia, gli ibridi ottenuti dall'incrocio di queste specie con *V. vinifera* non possono essere coltivati per la produzione di vini DOC e DOCG, che attualmente possono essere ottenuti solamente con cultivar di pura *V. vinifera*. Partendo dall'ipotesi che fonti di resistenza nei confronti di *P. viticola* potessero essere presenti laddove la variabilità genetica del germoplasma di *V. vinifera* fosse elevata (Sargolzaei *et al.*, 2021), è stata intrapresa un'attività di ricerca volta a valutare la presenza di fonti di resistenza in varietà di vite originarie della Georgia (Caucaso, considerato il primo centro di domesticazione della vite). Tali indagini hanno consentito di riscontrare un profilo di resistenza in una cultivar a bacca nera, denominata Mgaloblishvili, che si caratterizza per una ridotta gravità della malattia sia in pieno campo sia in saggi di laboratorio (Toffolatti *et al.*, 2016).

Il meccanismo di difesa di Mgaloblishvili

Con l'ausilio dell'analisi trascrittomica, è stato quindi possibile delineare l'ipotetico meccanismo di resistenza di Mgaloblishvili (Toffolatti *et al.*, 2018), che si basa sulla sovraespressione di geni coinvolti nelle seguenti attività: i) riconoscimento del patogeno, mediato da recettori di PAMP (Pathogen Associated Microbial Pattern) e di un effettore (rust resistance kinase LR10); ii) riconoscimento dei danni causati all'ospite dal patogeno, mediato da recettori di DAMP (Damage Associated Microbial Pattern); iii) trasduzione del segnale mediata dall'etilene; iv) sintesi di composti ad attività antimicrobica, principalmente costituiti da terpeni (Ricciardi *et al.*, 2021) e apposizione di barriere fisiche (ispessimento della parete cellulare) per ostacolare lo sviluppo del patogeno.

È stato inoltre possibile identificare, per la prima volta nell'interazione tra la vite e *P. viticola*, un ipotetico gene di suscettibilità in Pinot nero (Toffolatti *et al.*, 2020). I geni di suscettibilità sono coinvolti nella compatibilità ospite-patogeno che porta all'insorgenza della malattia. Pertanto il loro silenziamento comporta resistenza nei confronti del patogeno (Zaidi *et al.*, 2018; Thatcher *et al.*, 2012).

Uno studio di GWA (Genome-wide association) ha successivamente evidenziato che i geni associati alla resistenza nei confronti di *P. viticola* in Mgaloblishvili si localizzano sui cromosomi 14 (*locus* Rpv29), 3 (*locus* Rpv30) e 16 (*locus* Rpv31). Tutti i *loci* presentano geni coinvolti nella difesa della pianta da malattie di origine biotica ed in particolare nel riconoscimento del patogeno (rust resistance kinase LR10), rafforzamento della parete cellulare e nella trasduzione del segnale (Sargolzaei *et al.*, 2020).

Il meccanismo di attacco di *P. viticola*

L'analisi del trascrittoma di *P. viticola* ha consentito di identificare i geni coinvolti nel meccanismo di patogenesi (Toffolatti *et al.*, 2020): è stato infatti scoperto che il patogeno, nel corso del processo di infezione di *V. vinifera*, sovraesprime geni che codificano per numerosi effettori apoplastici e citoplasmatici e proteine con dominio di secrezione. Gli effettori sono molecole prodotte dal patogeno

per tentare di impedire la risposta di resistenza da parte della cellula vegetale e la loro assenza è associata a resistenza (Dangl et al., 2013).

Le nuove prospettive per la viticoltura

In conclusione, gli studi effettuati sul germoplasma di vite Georgiano hanno consentito di identificare i geni associati alla resistenza e alla suscettibilità nei confronti di *P. viticola*, che tuttavia vanno ulteriormente caratterizzati. Questi geni potrebbero essere sfruttati per l'ottenimento di varietà resistenti da coltivare anche per la produzione di vini DOC e DOCG, poiché costituite da pura *V. vinifera*. Il miglioramento genetico potrebbe essere effettuato sia mediante il tradizionale incrocio o, meglio, attraverso metodiche innovative come il sistema di trasformazione non transgenico CRISPR-Cas9 (genome-editing) che consentirebbe di rendere resistenti le cultivar già presenti sul mercato, grazie al silenziamento del gene di suscettibilità. Per quanto riguarda, invece, il patogeno si potrebbe sfruttare la conoscenza dei geni che codificano per gli effettori del patogeno per la messa a punto di fungicidi innovativi a basso impatto su salute umana e ambiente come gli aptameri peptidici, ovvero corte catene di aminoacidi disegnate in modo da legarsi esclusivamente con una proteina target (Colombo et al., 2020).

Riassunto

La peronospora, causata dall'oomicete *Plasmopara viticola*, è una delle malattie più gravi della vite (*Vitis vinifera*). *P. viticola* è un parassita obbligato della vite, in grado cioè di svilupparsi attivamente solo sui tessuti recettivi della pianta. In assenza di idonee forme di controllo, il patogeno può causare gravi danni alla produzione, a seguito dell'infezione di foglie, tralci, infiorescenze e grappoli (Gessler et al., 2011). Le misure di protezione che vengono adottate si basano essenzialmente sull'applicazione di fungicidi antiperonosporici. La messa a punto di strategie di difesa alternative è una delle sfide attuali nella difesa fitosanitaria e in tal senso la coltivazione di varietà di vite resistenti a *P. viticola* potrebbe contribuire sia a migliorare l'efficacia della difesa sia ad incrementare la sostenibilità della viticoltura.

Riferimenti bibliografici

Colombo, M., Masiero, S., Rosa, S., Caporali, E., Toffolatti, S. L., Mizzotti, C., Tadini, L., Rossi, F., Pellegrino, S., Musetti, R., Velasco, R., Perazzolli, M., Vezzulli, S., & Pesaresi, P. (2020). NoPv1: a synthetic antimicrobial peptide aptamer targeting the causal agents of grapevine downy mildew and potato late blight. *Scientific reports*, 10: 17574.

Dangl, J. L., Horvath, D. M., & Staskawicz, B. J. (2013). Pivoting the plant immune system from dissection to deployment. *Science*, 341: 746–751.

Gessler C, Pertot I, Perazzolli M. 2011. *Plasmopara viticola*: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. *Phytopathologia Mediterranea* 50: 3–44.

Ricciardi V, Marciàno D, Sargolzaei M, Maddalena G, Maghradze D, Tirelli A, Casati P, Bianco PA, Failla O, Fracassetti D, Toffolatti SL, De Lorenzis G (2021). From plant resistance response to the discovery of antimicrobial compounds: the role of volatile organic compounds (VOCs) in grapevine downy mildew infection. *Plant Physiology and Biochemistry* 160: 294–305

Sargolzaei M, Maddalena G, Bitsadze N, Maghradze D, Bianco PA, Failla O, Toffolatti SL, De Lorenzis G. (2020). Rpv29, Rpv30 and Rpv31: three novel genomic loci associated with resistance to *Plasmopara viticola* in *Vitis vinifera*. *Frontiers in Plant Science* 11: 562432.

Sargolzaei M, Rustioni L, Cola G, Ricciardi V, Bianco PA, Maghradze D, Failla O, Quagliano F, Toffolatti SL and De Lorenzis G (2021). Georgian grapevine cultivars: ancient biodiversity for future viticulture. *Front. Plant Sci.* 12: 630122.

Thatcher LF, Powell JJ, Aitken EAB, Kazan K, Manners JM. 2012. The lateral organ boundaries domain transcription factor LBD20 functions in Fusarium wilt susceptibility and jasmonate signaling in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 160: 407–418.

Toffolatti SL, Maddalena G, Salomoni D, Maghradze D, Bianco PA, Failla O. 2016. Evidence of resistance to the downy mildew agent *Plasmopara viticola* in the Georgian *Vitis vinifera* germplasm. *Vitis* 55: 121–128.

Toffolatti SL, De Lorenzis G, Brilli M, Moser M, Shariati V, Tavakol E, Maddalena G, Passera A, Casati P, Pindo M, et al. 2020. Novel aspects on the interaction between grapevine and *Plasmopara viticola*: Dual-RNA-Seq analysis highlights gene expression dynamics in the pathogen and the plant during the battle for infection. *Genes* 11: 261.

Toffolatti SL, De Lorenzis G, Costa A, Maddalena G, Passera A, Bonza MC, Pindo M, Stefani E, Cestaro A, Casati P, et al. 2018. Unique resistance traits against downy mildew from the center of origin of grapevine (*Vitis vinifera*). *Scientific Reports* 8: 12523

Zaidi SS-A, Mukhtar MS, Mansoor S. 2018. Genome Editing: targeting susceptibility genes for plant disease resistance. *Trends in Biotechnology* 36: 898–906.