

RELAZIONE DI PROGETTO
(A cura del coordinatore di progetto)

1. Tematica e Filiera	FACCEJPI – FACCE SURPLUS: SUSTAINABLE AND RESILIENT AGRICULTURE FOR FOOD AND NON-FOOD SYSTEMS		
2. Titolo	Toward a sustainable viticulture: Improved grapevine productivity and tolerance to abiotic and biotic stresses by combining resistant cultivars and beneficial microorganisms (project ID79)		
3. Acronimo	VITISMART		
4. Progetto	Bando	Affidamento diretto	Sportello
	¹ D.M. 25333/7303/16 del 28/10/2016	² D.M. 25333/7303/16 del 28/10/2016	³ D.M. 25333/7303/16 del 28/10/2016
5. Durata (mesi)		Report⁴ Intermedio x Finale	Nota⁵ periodo di riferimento dal 15/05/2017 al 14/05/2018
6. Dati finanziari	Finanziamento concesso totale (€)	Finanziamento ricevuto (€)	Importo rendicontato (€)⁶
	13.860,00	8.147,75	6.319,21
7. Coordinatore di progetto	Nome e COGNOME	Maria Stella GRANDO	
	Qualifica	Professore associato	
	Istituzione di appartenenza	Centro Agricoltura Alimenti Ambiente Università di Trento, Fondazione Edmund Mach	
	Indirizzo	Via E. Mach, 1 38010 San Michele all'Adige (TN)	
	Tel/fax	0461 615197 / fax 0461 650956	
	e-mail	stella.grando@fmach.it	
8. Ente coordinatore	Denominazione: FONDAZIONE EDMUND MACH Indirizzo: Via Edmund Mach, 1 – 38010 San Michele all'Adige (TN) Tel.: 0461 615427, Fax: 0461/650956, e-mail: amministrazione.cri@pec.iasma.it Si confermano gli estremi bancari o di tesoreria già forniti per la concessione del contributo si (x) no, indicare IBAN ABI CAB BIC Responsabile amministrativo della rendicontazione finanziaria: Nome ROMINA AGOSTINI Tel/fax 0461 6153702 Email romina.agostini@fmach.it		

<p>9. Sintesi del progetto (max 20 righe) <i>(può essere oggetto di pubblicazione)</i></p>	<p>VITISMART è un progetto di tre anni che coinvolge 16 partner di 9 paesi europei e prevede attività di ricerca interdisciplinare; è strutturato per garantire un equilibrio tra vari aspetti di ricerca e innovazione, ricerca di base e applicata, sperimentazione e dimostrazione, valutazione di aspetti socio-economici, trasferimento di tecnologie ed azioni di diffusione. Il progetto contribuirà al raggiungimento degli obiettivi di sviluppo sostenibile, integrando aspetti economici, sociali ed ambientali per affrontare le sfide su sicurezza alimentare e clima.</p> <p>Il progetto riguarda tre temi principali: 1) l'aumento in modo sostenibile della qualità dei prodotti agricoli, della produttività e del reddito; 2) l'adattamento e una maggiore resilienza al CC; 3) la riduzione degli input chimici, mantenendo elevati standard qualitativi, con l'uso di metodi di biocontrollo basati sul potenziamento dei meccanismi naturali di difesa della vite. Il progetto si propone di sviluppare un sistema viticolo resiliente in grado di recuperare rapidamente da stress biotici e abiotici. Questo obiettivo sarà raggiunto attraverso l'uso combinato di vitigni resilienti e microrganismi benefici al fine di acquisire una naturale tolleranza incrociata, mantenendo nel contempo i livelli produttivi.</p>
<p>Parole chiave</p>	<p>Sostenibilità della viticoltura, resilienza, cambiamenti climatici, riduzione input chimico, organismi di biocontrollo</p>

10. Relazione del progetto (totale max. 10 pagine)**10.1 Descrizione dei risultati in relazione agli obiettivi generali e specifici previsti nel periodo di riferimento (max. 2 pagine)**

Nel progetto VITISMART il nostro gruppo partecipa con alcune attività al Work Package 2: *Grapevine genetic resources exploitation to screen for more resilient cultivars* e al Work Package 4: *Molecular, biochemical and physiological investigation of the intricate networks underlying the tripartite interaction between plants (selected from WP2), pathogens and beneficial MBAs (selected from WP3) under climate change*. Inoltre contribuisce agli altri WPs fornendo informazioni anche attraverso il coinvolgimento di viticoltori locali.

Relativamente al **WP2 Task 2.3 *Non invasive evaluation for abiotic stress***, il nostro studio cerca di stabilire se gli isoprenoidi volatili (VIPs) possano fungere da effettivi antiossidanti nelle piante di vite interagendo con le sostanze ROS che si accumulano in condizioni di stress abiotico, producendo VIPs ossidati. Negli ultimi esperimenti abbiamo 1) predisposto un confronto tra cloni di vite che differiscono per il contenuto di terpeni nelle uve di vite e 2) condotto una caratterizzazione di piante di 'microvine' da noi geneticamente modificate per il gene VvDXS1 ed esposte a trattamenti di stress. Il sistema 'microvine' è un modello basato sulla mutazione dominante naturale VvGail che conferisce una statura ridotta alla pianta di vite, ne riduce i cicli di generazione e induce una fioritura continua accompagnata dalla formazione di frutti in tempi rapidi (Chaib et al. 2010). E' quindi adatto per svolgere studi in spazi ridotti e condizioni controllate.

Per quanto riguarda il **WP 4 Task 4.1 *Measurement of CC impact on plant physiology and development***, il nostro contributo consiste nel condividere le osservazioni di risposta allo stress idrico controllato misurate in una collezione di germoplasma di Vitis non-vinifera (circa 600 piante in vaso) composta da diversi genotipi. Le stesse erano state precedentemente genotipizzate SNP con il Vitis SNP Chip Illumina 20K, e risequenziate a tre geni candidati per il controllo della risposta allo stress idrico in vite. Ulteriori informazioni genotipiche e fenotipiche sono state prodotte nell'ultimo anno per essere combinate in uno studio GWAS.

Nell'ultimo periodo non sono state svolte attività riconducibili agli altri WPs.

10.2 Attività svolte (max 7 pag)

Relativamente al **WP2 Task 2.3 *Non invasive evaluation for abiotic stress***, è continuata la sinergia con il progetto H2020-MSCA-IF-2014, individual fellowship del ricercatore Luca Capellin operante presso la Fondazione Edmund Mach “Leveraging the antioxidant role of volatile isoprenoids for improving grapevine resistance to ozone and temperature stress”. Nella scorsa stagione è stato effettuato un confronto in condizioni di campo tra due cloni di Chardonnay (CH130 e CH809) che differiscono per l’accumulo di terpeni nelle uve, linalolo e geraniolo in particolare. Precedenti studi del nostro gruppo (Emanuelli et al. 2010) avevano dimostrato che tali differenze sono attribuibili a una mutazione al locus VvDXS. La disponibilità di questa informazione di sequenza ha permesso di verificare l’effettiva identità clonale delle piante in vigneto, rendendo l’esperimento molto accurato. L’approccio PTR-ToF-MS (Proton Transfer Reaction – Time of Flight – Mass Spectrometry combinato alla Gas cromatografia GC-MS) è stato impiegato per valutare l’emissione di composti organici volatili (VOCs) di materiali di vite composti da tralci con foglie portati in laboratorio dal campo. Le misure sono state effettuate in condizioni normali e in seguito a stress termico, rilevando anche l’efficienza fotosintetica. I primi risultati hanno indicato che in condizioni di stress il clone aromatico ha una maggiore emissione di monoterpeni e mantiene meglio dell’altro la capacità fotosintetica. Le piante sono state propagate da legno e replicate in vaso per ripetere le misurazioni in condizioni controllate.

I risultati saranno anticipati all’Università di Piacenza in occasione del 7° Convegno Nazionale di Viticoltura il prossimo 9-11 luglio 2018 con una relazione dal titolo: *Linking monoterpenes and abiotic stress resistance in grapevine* (Capellin et al).

Nel corso del 2017 il nostro laboratorio ha anche concluso la prima valutazione delle piante di microvine geneticamente trasformate per il gene VvDXS1. Tale gene, come già riportato, ha un ruolo chiave nella regolazione della via metabolica plastidiale (MEP) che porta alla formazione dei precursori degli isoprenoidi. Abbiamo condotto un’analisi in parallelo, misurando da un lato la concentrazione di terpeni nelle uve di un ampio germoplasma di vite in campo, e dall’altro le piante ingegnerizzate.

Lo SNP 1822 di VvDXS si è confermato molto predittivo della capacità di accumulare monoterpeni, rivelando anche un’influenza interessante sul livello di sesquiterpeni.

L’effetto della sovraespressione dell’allele wild-type (neutro) e dell’allele mutato (moscato) di VvDXS in piante di microvine è stato invece valutato a livello trascrizionale e metabolico in differenti organi della pianta e stadi di sviluppo del frutto in serra. Nelle piante trasformate è stato osservato un aumentato livello di espressione di geni per le vie biosintetiche di monoterpeni, sesquiterpeni e carotenoidi rispetto al controllo. Nelle uve delle microvine trasformate con l’allele moscato i monoterpeni erano effettivamente più abbondanti come conseguenza più della maggiore attività catalitica dell’enzima mutato che della sovraespressione del gene.

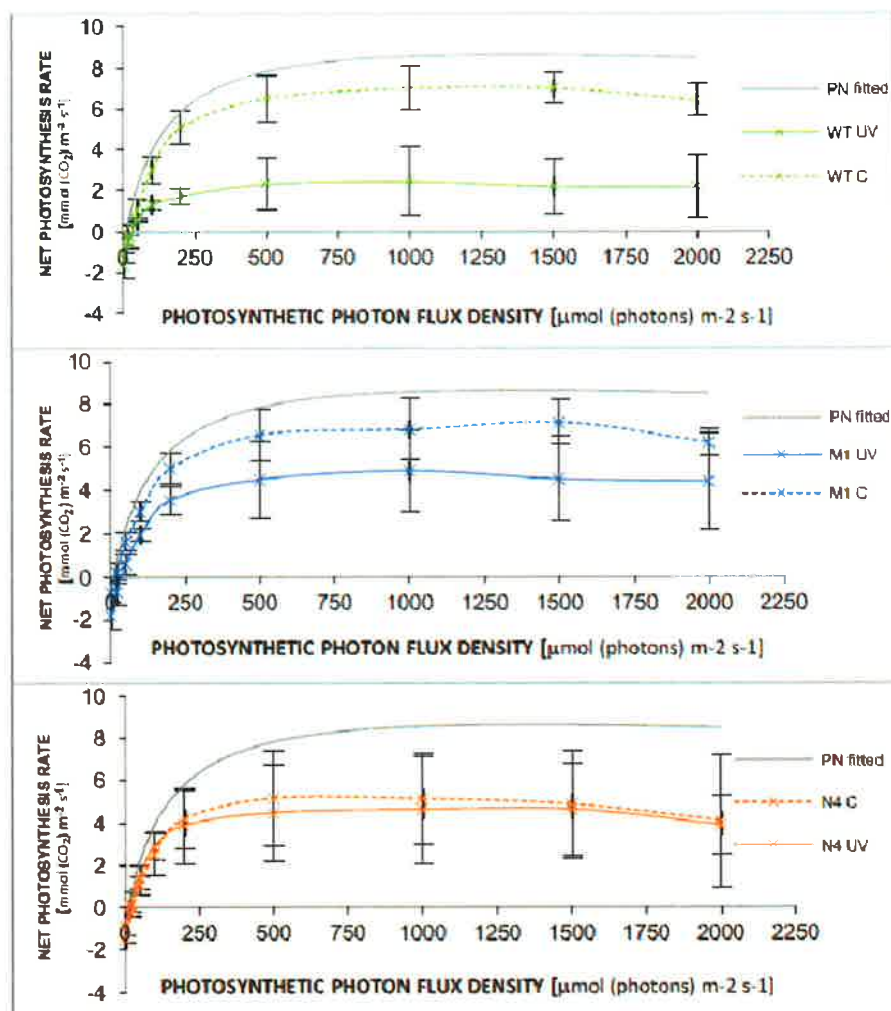
Questo lavoro è stato pubblicato a gennaio 2018:

Dalla Costa, L.; Emanuelli, F.; Trenti, M.; Moreno-Sanz, P.; Lorenzi, S.; Collier, E.; Moser, S.; Slaghenaufi, D.; Cestaro, A.; Larcher, R.; Gribaudo, I.; Costantini, L.; Malnoy, M.A.; Grando, M.S. (2018). Induction of terpene biosynthesis in berries of microvine transformed with VvDXS1 alleles. *FRONTIERS IN PLANT SCIENCE*, 8. doi: 10.3389/fpls.2017.02244

Non tutte le linee di microvine prodotte in questo studio sono risultate trasformate con una sola copia di transgene. In particolare, inserzioni multiple sono state determinate nella linea M1 trasformata con l’allele moscato e in 7 delle 8 linee trasformate con l’allele neutro. Di conseguenza gli esperimenti pensati per verificare una diversa resistenza agli stress abiotici conferita dall’attivazione delle vie biosintetiche degli isoprenoidi (clorofilla, carotenoidi, terpeni) sono stati ridimensionati.

Con una studentessa dell’Università di Bordeaux che ha frequentato il nostro gruppo per un lavoro di tesi di

laurea, è stato tuttavia possibile effettuare una valutazione preliminare dell'effetto dello stress da irradiazione UV-B intenso sull'attività fotosintetica della linea M1 (trasformata con l'allele moscato, in multicopia), la linea N4 (trasformata con l'allele neutro in singola copia) e la microvine controllo non trasformata. Le misure sono state condotte con la strumentazione LICOR-XT 6400 e HANDY PEA presso i laboratori di fisiologia vegetale del nostro centro ricerche. Sono inoltre stati determinati altri parametri come la concentrazione delle clorofille e la conduttanza stomatica. Un esempio della curva di emissione luminosa dei tre genotipi esposti alla luce UV-B rispetto alle condizioni controllo è riportato di seguito (media di 6 individui per genotipo).



Questa prima prova è servita a ricavare informazioni sulle condizioni sperimentali che possono essere più adeguate ai materiali di microvine in serra. L'intensità del trattamento e la grande variabilità osservata tra le 6 repliche per molti dei parametri misurati non hanno infatti permesso di stabilire se le piante trasformate con VvDXS sono più protette dallo stress luminoso rispetto al wild-type.

Per quanto riguarda il **WP 4 Task 4.1 Measurement of CC impact on plant physiology and development**, abbiamo in precedenza riportato i risultati delle analisi di immagini termiche fogliari di 87 genotipi di portainnesto sottoposti a stress idrico controllato, in termini di conduttanza stomatica e risposta fisiologica. Tali dati sono stati utilizzati per uno studio di associazione genetica a livello dell'intero genoma (Genome Wide Association Study - GWAS). Sono stati evidenziati segnali statisticamente significativi per alcuni dei circa 20.000 polimorfismi SNP analizzati combinati con la regolazione della conduttanza stomatica in condizione di stress idrico. Queste regioni genomiche candidate verranno indagate più approfonditamente.

Nel corso dell'estate 2017, sono stati messi appunto due ulteriori esperimenti di stress idrico in condizioni controllate su 4 genotipi di portainnesto che rappresentano diverse tipologie di risposta in base allo studio precedente: Riparia Glorie de Montpellier, 101-14 Mgt, SO4 e 110 Richter. Nel primo esperimento 10 repliche di

ciascun genotipo sono state allevate in vaso e sottoposte a stress idrico graduale, monitorando il contenuto idrico del suolo con un sensore di umidità. Sono stati valutati diversi parametri fisiologici quali la conduttanza stomatica ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), il contenuto di clorofilla (indice SPAD), la resa quantica del fotosistema II (Fv/Fm) e il potenziale idrico fogliare (MPa). Infine è stata valutata l'espressione genica di un gene candidato, identificato nello studio di GWAS precedentemente riportato, nelle foglie delle viti campionate a diversi livelli di stress. Gli stessi parametri fisiologici sono stati misurati in un secondo esperimento di stress idrico condotto in un sistema idroponico su diverse repliche dei genotipi selezionati. Il deficit idrico è stato simulato aggiungendo glicole polietilenico (PEG) alla soluzione, un polimero che crea un potenziale idrico negativo paragonabile alle condizioni di siccità.

Alcuni risultati relativi a questo lavoro verranno presentati alla XIIth International Conference on Grapevine Breeding and Genetics che si svolgerà a Bordeaux (F) dal 15 al 20 Luglio 2018 con un contributo dal titolo: *Uncover the genetic basis of drought response in grapevine rootstocks* (Trenti et al).

I risultati dei WP sono in linea con quanto atteso e sono stati in parte anticipati e discussi al meeting del progetto VITISMART che si è tenuto a Geilweilerhof (Siebeldingen, Germania) il 22 Novembre 2017. Per impegni sovrapposti, non è stato invece possibile partecipare all'incontro di progetto che si è tenuto a Limassol, Cypro il 4-5 maggio 2018.



10.3 Descrizione delle interazioni tra le UUOO partecipanti, eventuali collaborazioni esterne ed imprese (inserire diagramma)

Nell'ultimo periodo non si sono presentate nuove opportunità di interazione con gli altri partner del progetto ma i lavori sono avanzati come pianificato. Sono invece state stabilite alcune collaborazioni esterne, in particolare con il Dipartimento di Biotecnologie dell'Università di Verona per sviluppare alcuni promettenti approcci sperimentati in questo progetto e con l'Università di Stellenbosch (Sudafrica) di cui riporteremo in seguito.

Lo scorso marzo, con il gruppo di UniVR è stata anche presentata una proposta sul bando 2017 per Progetti di ricerca di rilevante interesse nazionale (PRIN) con l'obiettivo di studiare i meccanismi genetici e fisiologici della risposta resiliente della vite agli stress termici.


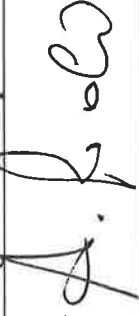
10.4 Ostacoli occorsi ed azioni correttive messe in atto (max 1 pag)

Non sono stati incontrati particolari ostacoli.

Timbro Istituzione	Il responsabile di gestione (o delegato) <i>nome e cognome: Annapaola Rizzoli</i>	Il responsabile scientifico Unità Operativa <i>nome e cognome: Maria Stella Grando</i>
	<i>Firma</i> 	<i>Firma</i> 

2. Rendiconto complessivo di progetto

	Periodo Intermedio X		Finale				Totale (PRIMO+SECONDO ANNO)
	Costo congruo ⁷	Finanziamento ricevuto ⁸	Importo rendicontato				
			UO FEM - I° ANNO (15/05/16-14/05/17)	UO FEM - II° ANNO (15/05/17-14/05/18)	UO 2	UO 3	
Personale a tempo indeterminato							
Ricercatori							
Tecnici							
Pers. Auiliario							
Personale a tempo determinato							
Ricercatori							
Tecnici							
Pers. Ausiliario	2.000,00	65%	1.206,00				1.206,00
Missioni nazionali ed estere	3.000,00	65%	725,93	414,65			1.140,58
B) Subtotale Personale							
C) Materiale di consumo	9.000,00	65%	989,55	2.983,08			3.972,63
D) Attività esterne							
C1 - Consulenze							
C2 - Convenzioni							
C3 - Manutenzioni ecc.							
D) Attrezzature							
E) Spese generali							
F) Cordinamento							
TOTALE	14.000,00	8.147,75	1.715,48	4.603,73			6.319,21

	Il responsabile di gestione o del delegato nome e cognome: Annapaola Rizzoli	Il responsabile scientifico Unità Operativa nome e cognome: Maria Stella Grando
	Firma 	Firma 