

Le TEA come risorsa per aiutare l'agricoltura del domani

35° Forum di Medicina Vegetale
Bari

13 Dicembre 2023

Giulia Ave Bono



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI MILANO



DiSAA
DIPARTIMENTO
di SCIENZE
AGRARIE e
AMBIENTALI

DBS
Dipartimento
di Bioscienze

È necessario continuare a migliorare le nostre piante per rispondere

a:

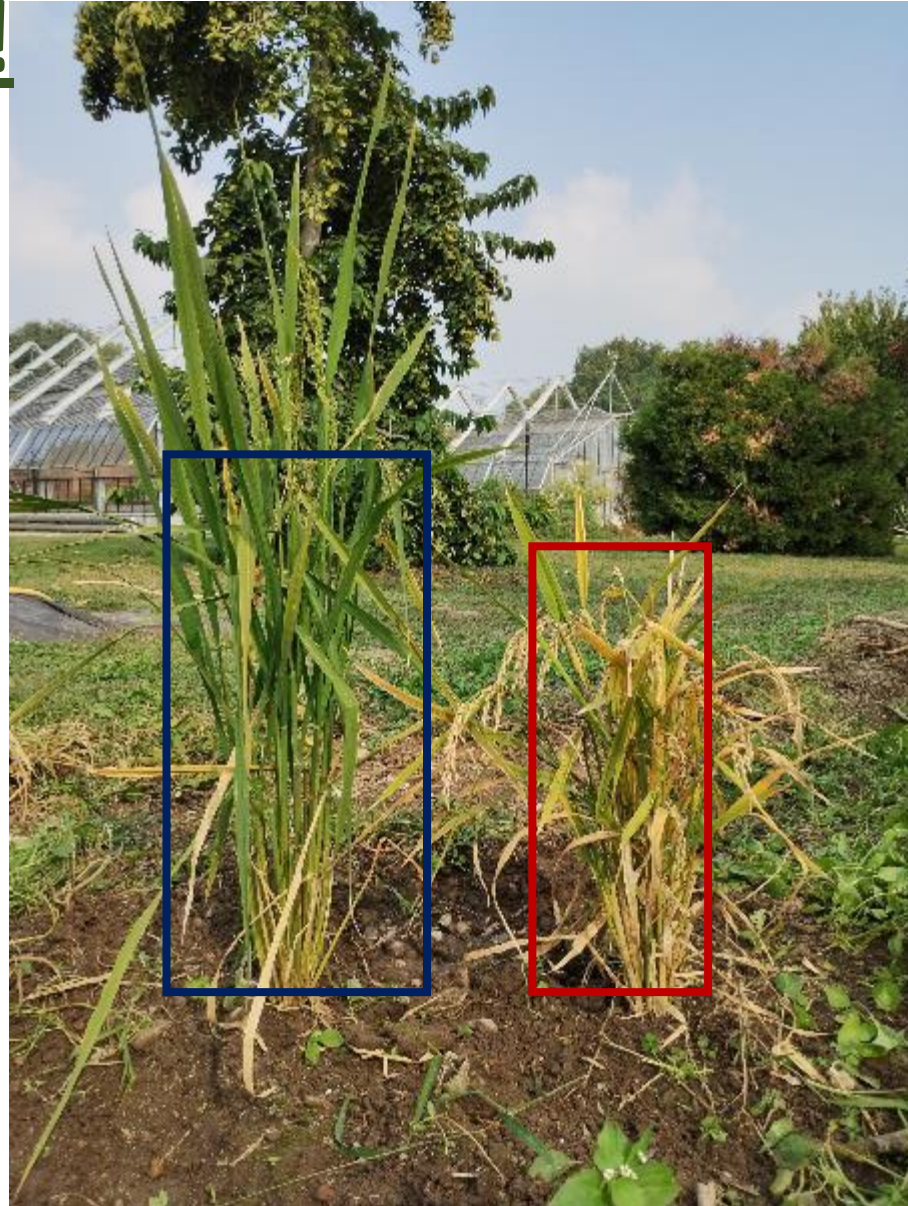
- i cambiamenti climatici
- la siccità
- i parassiti
- la necessità di ridurre gli input
- la richiesta di una maggiore sostenibilità dell'agricoltura

Come miglioriamo le nostre piante?



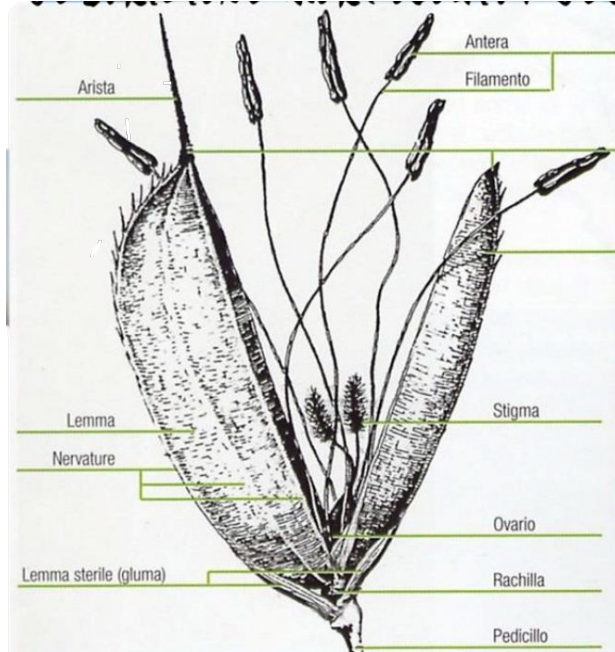
Combiniamo le caratteristiche migliori!

Varietà poco
produttiva
ma resistente
a siccità



Varietà d'élite
ma poco
tollerante alla
siccità

Possiamo incrociare le piante



Federico
Mirone

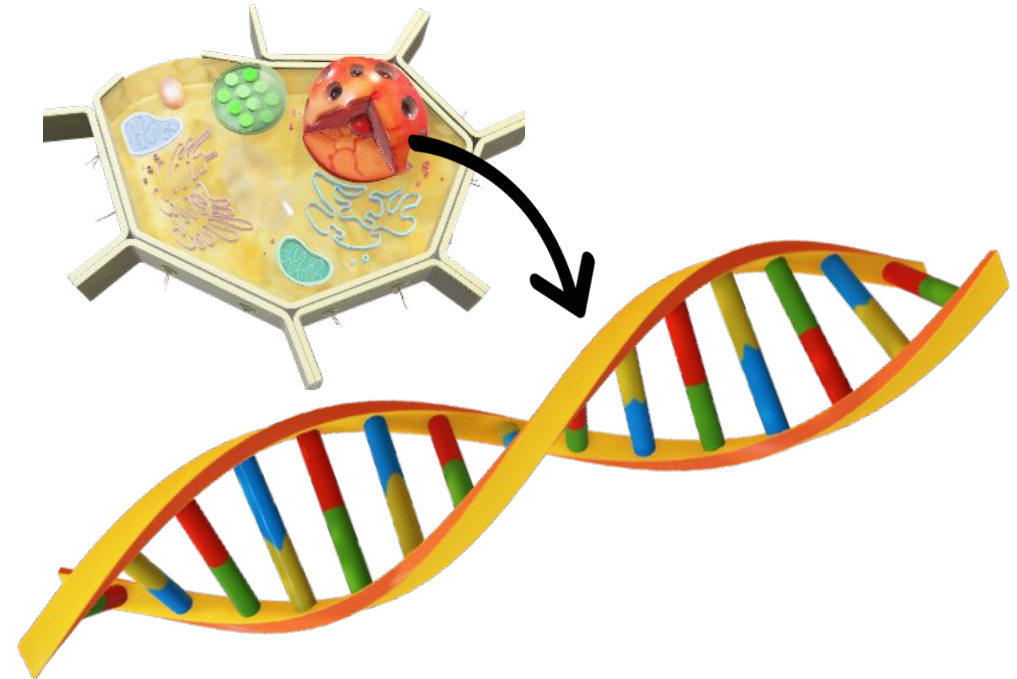


In riso: ci vogliono circa 8 anni per ottenere una nuova varietà per incrocio

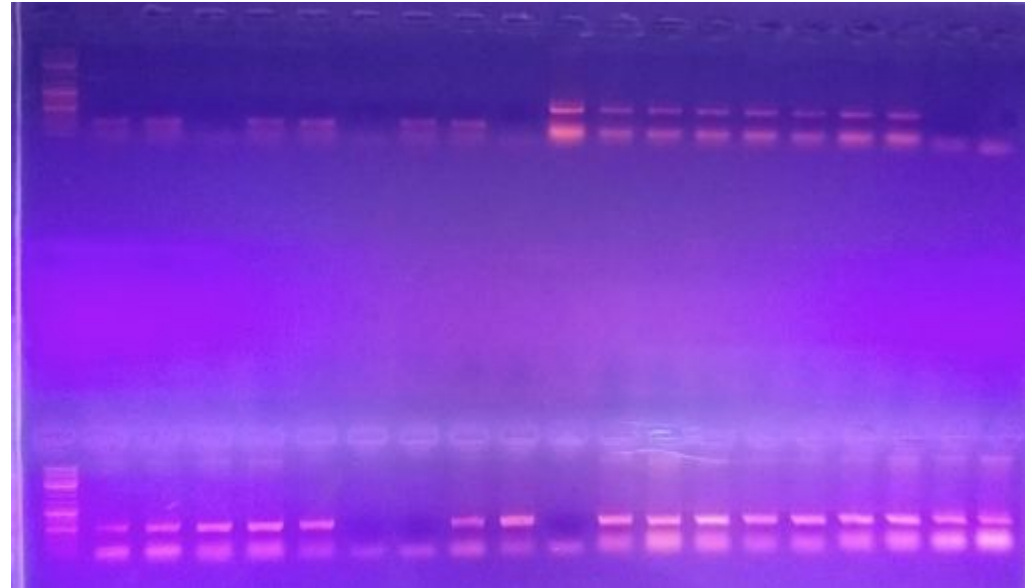
Ma differenze nell'aspetto delle piante...



...corrispondono a
differenze nei loro DNA!

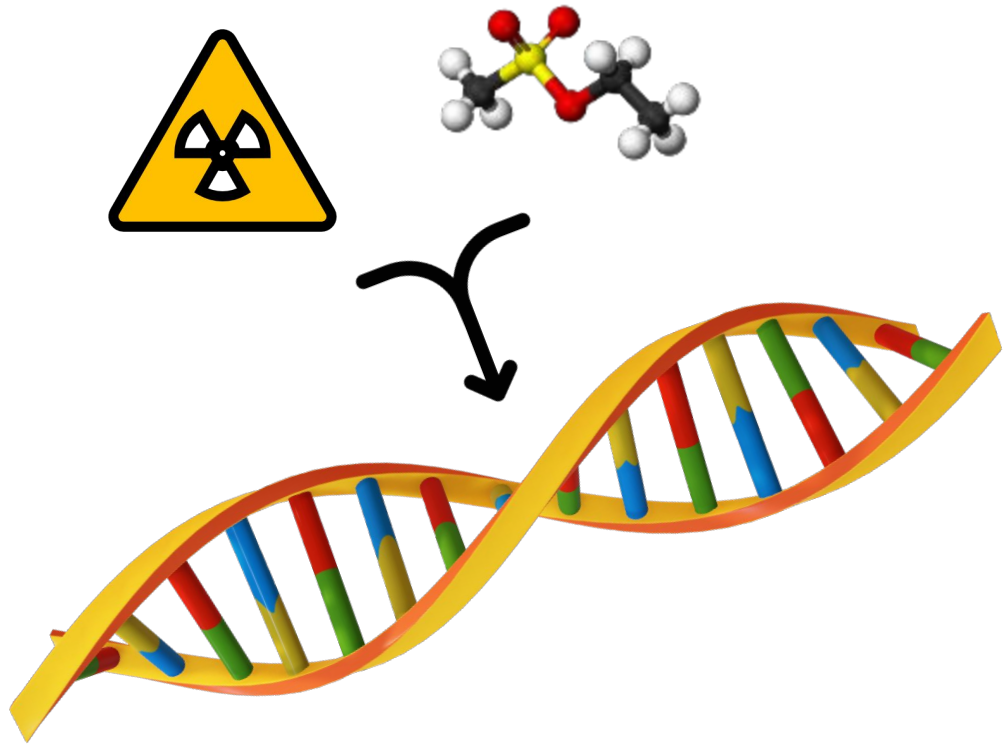


Possiamo selezionare il DNA delle piante figlie derivanti da un incrocio



Grazie ai marcatori molecolari
(Marker Assisted Selection)

Per creare nuovi caratteri si possono anche usare la mutagenesi chimica o fisica



Mutare il DNA
«alla cieca»

TEMPI LUNGHI,
risultati inattesi

Conosciamo quali varianti nel DNA (o mutazioni nei geni) sono alla base del carattere che ci interessa



Grazie a:

1) la conoscenza dei geni

2) le **TEA** -> Tecniche di Evoluzione Assistita

Possiamo riprodurre i risultati degli incroci o della mutazione casuale in una sola generazione



TEMPI BREVISSIMI, grande
precisione

Le TEA hanno avuto crescente importanza negli ultimi anni.

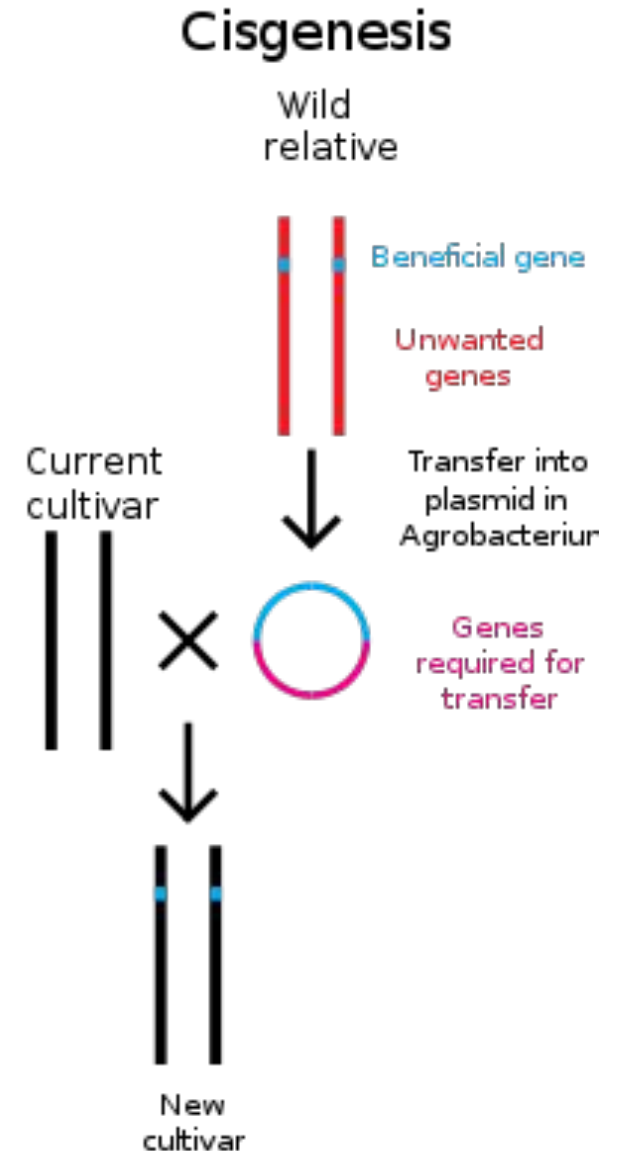
Per TEA intendiamo :

- 1) **Genome Editing**
- 2) **Cisgenesi**

CISGENES



- Aggiunta di un tratto di DNA da una specie sessualmente compatibile.
- È particolarmente utile nelle specie arboree, difficilmente incrociabili.

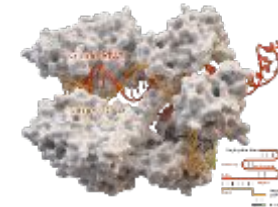
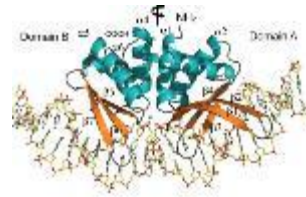


Genome

Editing

- Oligonucleotide Directed Mutagenesis
- Meganucleases
- Zinc Finger Nucleases
- Transcription Activator Like Effector Nucleases (TALEN)
- CRISPR/Cas9

NUCLEAS



CRISPR/Cas9



Premio Nobel per
la Chimica 2020



Emmanuelle
Charpentier



Jennifer
Doudna



Jennifer
Doudna

«CRISPR può aiutare l'umanità,
soprattutto contribuendo a
migliorare l'AGRICOLTURA»



State Key Laboratory of Plant Cell and Chromosome Engineering

Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences

NEWS | SCIENCE |

To feed its 1.4 billion, China bets big on genome editing of crops

Scientists there are forging ahead with CRISPR, even as regulations remain unclear

By ALBERT H. CHANG



Caixia
Gao

With its CRISPR revolution, China becomes a world leader in genome editing

By Jon Cohen, Nirja Desai | Aug. 2, 2019, 8:00 AM

Database di piante migliorate con



European Sustainable Agriculture
Through Genome Editing

HOME ABOUT OUR NETWORK DATABASE NEWS JOIN CONTACT

Peer-reviewed articles were screened for relevance and were included in the database based on pre-defined criteria. The main criterium is that the research article should describe a research study of any crop plant in which a trait has been introduced that is relevant from an agricultural and/or food/feed perspective. The database does neither give information on the stage of development of the crop plant, nor on the existence of the intention to develop the described crop plants to be marketed.

This database will be regularly updated. Please [contact us](#) via the following webpage in case you would like to inform us about a new scientific study of crops developed for market-oriented agricultural production as a result of genome editing

TRAITS CATEGORIES

- Traits related to biotic stress tolerance (40)
- Traits related to abiotic stress tolerance (64)
- Traits related to improved food/feed quality (172)
- Traits related to increased plant yield and growth (177)
- Traits related to industrial utilization (105)
- Traits related to herbicide tolerance (56)
- Traits related to product color/flavour (44)
- Traits related to storage performance (16)

GENOME EDITING TECHNIQUE

- CRISPR/Cas (705)
- TALENs (30)
- BE (25)
- ZFN (7)

Displaying 776 results

Traits related to biotic stress tolerance

Highly significant reduction in susceptibility to fire blight, caused by the bacterium *Erwinia amylovora*. Apple is one of the most cultivated fruit crops throughout the temperate regions of the world.
{ Pompili et al., 2020 }

SDNI
CRISPR/Cas

Università degli Studi di Udine
Fondazione Edmund Mach,
Italy

READ MORE

Viral resistance: Enhanced resistance to sweet potato virus disease (SPVD). SPVD is caused by the co-infection of

SDNI
CRISPR/Cas

Jiangsu Normal University
Jiangsu Academy of
Agricultural Sciences

READ MORE

<https://www.eu-sage.eu/genome-search>

Piante suscettibili a brusone (causata dal patogeno *Magnaporthe oryzae*) possono essere gravemente colpite da questa malattia

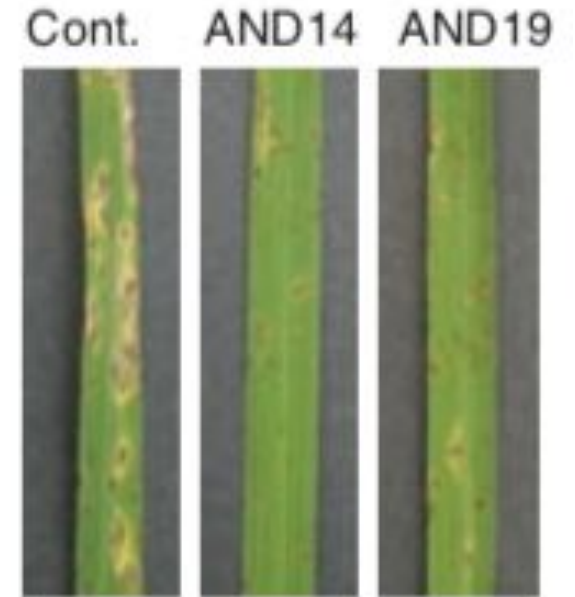


Da molti anni è nota una variante del gene *Pi21* che conferisce resistenza durevole a brusone

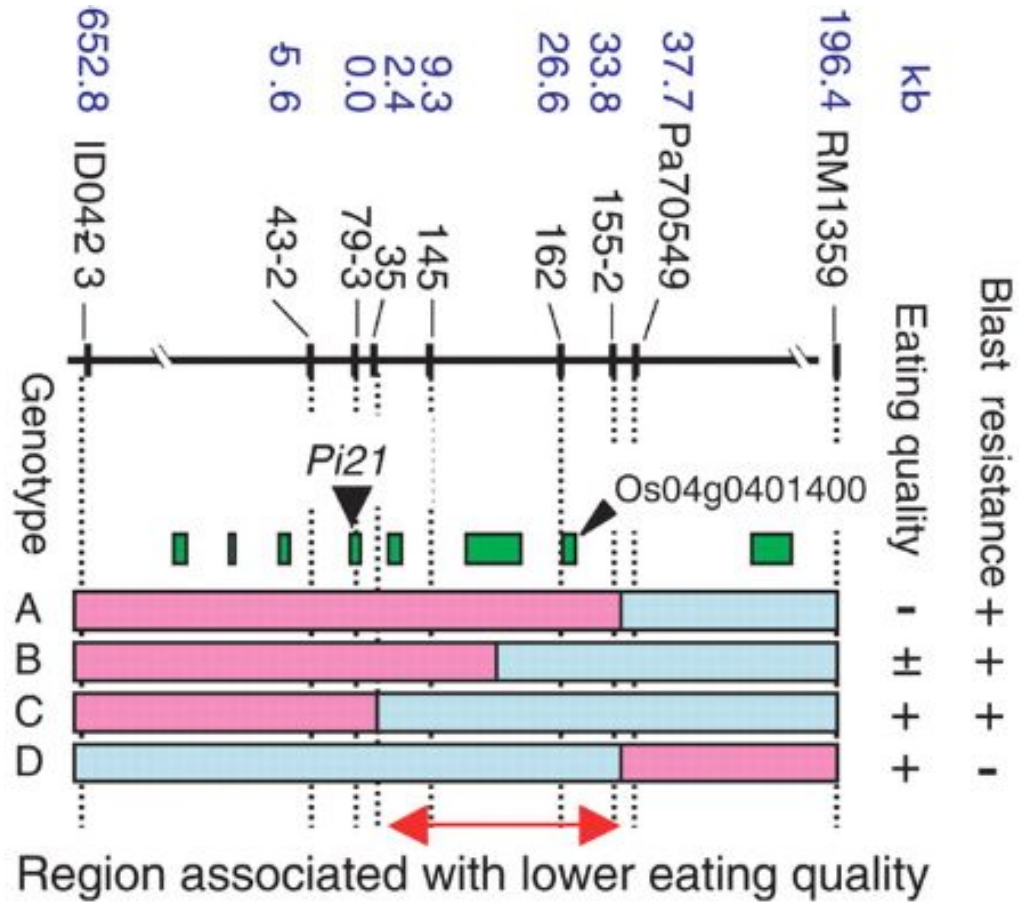
Loss of Function of a Proline-Containing Protein Confers Durable Disease Resistance in Rice

Shuichi Fukuoka,^{1*} Norikuni Saka,² Hironori Koga,³ Kazuko Ono,¹
Takehiko Shimizu,⁴ Kaworu Ebana,¹ Nagao Hayashi,⁵ Akira Takahashi,⁵
Hirohiko Hirochika,⁶ Kazutoshi Okuno,⁷ Masahiro Yano¹

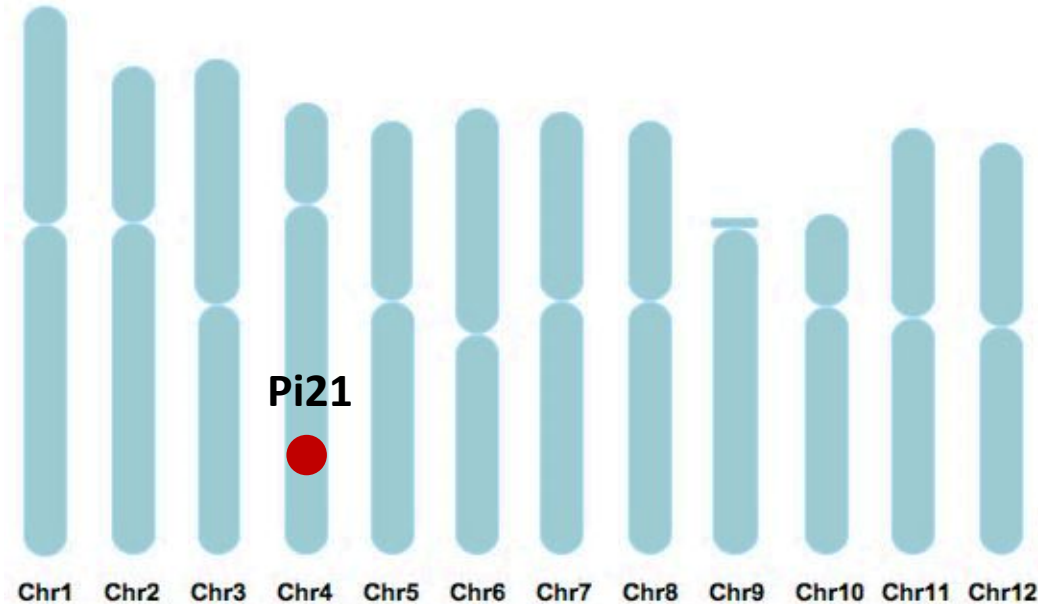
21 AUGUST 2009 VOL 325 SCIENCE www.sciencemag.org



Questa resistenza non è stata usata dai breeders perché associata ad una granella di cattiva qualità



Nel 2017 abbiamo inserito con CRISPR la mutazione in *Pi21* e altri due geni in una varietà tipo Arborio



● Influisce negativamente sulla qualità della granella

SENZA ALTERARE LA QUALITA' DELLA GRANELLA

I SEMI SONO IN FRIGORIFERO DA 6 ANNI



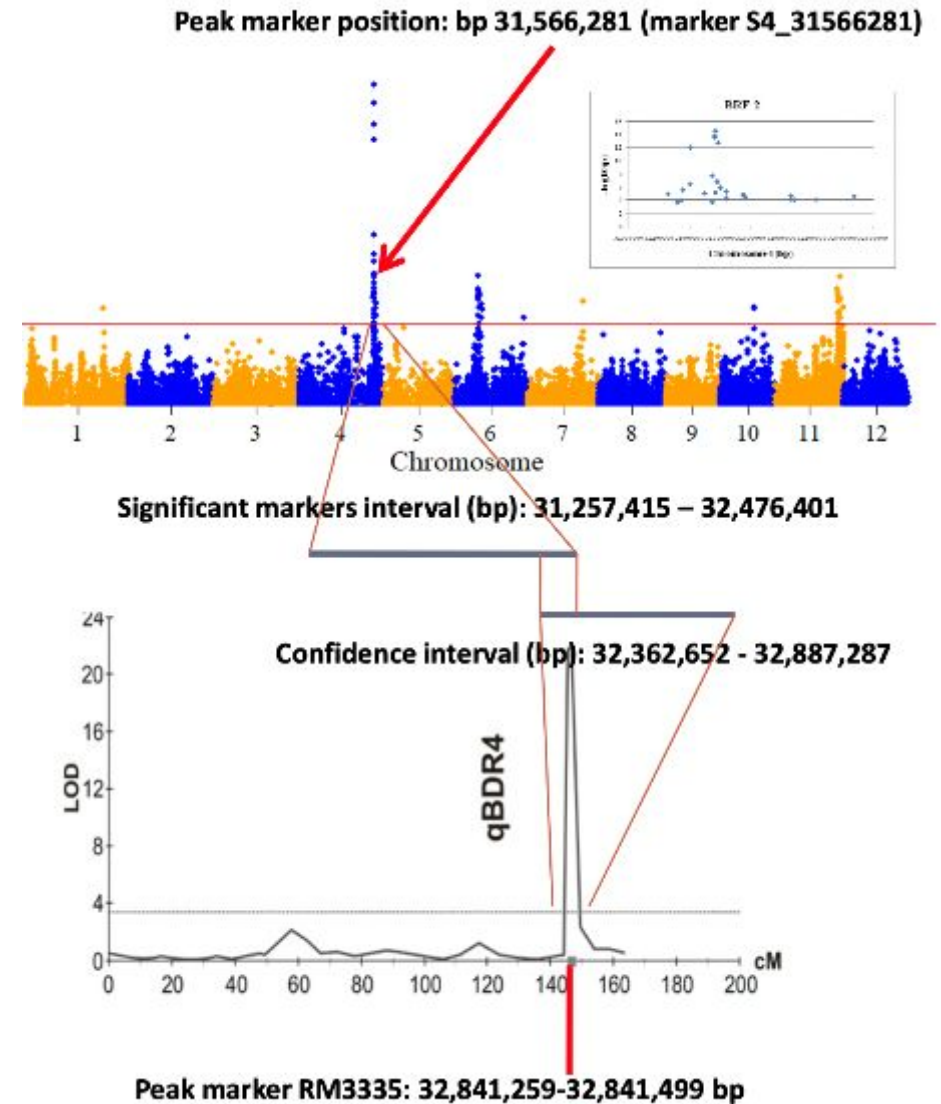
The Sainsbury Laboratory

TSL

Un altro gene probabilmente coinvolto nella resistenza a brusone

Identificato da:

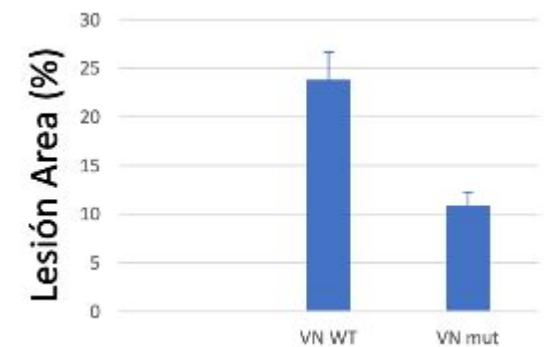
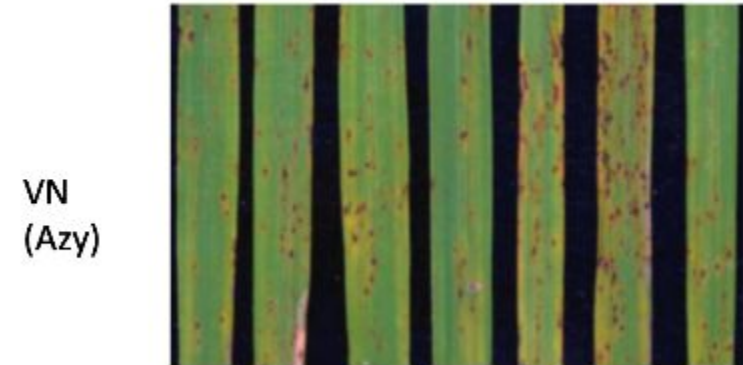
- **Giampiero Valè** - Università del Piemonte Orientale, Vercelli
- **Blanca San Segundo** - CRAG, Barcellona, Spagna



Un altro gene probabilmente coinvolto nella resistenza a brusone

Identificato da:

- **Giampiero Valè** - Università del Piemonte Orientale, Vercelli
- **Blanca San Segundo** - CRAG, Barcellona, Spagna



Resistenza a *Xantomonas oryzae*








ARTICLES

<https://doi.org/10.1038/s41587-019-0267-z>

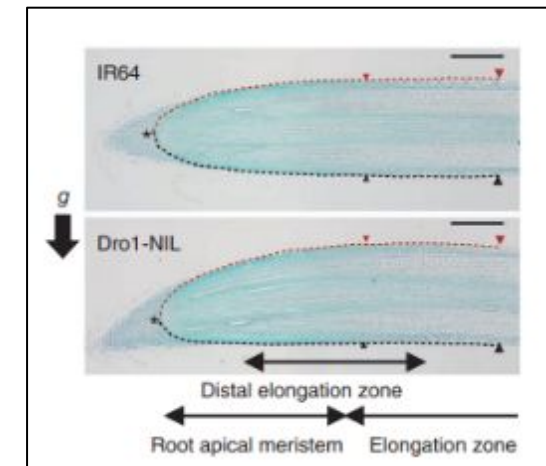
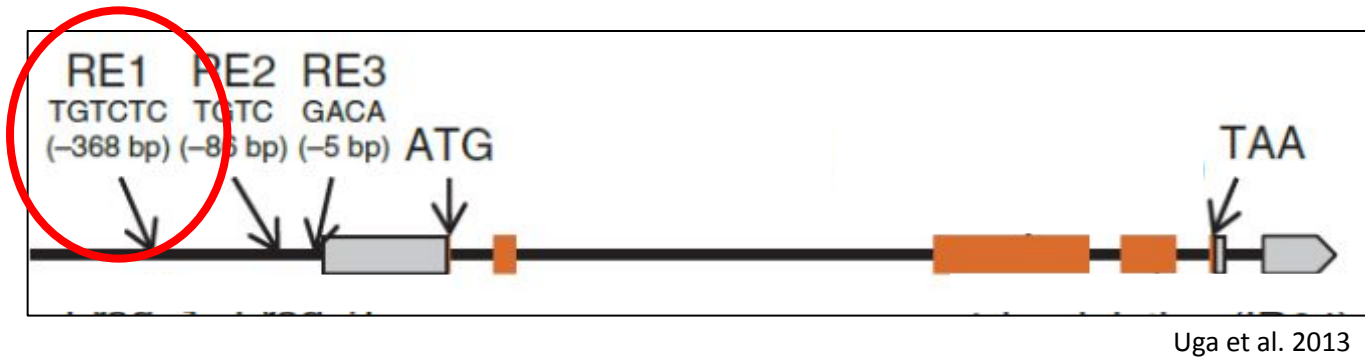
nature
biotechnology

OPEN

Broad-spectrum resistance to bacterial blight in rice using genome editing

Ricardo Oliva ^{1,12*}, Chonghui Ji^{2,12}, Genelou Atienza-Grande^{1,10,12}, José C. Huguet-Tapia^{3,12}, Alvaro Perez-Quintero ^{4,11,12}, Ting Li ⁵, Joon-Seob Eom⁶, Chenhao Li², Hanna Nguyen ¹, Bo Liu², Florence Auguy⁴, Coline Sciallano⁴, Van T. Luu⁶, Gerbert S. Dossa⁷, Sébastien Cunnac⁴, Sarah M. Schmidt⁶, Inez H. Slamet-Loedin¹, Casiana Vera Cruz¹, Boris Szurek⁴, Wolf B. Frommer ^{6,8*}, Frank F. White ³ and Bing Yang ^{2,9*}

Una mutazione nel promotore di *DRO1* migliora la resistenza alla siccità

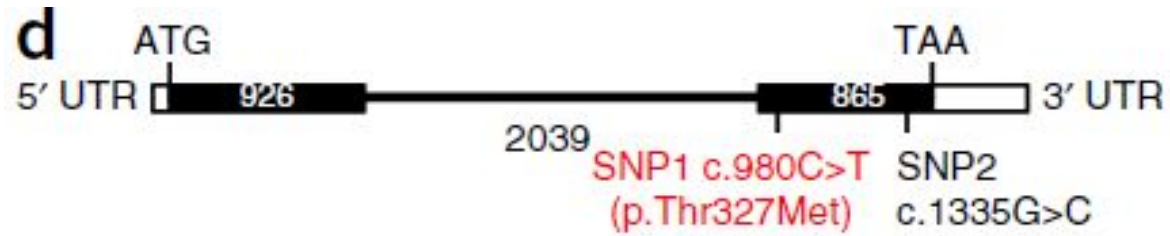


RE1 SITE

```

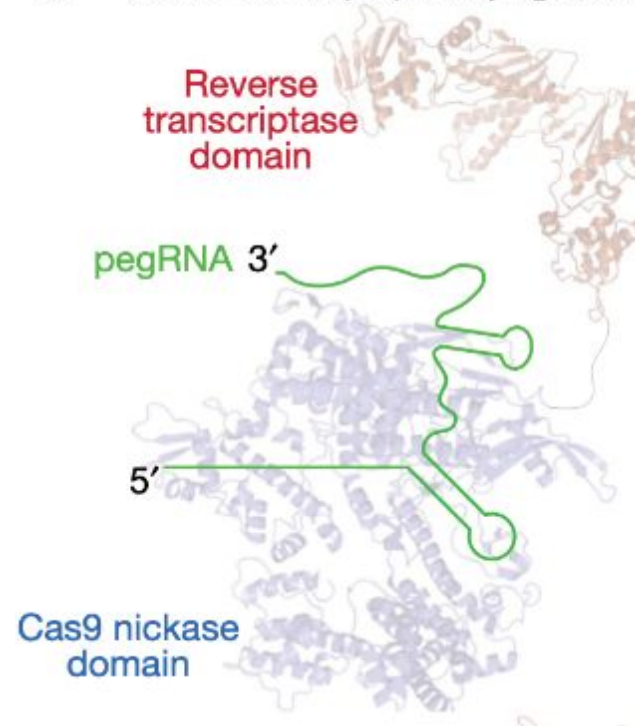
WT >aagaaggatataatcgagatgatgggtttttatcgtaaaacttaatatctctagtaggtgtctcgaaatatcgtac
ALLELE 1_DEL_3BPS >aagaaggatataatcgagatgatgggtttttatcgtaaaacttaatatctctagtagg----tctcgaaatatcgtac
ALLELE 2_DEL_1BP >aagaaggatataatcgagatgatgggtttttatcgtaaaacttaatatctctagtaggt--tctcgaaatatcgtac
    
```

Una mutazione nel gene *NRT1.1b* migliora l'efficienza dell'uso di azoto



Hu et al. 2015

b Prime editor (PE) and pegRNA



Le mutazioni si possono combinare

Resistenza a brusone

Pi21,
PiK...

X

Resistenza a siccità

DRO1

X

Efficienza uso azoto

NRT1.1b

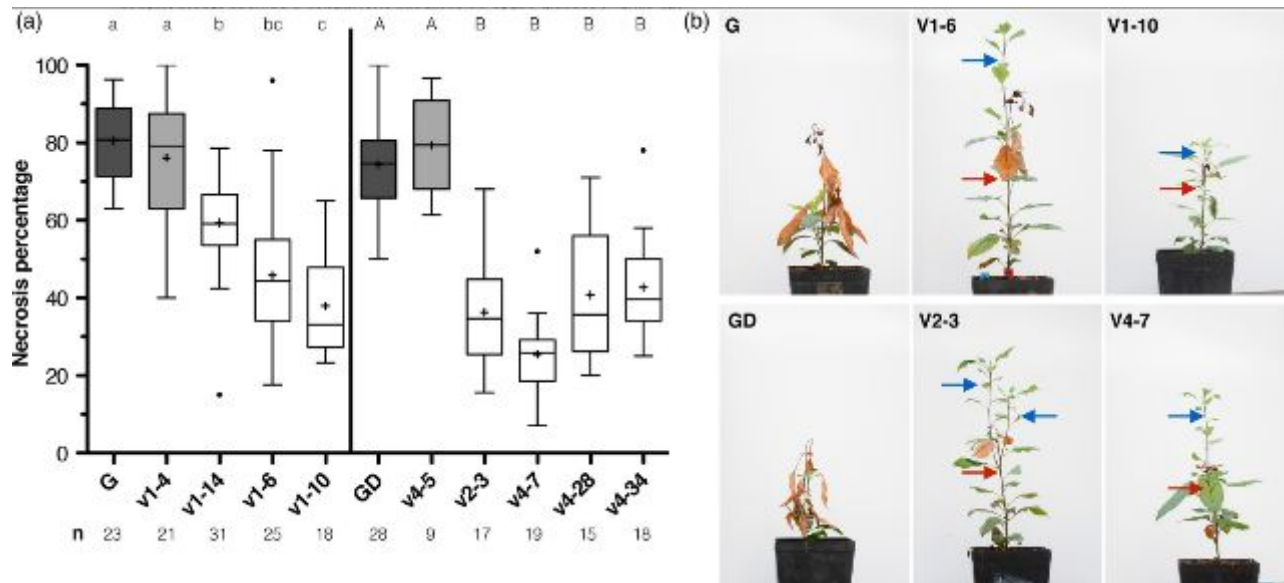


Research Article |  Open Access |  

Reduced fire blight susceptibility in apple cultivars using a high-efficiency CRISPR/Cas9-FLP/FRT-based gene editing system

Valerio Pompili , Lorenza Dalla Costa, Stefano Piazza, Massimo Pindo, Mickael Malnoy 

First published: 08 September 2019 | <https://doi.org/10.1111/pbi.13253> | Citations: 74



Riduzione in suscettibilità alla malattia del colpo di fuoco batterico, causato da *Erwinia amylovora*.

Engineering null mutants in *ZmFER1* confers resistance to ear rot caused by *Fusarium verticillioides* in maize

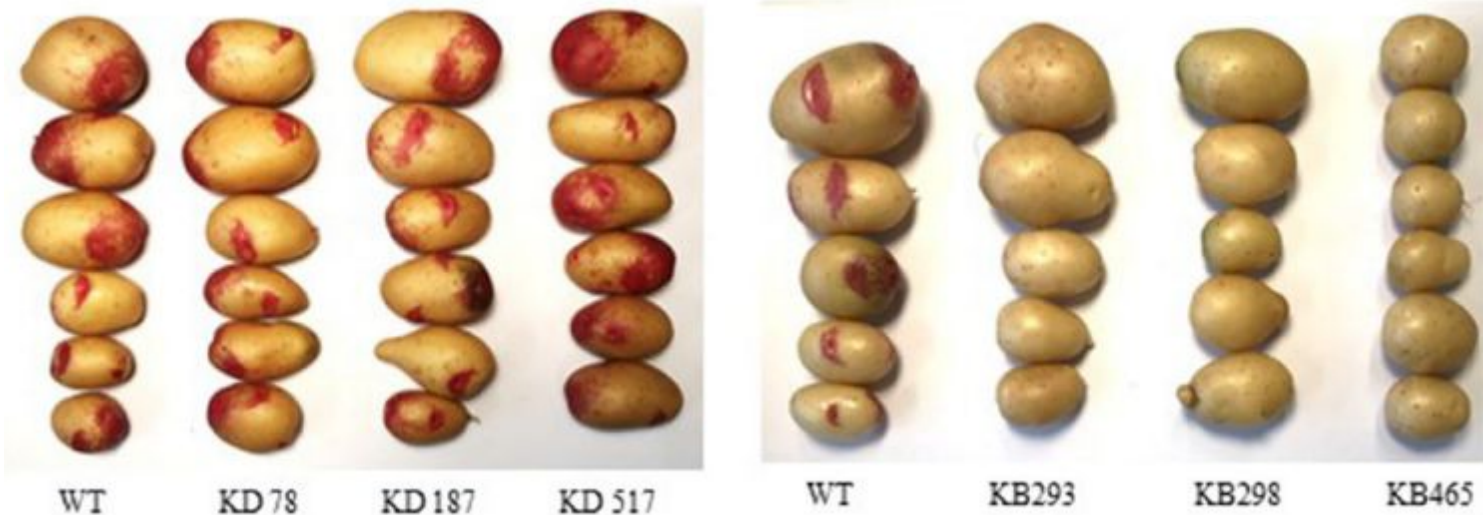
Changlin Liu , Ming Kong, Jinjie Zhu, Xiantao Qi, Canxing Duan, Chuanxiao Xie 



La generazione di mutazioni knock-out nel gene *ZmFER1* produce resistenza in mais alla fusariosi della spiga, causata dal fungo *Fusarium verticillioides*.

Mutations introduced in susceptibility genes through CRISPR/Cas9 genome editing confer increased late blight resistance in potatoes

Nam Phuong Kieu¹, Marit Lenman¹, Eu Sheng Wang¹, Bent Larsen Petersen² & Erik Andreasson¹✉



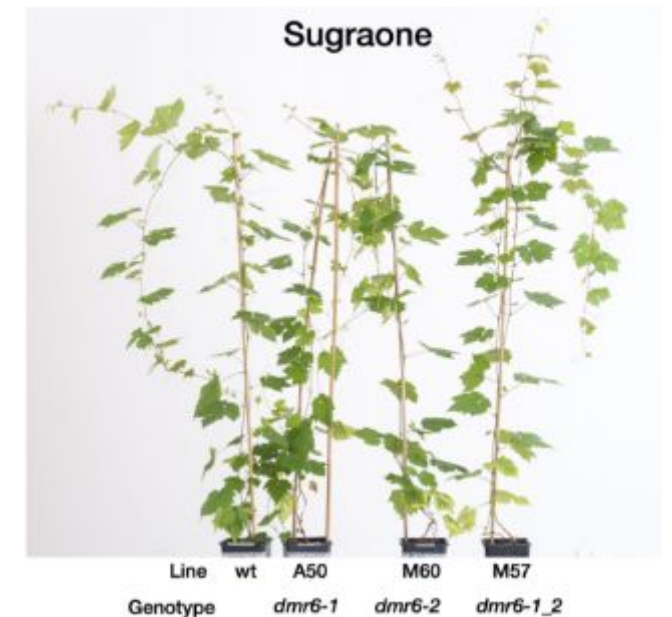
Aumentata resistenza a *Phytophthora infestans*, un fungo che causa la peronospora della patata. Questo fungo può infettare le foglie, i fusti e i tuberi della pianta della patata. Un campo non trattato può essere distrutto in pochi giorni.

Simultaneous editing of two *DMR6* genes in grapevine results in reduced susceptibility to downy mildew

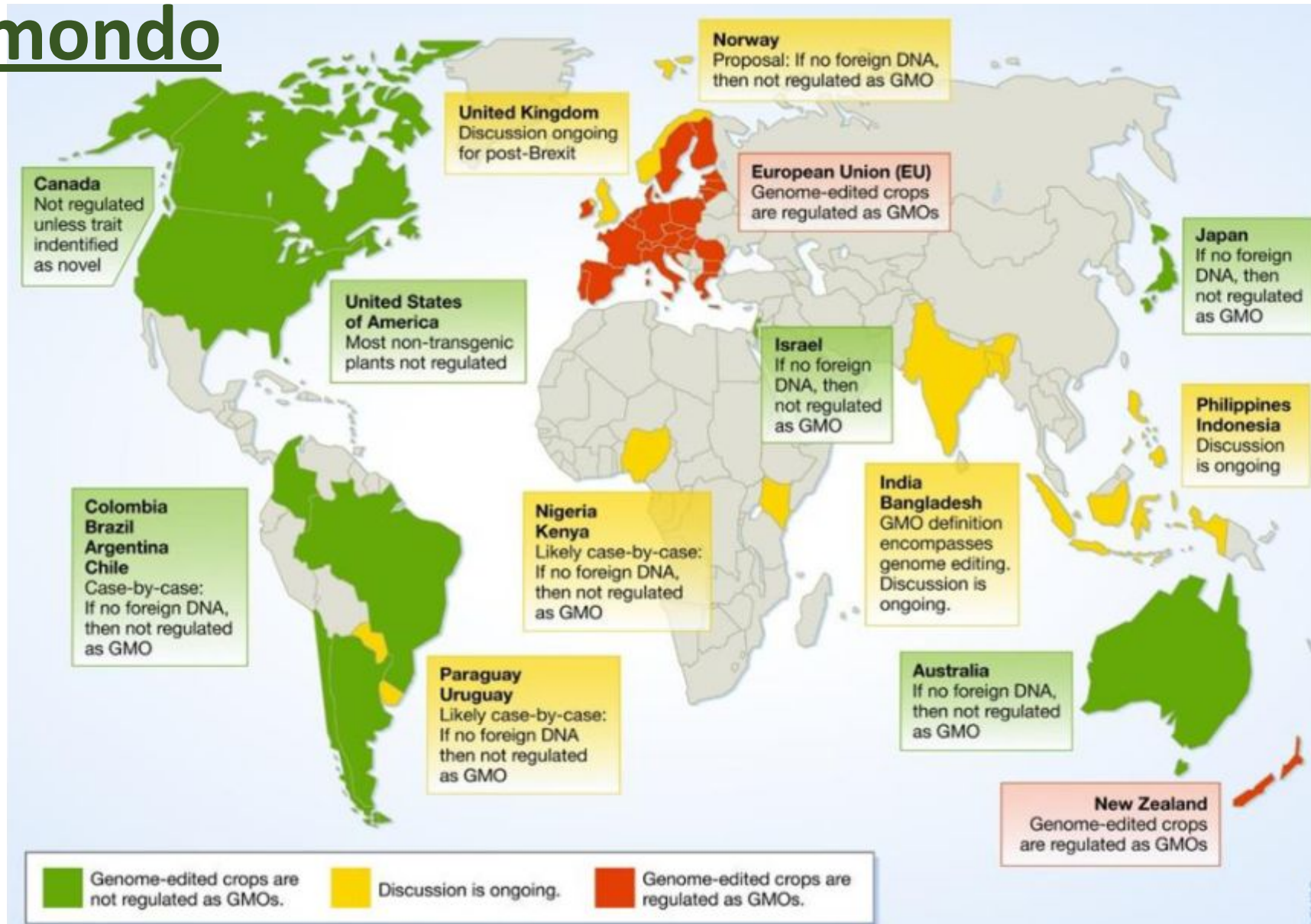
Lisa Giacomelli^{1*}, Tieme Zeilmaker², Oscar Giovannini¹,
Umberto Salvagnin^{1†}, Domenico Masuero¹, Pietro Franceschi¹,
Urska Vrhovsek¹, Simone Scintilla^{1†},
Jeroen Rouppe van der Voort² and Claudio Moser¹

¹Research and Innovation Centre, Fondazione Edmund Mach, San Michele all'Adige, Italy, ²Enza Zaden Research & Development B.V., Enkhuizen, Netherlands

L'editing di due geni *DMR6* in vite porta ad una riduzione in suscettibilità alla peronospora della vite, causata da *Plasmopara viticola*.



Legislazione TEA in agricoltura nel mondo



Moving towards precision breeding: UK enables plant breeding innovation

March 24, 2023



Parliamentary Bills

[UK Parliament](#) > [Business](#) > [Legislation](#) > [Parliamentary Bills](#) > Genetic Technology (Precision Breeding) Act 2023

Genetic Technology (Precision Breeding) Act 2023

Government Bill

Originated in the House of Commons, Session 2022-23

Last updated: 27 March 2023 at 17:17

Situazione legislativa in Europa

SENTENZA della Corte di Giustizia del 25 luglio 2018: Piante TEA = OGM



Reports of Cases

JUDGMENT OF THE COURT (Grand Chamber)

25 July 2018*

(Reference for a preliminary ruling — Deliberate release of genetically modified organisms into the environment — Mutagenesis — Directive 2001/18/EC — Articles 2 and 3 — Annexes I A and I B — Concept of ‘genetically modified organism’ — Techniques/methods of genetic modification conventionally used and deemed to be safe — New techniques/methods of mutagenesis — Risks for human health and the environment — Discretion of the Member States when transposing the directive — Directive 2002/53/EC — Common catalogue of varieties of agricultural plant species — Herbicide-tolerant plant varieties — Article 4 — Acceptability of genetically modified varieties obtained by mutagenesis for inclusion in the common catalogue — Human health and environmental protection requirement — Exemption)

In Case C-528/16,

La definizione di OGM (dir. 2001/18/CE)

Definizione

- «**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.

Una modificazione genetica è ottenuta **almeno mediante l'impiego di:**

- 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;
- 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;
- 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 sono considerate **tecniche che hanno per effetto una modificazione genetica:**

- fecondazione in vitro;
- processi naturali (la coniugazione, la trasduzione e la trasformazione);
- induzione della poliploidia.

La definizione di OGM (dir. 2001/18/CE)

Deroghe

La direttiva **non** si applica agli organismi ottenuti con le tecniche di:

- Mutagenesi (chimica e fisica);
- Fusione cellulare (inclusa la fusione di protoplasti) di cellule vegetali di organismi che possono scambiare materiale genetico anche con metodi di riproduzione tradizionali.

Brussels, 24 October 2019
(OR. en)

12781/19

AGRI 479
AGRILEG 167
ENV 825

Article 1

The Council requests the Commission to submit, by 30 April 2021, a study in light of the Court of Justice's judgment in Case C-528/16 regarding the status of novel genomic techniques under Union law.

LEGISLATIVE ACTS AND OTHER INSTRUMENTS

Subject: COUNCIL DECISION requesting the Commission to submit a study in light of the Court of Justice's judgment in Case C-528/16 regarding the status of novel genomic techniques under Union law, and a proposal, if appropriate in view of the outcomes of the study

14.11.2019

IT

Gazzetta ufficiale dell'Unione europea

L 293/103

DECISIONE (UE) 2019/1904 DEL CONSIGLIO

dell'8 novembre 2019

che invita la Commissione a presentare uno studio alla luce della sentenza della Corte di giustizia nella causa C-528/16 concernente lo statuto delle nuove tecniche genomiche conformemente al diritto dell'Unione e una proposta, se del caso tenendo conto dei risultati dello studio



Regione Lombardia

LA GIUNTA

DELIBERAZIONE N° XI / 7526

Seduta del 15/12/2022

Presidente

ATTILIO FONTANA

Assessori regionali

FABRIZIO SALA *Vicepresidente*
GUIDO BERTOLASO
STEFANO BOLOGNINI
DAVIDE CARLO CAPARINI
RAFFAELE CATTANEO
MELANIA DE NICHILLO RIZZOLI
PIETRO FORONI
STEFANO BRUNO GALLI

GUIDO GUIDESI
ROMANO MARIA LA RUSSA
ELENA LUCCHINI
LARA MAGONI
ALAN CHRISTIAN RIZZI
FABIO ROLFI
MASSIMO SERTORI
CLAUDIA MARIA TERZI

Con l'assistenza del Segretario Enrico Gasparini

Su proposta dell'Assessore Fabio Rolfi

Oggetto

DETERMINAZIONI IN ORDINE ALLA SPERIMENTAZIONE IN CAMPO APERTO DI NUOVE VARIETA' VEGETALI D'INTERESSE AGRARIO OTTENUTE CON NUOVE TECNICHE GENETICHE (NGT)

LEGGI ED ALTRI ATTI NORMATIVI

DECRETO-LEGGE 14 aprile 2023, n. 39.

Disposizioni urgenti per il contrasto della scarsità idrica e per il potenziamento e l'adeguamento delle infrastrutture idriche.

Testo in vigore dal: 14-6-2023

[aggiornamenti all'articolo](#)

Art. 9-bis

((Disposizioni urgenti in materia di genetica agraria).))

((1. Per consentire lo svolgimento delle attività di ricerca presso siti sperimentali autorizzati, a sostegno di produzioni vegetali in grado di rispondere in maniera adeguata a condizioni di scarsità idrica e in presenza di stress ambientali e biotici di particolare intensità, nelle more dell'adozione, da parte dell'Unione europea, di una disciplina organica in materia, l'autorizzazione all'emissione deliberata nell'ambiente di organismi prodotti con tecniche di editing genomico mediante mutagenesi sito-diretta o di cisgenesi a fini sperimentali e scientifici è soggetta, fino al 31 dicembre 2024, alle disposizioni di cui al presente articolo.

Proposta della Commissione Europea per una normativa

TEA differente da OGM



Brussels, 5.7.2023
COM(2023) 411 final

2023/0226 (COD)

Proposal for a

REGULATION OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL

**on plants obtained by certain new genomic techniques and their food and feed, and
amending Regulation (EU) 2017/625**

(Text with EEA relevance)

{SEC(2023) 411 final} - {SWD(2023) 411 final} - {SWD(2023) 412 final} -
{SWD(2023) 413 final}

La definizione di pianta TEA -COM (2023)411final-

Le **piante TEA** sono piante ottenute tramite *genome editing* o *cisgenesis*, o una combinazione delle due, con la condizione che non contengano materiale genetico originato dall'esterno, che temporaneamente possa essere stato introdotto per generare la pianta TEA stessa.

Le due categorie di piante TEA (NGT plants)

- **Categoria 1 NGT** -> piante TEA che presentino:
 - Sostituzioni o inserzioni di non più di 20 basi
 - Delezioni di un qualsiasi numero di basi
 - Inversione di una sequenza di un qualsiasi numero di nucleotidi
 - Qualsiasi altra modifica di ogni dimensione, con la condizione che le risultanti sequenze di DNA possano verificarsi già in una specie dal pool genetico dei breeders.
- **Categoria 2 NGT** -> piante TEA escluse dalla categoria 1 NGT

ANNEX III

Traits referred to in Article 22

Part 1

Traits justifying the incentives referred to in Article 22:

- (1) yield, including yield stability and yield under low-input conditions;
- (2) tolerance/resistance to biotic stresses, including plant diseases caused by nematodes, fungi, bacteria, viruses and other pests;
- (3) tolerance/resistance to abiotic stresses, including those created or exacerbated by climate change;
- (4) more efficient use of resources, such as water and nutrients;
- (5) characteristics that enhance the sustainability of storage, processing and distribution;
- (6) improved quality or nutritional characteristics;
- (7) reduced need for external inputs, such as plant protection products and fertilisers.

Part 2

Traits excluding the application of the incentives referred to in Article 22: tolerance to herbicides.

Lollobrigida: "Salvare l'agricoltura con la tecnologia, l'Italia sarà la prima"

di Lara Loreti



▲ L'agricoltura può salvarsi solo con la tecnologia

Contro la crisi climatica, il ministro spinge sugli investimenti nelle Tecniche di evoluzione assistita, grazie alle quali si può migliorare la salute delle colture: "Le esploreremo in maniera ampia"



COLDIRETTI



AGRICOLTORI ITALIANI

Grazie a tutti per l'attenzione!

Un ringraziamento particolare a:

ARPTRA, per l'invito
Vittoria Brambilla, PhD
Prof. Fabio Fornara



**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI MILANO**



SHARE

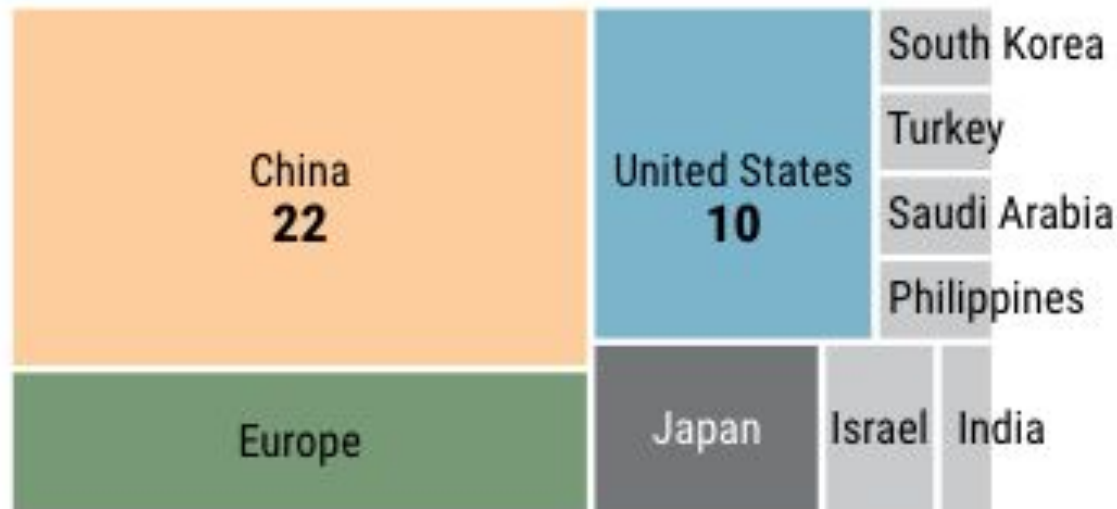
With its CRISPR revolution, China becomes a world leader in genome editing



By [Jon Cohen](#), [Nirja Desai](#) | Aug. 2, 2019 , 8:00 AM

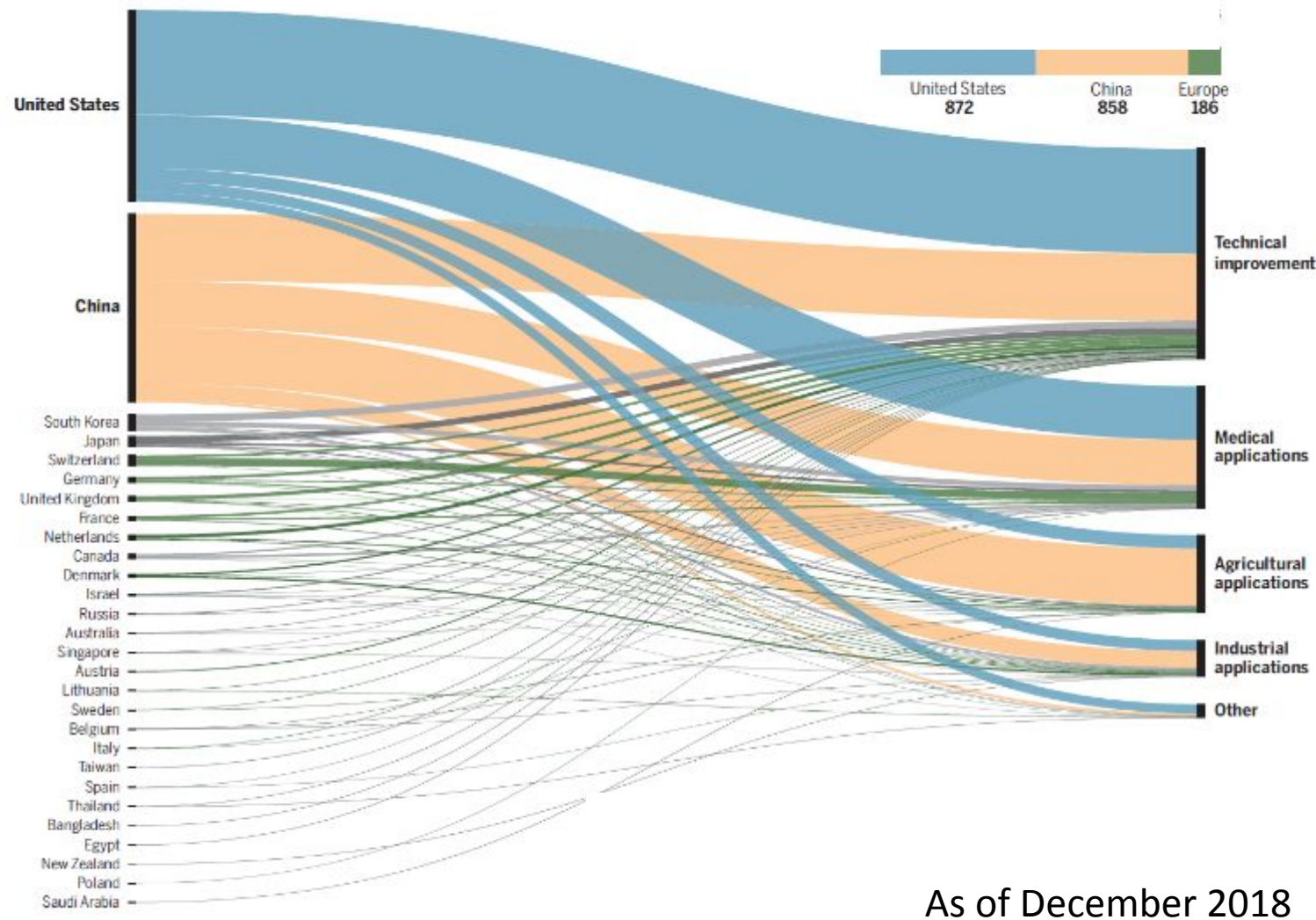
Planting a flag

Among 52 CRISPR publications on improving traits in agricultural crops, published between 2014 and 2017, China accounted for 42% of them.



La maggior parte dei brevetti pubblici basati su CRISPR sono stati depositati in Cina

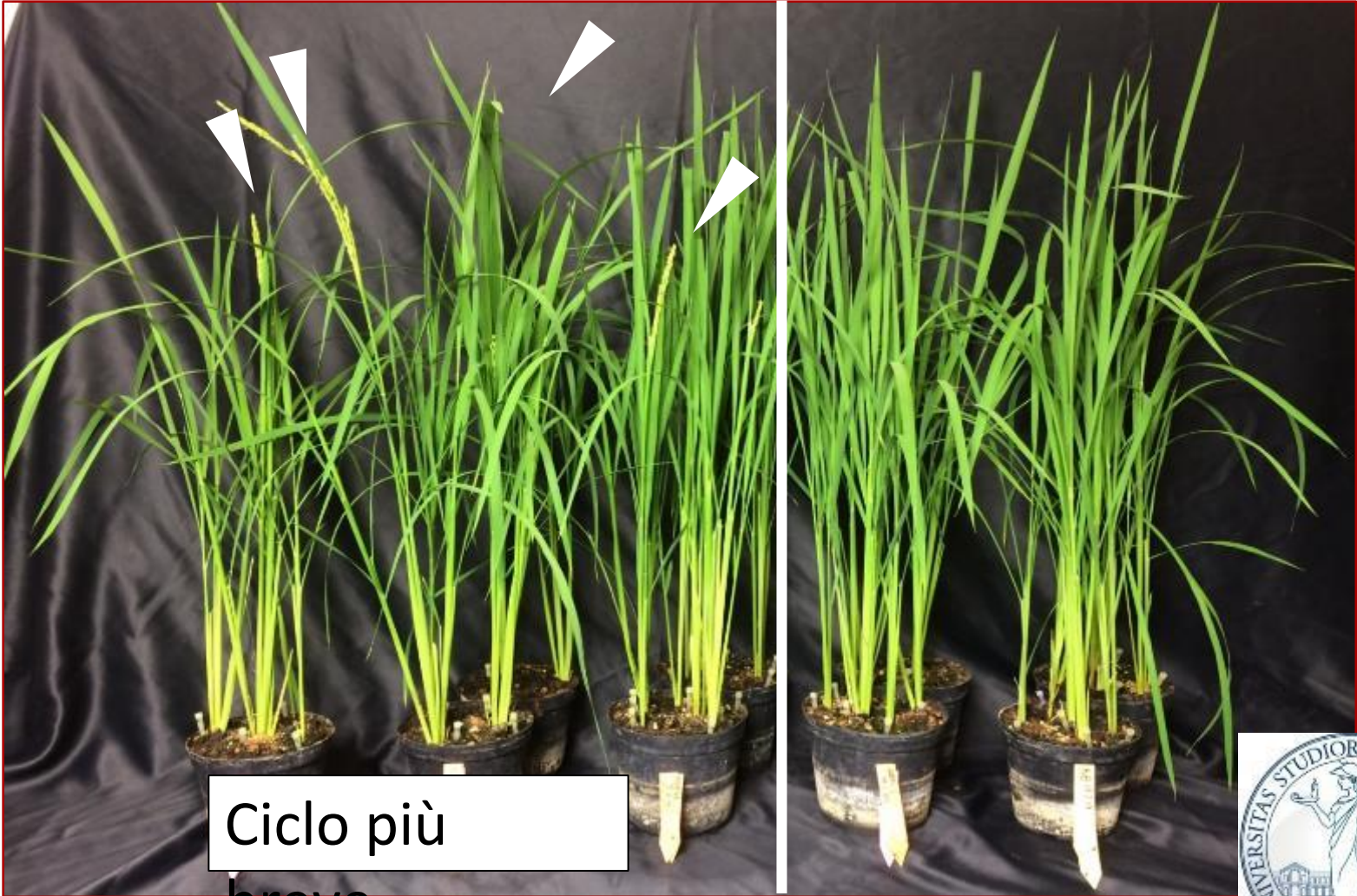
La maggior parte dei brevetti pubblici basati su CRISPR depositati in Cina hanno applicazioni in agricoltura



Nel 2013 studiavamo la fioritura in riso e abbiamo mutato due geni

Mutanti CRISPR
nei geni *hfb1* *hfb2*

Controllo



Ciclo più

breve

Brambilla et al., the Plant Cell 2017



La taglia delle piante è controllata da un gene che serve a produrre gli ormoni della crescita gibberelline

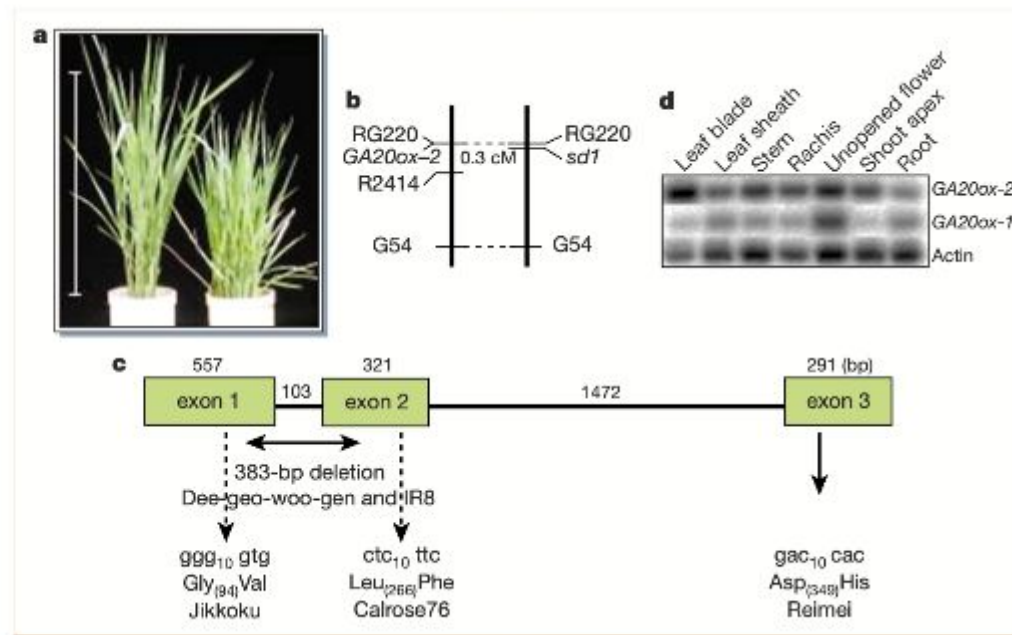
brief communications

A mutant gibberellin-synthesis gene in rice

New insight into the rice variant that helped to avert famine over thirty years ago.

The chronic food shortage that was feared after the rapid expansion of the world population in the 1960s was averted largely by the development of a high-yielding semi-dwarf variety of rice known as IR8, the so-called rice 'green revolution'¹⁻³. The short stature of IR8 is due to a mutation in the plant's *sd1* gene, and here we identify this gene as encoding an oxidase enzyme involved in the biosynthesis of gibberellin, a plant growth hormone. Gibberellin is also implicated in green-revolution varieties of wheat, but the reduced height of those crops is conferred by defects in the hormone's signalling pathway⁴.

There are various reasons for the dwarf phenotype in plants, but gibberellin (GA) is one of the most important determinants of plant height⁵⁻⁷. To investigate whether the *sd1* gene in semi-dwarf rice (Fig. 1a) could



Si può facilmente ridurre la taglia di varietà troppo alte



Una singola mutazione nel gene *SPL14* origina piante con meno culmi, culmi più spessi e pannocchie con più semi

LETTERS

nature
genetics

Regulation of *OsSPL14* by *OsmiR156* defines ideal plant architecture in rice

Yongqing Jiao^{1,4}, Yonghong Wang^{1,4}, Dawei Xue^{2,4}, Jing Wang¹, Meixian Yan², Guifu Liu¹, Guojun Dong², Dali Zeng², Zefu Lu¹, Xudong Zhu², Qian Qian² & Jiayang Li¹

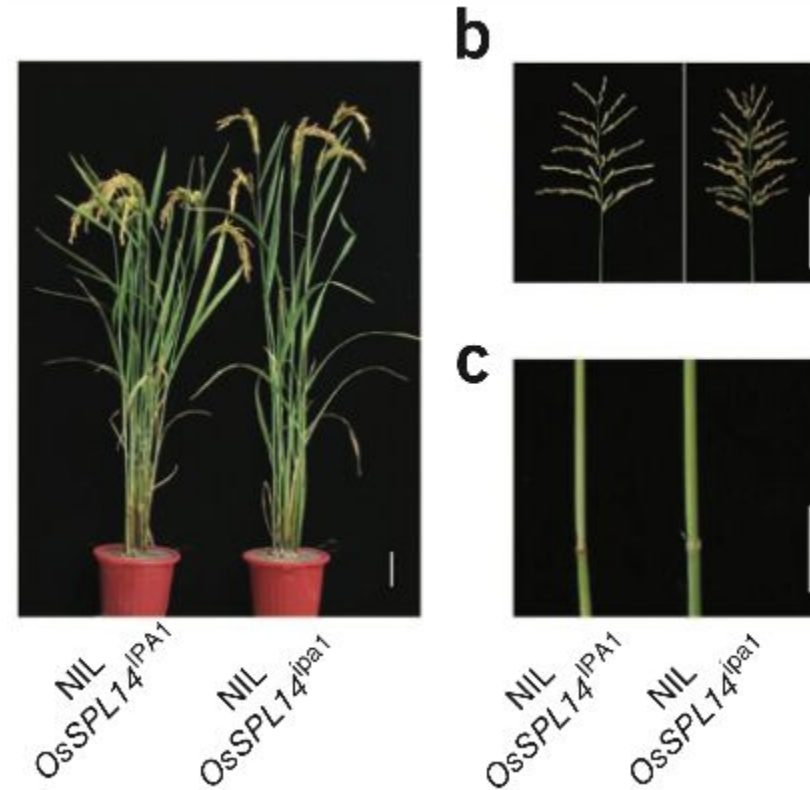
Increasing crop yield is a major challenge for modern agriculture. The development of new plant types, which is known as ideal plant architecture (IPA), has been proposed as a means to enhance rice yield potential over that of existing high-yield varieties^{1,2}. Here, we report the cloning and characterization of a semidominant quantitative trait locus, *IPA1* (*Ideal Plant Architecture 1*), which profoundly changes rice plant architecture and substantially enhances rice grain yield. The *IPA1* quantitative trait locus encodes *OsSPL14* (SOLANOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE 14) and is regulated by microRNA (miRNA) *OsmiR156* *in vivo*. We demonstrate that a point mutation in *OsSPL14* perturbs *OsmiR156*-directed regulation of *OsSPL14*, generating an 'ideal' rice plant with a reduced tiller number, increased lodging resistance and enhanced grain yield. Our study suggests that *OsSPL14* may help improve rice grain yield by facilitating the breeding of new elite rice varieties.

Rice plant architecture is crucial for grain yield and is determined by plant height, tiller number and angle, and panicle morphology. The important characteristics of the ideal plant architecture (IPA) include low tiller numbers with few unproductive tillers, more grains per panicle than the currently cultivated varieties, and thick and

heterozygous plants (*OsSPL14*^{IPA1/PA2}) was intermediate between those of the homozygous plants *OsSPL14*^{PA2/PA2} and *OsSPL14*^{ipa1/ipa1} (Supplementary Fig. 1).

For the convenience of scoring the phenotype, we chose tiller number as the trait to use in mapping the *IPA1* locus. Using 110 BC₂F₂ plant lines generated from the backcross between SN1 and TN1, we detected the largest-effect quantitative trait locus (QTL), which explained 29.9% of tiller number variance, at qTn8. qTn8 was mapped to the long arm of chromosome 8 between markers RM149 and RM1345 (Fig. 1b,c), which is most likely the same locus as that of a previously reported QTL that defines rice tiller number^{3,4}. To clone the gene underlying the *IPA1* locus, 5,300 BC₂F₂ plants that had similar tiller numbers to TN1 were identified and genotyped with newly developed molecular markers (Supplementary Table 1).

We narrowed the candidate region containing the *IPA1* locus to ~78 kb between markers M4 and M5 (Fig. 1d), which contains 12 predicted genes or ORFs (Fig. 1e and Supplementary Table 2; see URLs). Sequencing of the 12 genes in SN1 showed only one point mutation in the third exon of *OsSPL14* (LOC_Os08g39890; RAP1D-Os08g0509600) compared to the Nipponbare variety of rice. This nucleotide substitution leads to an amino acid change from leucine to isoleucine in SN1 plants (Fig. 1f and Supplementary Fig. 2). In addition, R122, a japonica line showing similar plant architecture to SN1, was also found to harbor



Piante con il GS5 più funzionale hanno granella più grande e una maggiore resa

LETTERS

nature
genetics

Natural variation in GS5 plays an important role in regulating grain size and yield in rice

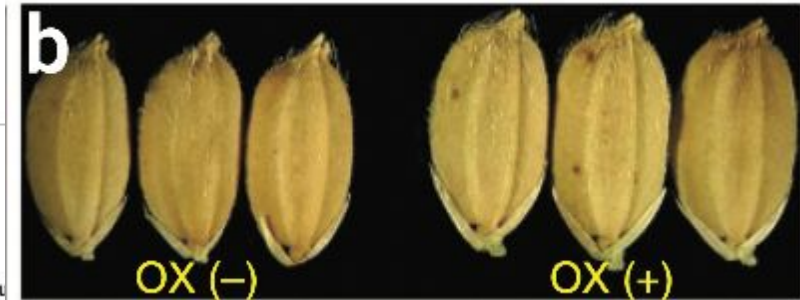
Yibo Li, Chuchuan Fan, Yongzhong Xing, Yunhe Jiang, Lijun Luo, Liang Sun, Di Shao, Chunjue Xu, Xianghu Jinghua Xiao, Yuqing He & Qifa Zhang

Increasing crop yield is one of the most important goals of plant science research. Grain size is a major determinant of grain yield in cereals and is a target trait for both domestication and artificial breeding¹. We showed that the quantitative trait locus (QTL) GS5 in rice controls grain size by regulating grain width, filling and weight. GS5 encodes a putative serine carboxypeptidase and functions as a positive regulator of grain size, such that higher expression of GS5 is correlated with larger grain size. Sequencing of the promoter region in 51 rice accessions from a wide geographic range identified three haplotypes that seem to be associated with grain width. The results suggest that natural variation in GS5 contributes to grain size diversity in rice and may be useful in improving yield in rice and, potentially, other crops².

In recent years, a number of genes (or QTLs) for yield traits in rice, including tillering^{3,4}, number of grains per panicle^{5–11} and grain weight^{12–19}, have been isolated using a map-based cloning approach. These genes regulate yield traits and developmental processes by functioning at various stages, in different pathways and through diverse mechanisms¹. Molecular characterization of genes affecting grain size (such as GS3, GW2 and qSW5/GW5) indicate that many are negative

in the summer of 2006 in Wuban (for example, see Supplementary Table 2). Using this data, GS5 was mapped between C35 and RM574 (Fig. 1b). Analysis of population 2 detected 15 recombinants between C35 and RM574 (Fig. 1c). In total, 10 recombinant plants were found in the two populations in the interval between S2 and RM574. However, progeny testing revealed an inconsistency for three individuals between the marker genotypes determined using C62, which is located in the middle of the GS5 region, and the genotype deduced by progeny testing (nos. 30, 8396 and 57-5 in Fig. 1d and Supplementary Table 2). By referencing the previously cloned qSW5/GW5 locus^{16,17}, located approximately 2 Mb away on the RM574 side, we found that this inconsistency could be explained by the genotype of qSW5/GW5, which also affects grain size. We discarded these plants from further analysis. Using information from the remaining seven plants, we resolved GS5 to an 11.6-kb region between RM574 and S2 (Fig. 1c).

We next investigated the effects of GS5 on grain size and filling (see Fig. 2). We isolated two near-isogenic lines (NILs) from BC₃F₂ by fixing qSW5/GW5 for the small-grain allele (Fig. 2a). Compared to NIL(H94), the grains of NIL(ZS97) were 8.7% wider and 7.0% heavier, leading to a 7.4% increase in grain yield per plant (Table 1). No significant differences were detected in other agronomic traits (Supplementary Table 3). An analysis of a BC₃F₂ subpopulation showed that the grain



[nature](#) > [nature plants](#) > [letters](#) > [article](#)

Letter | [Published: 27 March 2023](#)

Two florigens and a florigen-like protein form a triple regulatory module at the shoot apical meristem to promote reproductive transitions in rice

[Francesca Giaume](#), [Giulia Ave Bono](#), [Damiano Martignago](#), [Yiling Miao](#), [Giulio Vicentini](#), [Taiyo Toriba](#), [Rui Wang](#), [Dali Kong](#), [Martina Cerise](#), [Daniele Chirivì](#), [Marco Biancucci](#), [Bahman Khahani](#), [Piero Morandini](#), [Wladimir Taming](#), [Michela Martinotti](#), [Daniela Goretti](#), [George Coupland](#), [Martin Kater](#), [Vittoria Brambilla](#), [Daisuke Miki](#), [Junko Kyojuka](#) & [Fabio Fornara](#) ✉

Nature Plants **9**, 525–534 (2023) | [Cite this article](#)

4057 Accesses | **1** Citations | **78** Altmetric | [Metrics](#)



Francesca Giaume & Giulia Ave Bono

Mutazioni nel gene *FT-L1* aumentano le ramificazioni della pannocchia



WT

Una mutazione nel gene *OsDREB1C* migliora la fotosintesi e l'efficienza dell'uso di azoto

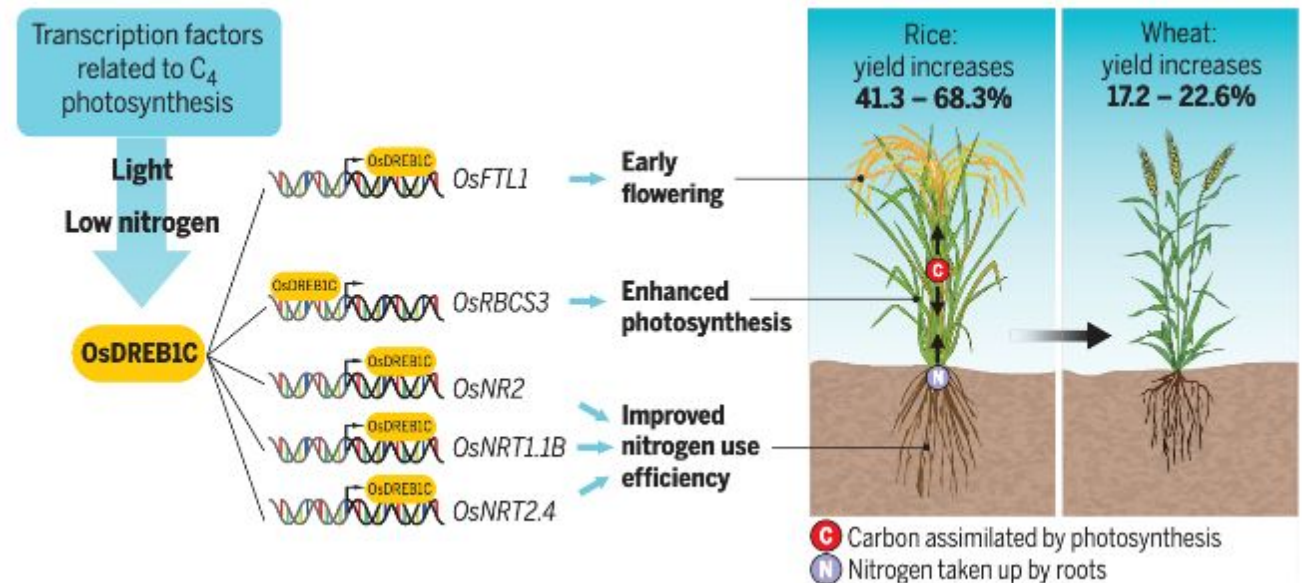
RESEARCH

RESEARCH ARTICLE SUMMARY

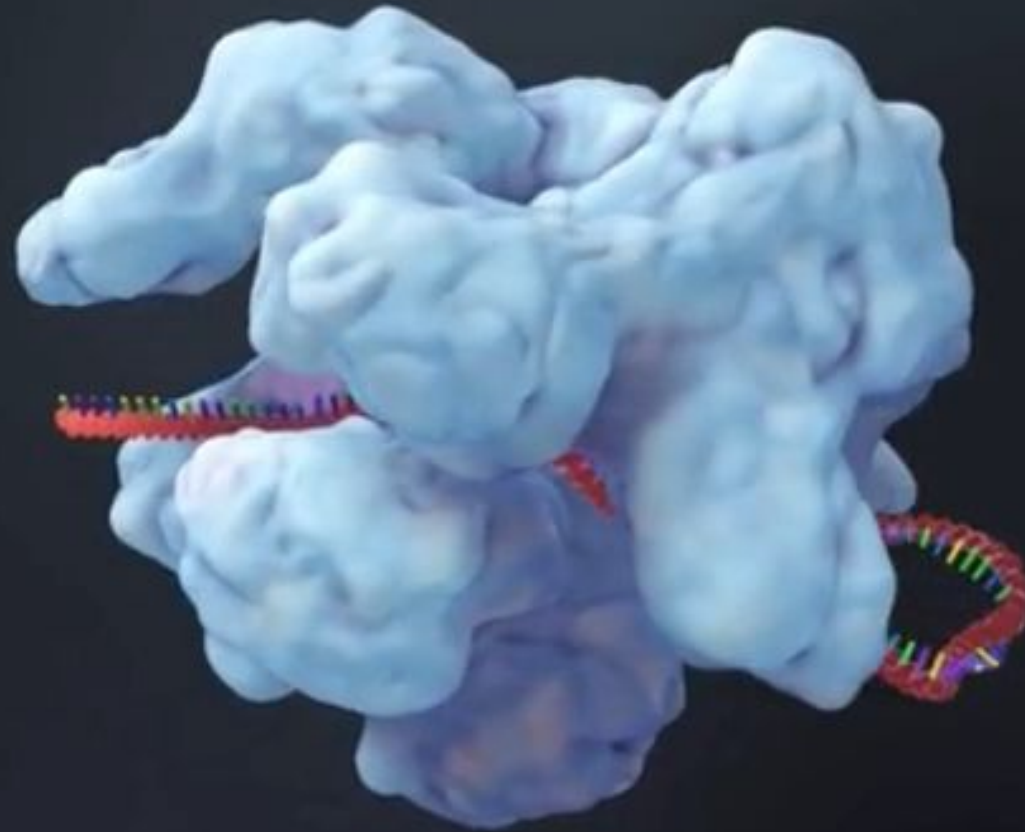
PLANT SCIENCE

A transcriptional regulator that boosts grain yields and shortens the growth duration of rice

Shaobo Wei†, Xia Li†, Zefu Lu, Hui Zhang, Xiangyuan Ye, Yujie Zhou, Jing Li, Yanyan Yan, Hongcui Pei, Fengying Duan, Danying Wang, Song Chen, Peng Wang, Chao Zhang, Lianguang Shang, Yue Zhou, Peng Yan, Ming Zhao, Jirong Huang, Ralph Bock, Qian Qian, Wenbin Zhou*



Cas9 Complex



Speciale DNA, editing del genoma: CRISPR, CRISPR/Cas9, evoCAS9...

Innovazione Il Giappone mette in tavola i primi pomodori modificati con la CRISPR

Nel Paese del Sol Levante via libera al commercio di pomodori geneticamente modificati con la tecnica CRISPR.



Pomodori «Sicilian Rouge High GABA» contengono cinque volte la normale quantità di acido gamma-amminobutirrico (GABA), che aiuta ad abbassare la pressione sanguigna

NEWS FEATURE | 15 June 2021

Riuscirà CRISPR a far cambiare sguardo sull'agricoltura?

I genetisti agrari italiani sono alle prese con vecchi dubbi e nuove speranze, in attesa che l'UE metta mano alle norme sulla modificazione genetica sito-specifica delle piante.

By [Anna Meldolesi](#)