



Group of International Experts of vitivinicultural Systems for CoOperation

PAV ■■■■

Publications Actualités Vitivinicoles

20th International Meeting 2017

Sustainable
viticulture and
winemaking in
climate change
scenarios

*Vitivinicultura
sostenible frente
a escenarios de
cambio climático*

Book of abstracts
Libro de resúmenes

5-10th November
Mendoza, ARGENTINA



INSTITUTO NACIONAL
DE VITIVINICULTURA



CORPORACION VITIVINICOLA
ARGENTINA



UNCUYO
UNIVERSIDAD
NACIONAL DE CUYO



Instituto Nacional de
Tecnología Agropecuaria

Under de Patronage of



Con el patrocinio de la
**Organización Internacional
de la Viña y del Vino**



Organisation
des Nations Unies
pour l'éducation,
la science et la culture



Chaire UNESCO
Culture et Traditions du Vin

Supporting Institutions and Organizations



Ministerio de Agroindustria
Presidencia de la Nación



Sponsors



ISBN 978-987-42-5835-9



9 789874 258359

GENERATION OF MILDEW-RESISTANT GRAPEVINE CLONES VIA GENOME EDITING

GENERACIÓN DE CLONES DE VID RESISTENTES A MILDIU MEDIANTE HERRAMIENTAS DE EDICIÓN DEL GENOMA

GIACOMELLI, Lisa²; ZEILMAKER, Tieme²; MALNOY, Mickael¹; VELASCO, Riccardo¹; VIOLA, Roberto¹; ROUPPE VAN DER VOORT, Jeroen²; MOSER, Claudio^{1*}

¹Research and Innovation Centre, Fondazione Edmund Mach, via E. Mach 1, I-38010 San Michele all'Adige, Italy ²Scienza Biotechnologies, Haling 1E, 1602 DB Enkhuizen The Netherlands

*Corresponding author: claudio.moser@fmach.it

Abstract

Cultivated grapevine (*Vitis vinifera*) is highly susceptible to several fungal and fungal-like diseases such as powdery mildew (PM) and downy mildew (DM), which require large use of pesticides for their containment. In other crops, knock-out mutations of host genes controlling susceptibility to such diseases have proven a successful strategy to obtain resistant plants. Recent works demonstrated the importance of the MLO family as susceptibility genes for PM resistance also in grapevine, whereas DMR6 has been identified as DM susceptibility gene in *Arabidopsis thaliana*, and its involvement in DM susceptibility is yet to be demonstrated in grapevine. Today, emerging new breeding technologies such as CRISPR/Cas9, recently applied also to grapevine, allow to generate knock-out mutants in specific DNA targets while maintaining the varietal and clonal identity as by traditional breeding. In this work we aim to knock-out specific grapevine susceptibility genes, such as MLO and DMR6 genes via CRISPR/Cas9 technology, to generate PM and DM resistant clones of grapevine. Embryogenic callus of Chardonnay and microvine varieties were transformed via *Agrobacterium tumefaciens* with CRISPR/Cas9 vectors designed to specifically edit these genes. *In vitro* plants regenerated from these embryogenic calli were sequenced confirming the presence of small insertion and deletions or single nucleotide polymorphisms at the target sites.

Keywords: *Vitis vinifera*, susceptibility genes, powdery and downy mildew, genome editing

Resumen

La vid cultivada (*Vitis vinifera*) es una especie altamente susceptible a varias enfermedades fúngicas, oídio (PM) y mildiu (DM) entre ellas, cuyo control requiere un extenso uso de pesticidas. En otros cultivos el noqueo de genes que controlan la susceptibilidad a estas enfermedades se ha revelado una estrategia exitosa para la obtención de plantas resistentes. Trabajos recientes han demostrado la importancia de la familia MLO como genes de susceptibilidad para la resistencia al PM también en vid, mientras que, aunque DMR6 ha sido identificado como gen de susceptibilidad al DM en *Arabidopsis thaliana*, su implicación en vid aún no se ha demostrado. Hoy en día, las nuevas tecnologías de mejora como CRISPR/Cas9, recientemente aplicadas en vid, permiten generar mutantes knock-out en dianas específicas del ADN, manteniendo la identidad varietal y clonal como sucede en el caso de la mejora tradicional. El objetivo del presente trabajo es la generación de clones de vid resistentes a oídio y mildiu mediante el noqueo de genes de susceptibilidad específicos, como MLO y DMR6, aplicando la tecnología CRISPR / Cas9. Mediante *Agrobacterium tumefaciens* se transformaron callos embriogénicos, obtenidos a partir de plantas de Chardonnay y "microvine", con vectores CRISPR/Cas9 específicamente diseñados para la edición de estos genes. Las plantas *in vitro* regeneradas a partir de dichos callos embriogénicos se secuenciaron confirmando la presencia de pequeñas inserciones y deleciones o polimorfismos de un solo nucleótido en los sitios diana.

Palabras clave: *Vitis vinifera*, genes de susceptibilidad, oídio, mildiu, edición del genoma