

CAMERA DEI DEPUTATI

N.427

ATTO DEL GOVERNO SOTTOPOSTO A PARERE PARLAMENTARE

Schema di decreto ministeriale recante approvazione del piano di ricerca straordinario per lo sviluppo di un sistema informatico integrato di trasferimento tecnologico, analisi e monitoraggio delle produzioni agricole attraverso strumenti di sensoristica, diagnostica, meccanica di precisione, biotecnologie e bioinformatica, predisposto dal Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria (CREA)

(articolo 1, commi 665 e 666, della legge 28 dicembre 2015, n. 208)

Trasmesso alla Presidenza il 15 giugno 2017



*Al Ministro delle politiche agricole
alimentari e forestali*

VISTO il decreto legislativo 30 luglio 1999, n. 300, recante “Riforma dell’organizzazione del Governo, a norma dell’articolo 11 della legge 15 marzo 1997, n. 59 e successive modificazioni e integrazioni;

VISTO il decreto legislativo 30 marzo 2001, n. 165, recante “Norme generali sull’ordinamento del lavoro alle dipendenze delle amministrazioni pubbliche” e successive modificazioni e integrazioni;

VISTA la legge 23 dicembre 2014, n. 190 e successive modificazioni ed integrazioni, recante “Disposizioni per la formazione del bilancio annuale e pluriennale dello Stato” (legge di stabilità per l’anno 2015) e, in particolare, l’art. 1, comma 381, primo periodo, che prevede l’incorporazione dell’Istituto nazionale di economia agraria – INEA – nel Consiglio per la ricerca e la sperimentazione in agricoltura – C.R.A.- , che assume la denominazione di Consiglio per la ricerca in agricoltura e l’analisi dell’economia agraria - CREA, conservando la natura di ente nazionale di ricerca e sperimentazione;

VISTO il sopra citato art. 1, commi 381 e 382, secondo i quali, ai fini dell’attuazione delle disposizioni contenute nella norma, è nominato un Commissario straordinario con decreto del Ministro delle politiche agricole alimentari e forestali;

VISTO il decreto in data 2 marzo 2015, decorrente dal 2 gennaio 2015, con il quale il Ministro delle politiche agricole, alimentari e forestali ha nominato, per la durata di un anno, il Dott. Salvatore Parlato Commissario straordinario del Consiglio per la ricerca in agricoltura e l’analisi dell’economia agraria - CREA;

VISTO il decreto del Ministro delle politiche agricole, alimentari e forestali del 31 dicembre 2015 con il quale l’incarico di Commissario straordinario del Consiglio per la ricerca in agricoltura e l’analisi dell’economia agraria - CREA, attribuito al Dott. Salvatore Parlato è stato prorogato, senza soluzione di continuità, per un anno e comunque non oltre la nomina degli organi ordinari di Amministrazione;

VISTO il decreto del Presidente del Consiglio dei Ministri del 23 gennaio 2017 con il quale il Dott. Salvatore Parlato è stato nominato Commissario straordinario del Consiglio per la ricerca in agricoltura e l’analisi dell’economia agraria – CREA con i poteri di ordinaria e straordinaria amministrazione fino alla definizione della procedura di nomina del Presidente e del Consiglio di amministrazione dell’Ente;

VISTO l’articolo 1, comma 665 della legge 28 dicembre 2015, n. 208 (legge di stabilità 2016) che demanda al Consiglio per la ricerca in agricoltura e l’analisi dell’economia agraria - CREA la promozione di un piano di ricerca straordinario per lo sviluppo di un sistema informatico integrato di trasferimento tecnologico, analisi e monitoraggio delle produzioni agricole attraverso strumenti di sensoristica, diagnostica, meccanica di precisione, biotecnologie e bioinformatica, per il quale è previsto un finanziamento di 21 milioni di euro;

VISTA la nota n. 2016/2 del 14 ottobre 2016 con la quale il Consiglio per la Ricerca e l’Analisi dell’Economia Agraria – CREA ha trasmesso il “Piano triennale di ricerca straordinario per lo sviluppo di un sistema informatico integrato di trasferimento tecnologico, analisi e monitoraggio delle produzioni agricole attraverso strumenti di sensoristica, diagnostica, meccanica di precisione, biotecnologie e bioinformatica”;



*Il Ministro delle politiche agricole
alimentari e forestali*

VISTA la nota n. 10681 del 24/10/2016, con la quale il Capo di Gabinetto chiede agli Uffici competenti di esprimere il proprio parere in merito al piano presentato dal CREA;

VISTE le osservazioni formulate in apposite riunioni al CREA dal Dipartimento delle Politiche europee ed internazionale e dello sviluppo rurale;

VISTA la nota n. 7234 del 24 febbraio 2017 con la quale il CREA trasmette la nuova versione del Piano triennale di ricerca straordinario articolato nei progetti Biotecnologie sostenibili per l'agricoltura italiana e AgriDigit – Agricoltura digitale;

VISTE la nota n. 900 del 28/02/2017 con la quale il Dipartimento delle politiche europee ed internazionale e dello sviluppo rurale ritiene che le attività di ricerca proposte siano in linea con quanto previsto dal "*Piano strategico per l'innovazione e la ricerca nel settore agricolo, alimentare e forestale*" di cui al DM n. 7139 del 1 aprile 2015 nonché formula alcune osservazioni in merito alle successive fasi operative al fine di consentire una efficace valutazione sia dei costi dei singoli sotto - progetti sia una definizione concreta dei tempi di attuazione;

RITENUTO di condividere le osservazioni formulate dal Dipartimento delle politiche europee ed internazionale e dello sviluppo rurale con la citata nota n. 900 del 28/02/2017;

VISTA la nota n. 2489 del 28 febbraio 2017 con la quale il Mipaaf ha trasmesso il più volte citato Piano triennale di ricerca straordinario all'Ufficio per il coordinamento delle attività della segreteria della Conferenza permanente dei rapporti tra lo Stato, le Regioni e le Province autonome di Trento e Bolzano;

SENTITA in data 25 maggio 2017 la Conferenza permanente dei rapporti tra lo Stato, le Regioni e le Province autonome di Trento e Bolzano;

VISTA le note nn. XXX del XX.XX.YYYY con le quali la proposta di piano triennale è stata inviata dal Ministero alle Commissioni parlamentari ai sensi dell'art.1, comma 666 della Legge 28 dicembre 2015, n. 208;

CONSIDERATE le osservazioni rese dalle Commissioni Permanenti per l'agricoltura del Senato della Repubblica e della Camera dei deputati, rispettivamente in data XXXX e XXXXX, sulla predetta proposta di Piano triennale;

D E C R E T A

Articolo 1 – E' approvato, ai sensi dell'art. 1, comma 666, della legge 28 dicembre 2015, n. 208 (legge di stabilità 2016), il "Piano di ricerca straordinario per lo sviluppo di un sistema informatico integrato di trasferimento tecnologico, analisi e monitoraggio delle produzioni agricole attraverso strumenti di sensoristica, diagnostica, meccanica di precisione, biotecnologie e bioinformatica" del CREA – nel testo allegato e che fa parte integrante del presente decreto.

Articolo 2 - Con successivi provvedimenti i competenti uffici del Ministero procederanno, nel rispetto delle procedure amministrative in vigore, alla concessione del finanziamento previsto sulla



*Il Ministro delle politiche agricole
alimentari e forestali*

base delle singole linee di attività individuate ed integrate da specifiche schede di ricerca al fine di consentire una efficace valutazione sia dei costi dei singoli sotto - progetti sia una definizione concreta dei tempi di attuazione.

Roma,

IL MINISTRO

Documento informatico sottoscritto con
firma elettronica digitale ai sensi degli
artt.21 e 24 del DLgs. n. 82/2005



Piano di ricerca straordinario

per lo sviluppo di un sistema informatico integrato di trasferimento tecnologico, analisi e monitoraggio delle produzioni agricole attraverso strumenti di sensoristica, diagnostica, meccanica di precisione, biotecnologie e bioinformatica

(L. 28 dicembre 2015, n. 208, art. 1, cc. 665-667)

articolato nei progetti

**BIOTECNOLOGIE SOSTENIBILI
PER L'AGRICOLTURA ITALIANA**

e

AgriDigit-AGRICOLTURA DIGITALE

Roma, 23 febbraio 2017

Indice

	Pag.
Progetto: BIOTECNOLOGIE SOSTENIBILI PER L'AGRICOLTURA ITALIANA	4
Introduzione	5
Le specie	6
Le tecnologie	6
La cisgenesi	7
Il <i>genome editing</i>	8
Obiettivi generali	9
Obiettivi per le piante da frutto	10
Obiettivi per le specie orticole	11
Obiettivi per le grandi colture	12
Obiettivi per Vite (da vino e da tavola), Olivo e Pioppo	12
Stato di avanzamento degli studi genomici e di rigenerazione in vitro sulle singole specie	14
Sottoprogetti trasversali	15
Partecipazione della comunità scientifica nazionale	16
Coordinamento, promozione e rafforzamento strutture	16
Internazionalizzazione	16
Sottoprogetti	18
CITRUS-BIOTECH - CITRus improvement by sUStainable BIOTECHnologies	18
BioSOSFru - Approcci biotecnologici di nuova generazione per migliorare la produttività, gli aspetti qualitativo-nutrizionali e la sostenibilità delle specie da frutto	21
CISGET - Cisgenesis and Genome Editing in Tomato	25
QUALIMEC – Migli, con Stefano Canali, RPS)oramento delle proprietà QUALitative in MELanzana e Carciofo mediante approcci di genome editing e cisgenesi.	29
GEO - Genome editing per il miglioramento della resistenza di <i>Ocimum basilicum</i> a <i>Peronospora belbahrii</i>	34
Wh-ITALY - NBT (New Breeding Techniques) per il Miglioramento Sostenibile del Frumento	40
SusRice - Realizzazione di un nuovo ideotipo di pianta di riso con migliorata resilienza e sostenibilità tramite l'inserimento di caratteri che influenzano la adattabilità della coltura	42
VITECH - Biotecnologie applicate al miglioramento genetico della vite per incrementare sostenibilità e competitività della filiera	46

GenOLICS - Rigenerazione <i>in vitro</i> di cultivar di olivo per l'impiego di biotecnologie di seconda generazione	49
PIOPPINGENE - Miglioramento genetico innovativo di cloni di pioppo per impieghi in filiere produttive.	50
PATHORES - Plant pathogen studies for screening of disease resistance	53
WHEADIT - Approcci di genome editing per ottimizzare la performance dei cereali tramite il controllo dei pathway ormonali	57
SBEVAL - Valutazione dell'impatto economico, politico e sociale delle biotecnologie soft nell'agricoltura italiana	61
Progetto: AgriDigit-AGRICOLTURA DIGITALE	63
Sintesi del progetto	64
Introduzione	67
Analisi degli <i>stakeholder</i>, dei beneficiari e degli utenti	68
Le tecnologie	69
Obiettivi generali	70
Esigenze e linee di intervento	74
Partecipazione della comunità scientifica nazionale	77
Struttura progettuale	79
AgroFiliere - Tecnologie digitali integrate per il rafforzamento sostenibile di produzioni e trasformazioni agroalimentari	80
AgroModelli - Modellistica previsionale	84
Selvicoltura - Tecniche innovative per la valorizzazione del patrimonio forestale	90
Zootecnia - Tecnologie digitali nella filiera del latte bovino e bufalino	93
Viticultura - Sistemi di supporto alle decisioni a diversa scala spaziale	96
AgriInfo - Piattaforma Informatica - Infrastruttura informatica per la gestione di dati	102
Prospetto dei costi previsti	110

Progetto

BIOTECNOLOGIE SOSTENIBILI PER L'AGRICOLTURA ITALIANA

Introduzione

Nei prossimi anni l'agricoltura italiana dovrà affrontare sfide diverse tra le quali l'incremento delle produzioni, l'adattamento delle piante ai cambiamenti climatici, l'adozione di pratiche agricole rispettose dell'ambiente.

La produttività delle colture dipende da fattori diversi quali l'adozione di pratiche agronomiche (lavorazioni del terreno, irrigazioni, ...), l'impiego di sostanze chimiche (fertilizzanti, fitofarmaci, diserbanti ...), la costituzione genetica delle varietà coltivate

In un'ottica di sostenibilità dei sistemi produttivi, di riduzione della disponibilità delle risorse naturali e quindi di necessaria oculatezza del consumo delle stesse, di limitazione degli apporti di sostanze chimiche di sintesi, i recenti avanzamenti tecnologici nel campo della bioinformatica e della genomica rendono il miglioramento genetico delle piante agrarie lo strumento potenzialmente più idoneo ad affrontare le sfide dei prossimi anni.

Le varietà coltivate vengono sistematicamente rinnovate, attraverso specifici programmi di *breeding*, per migliorare le loro caratteristiche qualitative, la resa produttiva o la capacità di adattarsi all'ambiente e di resistere alle malattie. Senza questo lavoro, condotto da sempre con metodi diversi, oggi l'umanità non avrebbe cibo a sufficienza, si userebbero molti più fitofarmaci e non ci sarebbero molti dei prodotti che consumiamo (ad es. pomodori ciliegino, nuove varietà di mele, angurie mono-porzione, frutti senza semi, ecc). In parallelo, il recupero delle varietà antiche ed il mantenimento in produzione di varietà tradizionali (ad es. nella vite), che costituiscono una preziosa fonte di biodiversità e di particolari caratteristiche qualitative e di resistenza a stress, si avvalgono sempre più delle moderne conoscenze genetiche per gli aspetti relativi alla loro tutela, alla loro tracciabilità e alla loro valorizzazione.

L'Italia si trova in una situazione paradossale: possiede una grande ricchezza di germoplasma di molte specie agrarie e dispone di conoscenze approfondite sul loro patrimonio genetico (in alcuni casi dell'intero genoma) ma dipende largamente dall'estero per i materiali di moltiplicazione.

Nei prossimi anni il miglioramento genetico potrà trarre grande vantaggio dall'avanzamento della ricerca genomica le cui conoscenze possono rappresentare una grande opportunità per l'agricoltura nazionale in termini di sviluppo di nuovi genotipi meglio rispondenti alle esigenze della moderna agricoltura.

Il progetto si prefigge di dare nuovo impulso alla genetica agraria del nostro Paese, investendo su nuove tecnologie di miglioramento genetico, il *genome editing* e la 'cisgenesi', che, applicate alle specie più importanti per il comparto agroalimentare nazionale, possono rappresentare strumenti efficienti e rapidi per il raggiungimento di obiettivi mirati.

Nel corso del triennio, per alcune delle specie più importanti del sistema agroalimentare italiano, verrà perseguita la produzione di piante più resistenti alle avversità (malattie, siccità, salinità), di migliore qualità (contenuto di antiossidanti e vitamine), anche attraverso la valorizzazione di varietà tradizionali, con benefici per gli agricoltori, i consumatori e l'ambiente.

Nel medio periodo la ricerca determinerà significative ricadute economiche sul settore sementiero e vivaistico nazionale e sulle aziende agricole.

Le specie

Il progetto opera su specie di grande importanza economica per l'Italia in ragione di una posizione rilevante nel mercato europeo e mondiale e/o collegate a produzioni tipiche del nostro Paese (agrumi, riso, kiwi, melo, pero, pesco, ciliegio, albicocco, vite, olivo, fragola, pioppo, frumento, pomodoro, melanzana, carciofo, basilico).



Oltre che gli aspetti di miglioramento genetico delle singole specie, il progetto prevede anche 3 tematiche trasversali: (1) Effetti dei *pathway* ormonali sullo sviluppo dei semi e la produttività; (2) definizione di protocolli di valutazione di resistenza nei sistemi ospite/patogeno e saggi sui nuovi genotipi costituiti; (3) analisi dell'impatto socio-economico e sui mercati delle nuove tecnologie di miglioramento genetico.

Le tecnologie

Il progetto si concentra su due nuove tecnologie genetiche denominate "cisgenesi" e "genome editing". Queste tecniche sono analoghe, quanto ai prodotti della loro applicazione, alle tecniche convenzionali di miglioramento genetico quali incrocio e selezione e mutagenesi. Incrocio e

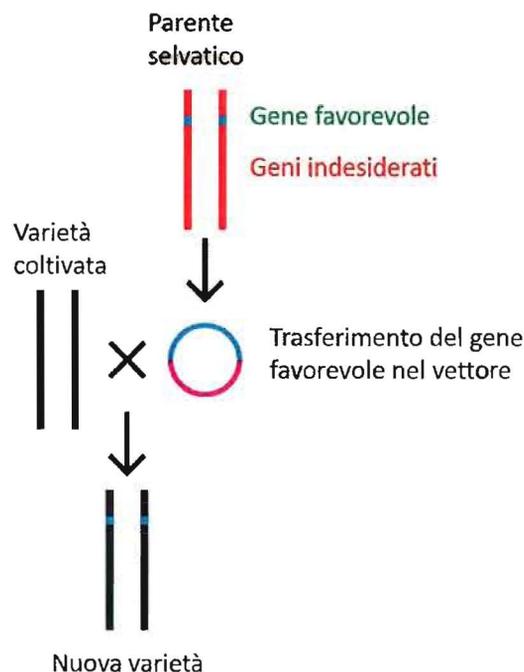
selezione, anche di mutanti naturali, sono utilizzati da quando è nata l'agricoltura; la mutagenesi, indotta attraverso l'impiego di radiazioni e di sostanze chimiche, è impiegata da oltre settant'anni per lo sviluppo di cultivar di grande diffusione in diverse specie (es. frumento, agrumi, ecc.).

Incrocio e selezione, però, sono processi che richiedono anni di lavoro se applicate alle specie erbacee a ciclo annuale e tempi proibitivamente lunghi per le specie arboree, che raggiungono la maturità sessuale dopo diversi anni dalla germinazione del seme e che, pertanto, consentono una valutazione piena dei risultati solo dopo alcuni lustri.

La mutagenesi indotta è più rapida nei fruttiferi, poiché non interviene sulla linea riproduttiva ma su parti adulte della pianta, sebbene in maniera non mirata; essa provoca modificazioni casuali nel genoma e questo fa sì che l'attività successiva di selezione sia assai complessa e delicata.

La cisgenesi

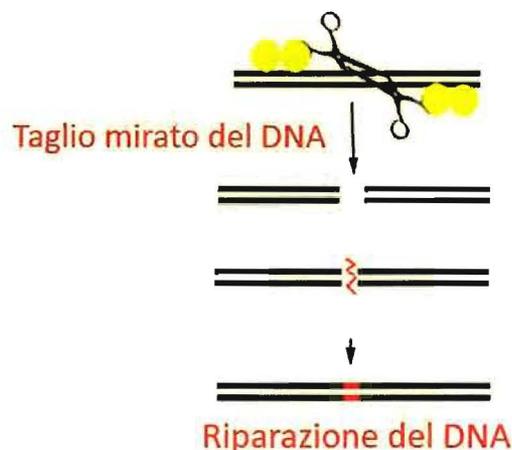
Le tecniche del "DNA ricombinante" consentono il trasferimento genico tra organismi diversi anche filogeneticamente molto distanti. Questa opportunità è stata utilizzata per ottenere gli organismi geneticamente modificati (OGM). Gli OGM destano preoccupazioni nel pubblico perché possono essere trasferiti geni anche tra specie assai distanti tra loro, ad esempio da animali o batteri o virus a piante coltivate. La "cisgenesi" differisce sostanzialmente dagli OGM in quanto il gene che viene trasferito deriva esclusivamente da piante della stessa specie o da specie sessualmente compatibili, mantenendo l'integrità strutturale e l'orientamento del gene originario.



Il risultato è del tutto equivalente a quanto si sarebbe potuto ottenere con numerose generazioni di incroci eseguite con tecniche convenzionali ma è certamente più preciso perché consente di trasferire esclusivamente il gene desiderato. Con le tecniche convenzionali basate sull'incrocio, infatti, insieme al gene desiderato vengono trasferiti nella varietà da migliorare dal parentale selvatico anche molti altri geni. L'insieme di tali caratteristiche indesiderate deve essere successivamente eliminato con lunghi cicli di reincrocio e selezione con la varietà coltivata oggetto del programma di *breeding*.

Il genome editing

Per *genome editing* si intende l'insieme di quelle tecniche che consentono di modificare in maniera mirata specifici geni, inducendo tagli nel doppio filamento di DNA, che vengono poi riparati.



Il *genome editing* viene impiegato per indurre mutazioni e inattivare geni pre-selezionati e per correggere in maniera mirata la sequenza di un gene.

I prodotti del *genome editing* sono dei mutanti indistinguibili da quelli che si possono ottenere, con tempi più lunghi e in maniera imprevedibile, attraverso la mutagenesi indotta.

Se il risultato è equivalente, la precisione nel determinarlo è assai maggiore e soprattutto i tempi sono più brevi. Ciò è particolarmente vero per specie di cui già si disponga di varietà tradizionali di particolare pregio, frutto di una lunga storia di selezione, delle quali è essenziale mantenere inalterate tutte le altre caratteristiche qualitative e agronomiche (ad eccezione di quella per la quale si interviene) e in particolare per tutte quelle a propagazione vegetativa.

L'EFSA, Agenzia Europea per la Sicurezza Alimentare, ha dichiarato, in un articolato parere su richiesta della Commissione Europea, che cisgenesi e alcune modalità di *genome editing* non sono assimilabili alle tecniche che

generano gli OGM ma alle tecniche convenzionali (EFSA Journal 2012,10(2):2561; EFSA Journal 2012, 10(10):2943).

Queste tecnologie sono ancora più efficienti in quanto sorrette dai risultati del sequenziamento di genomi di molte specie agrarie ottenuti direttamente da Istituzioni italiane o ai quali queste possono accedere liberamente avendo partecipato a consorzi internazionali di sequenziamento.

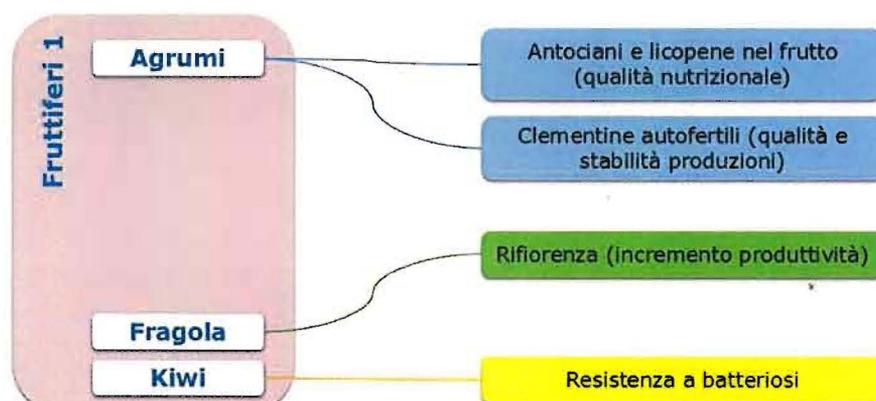
Obiettivi generali

Il programma ha l'obiettivo prioritario di rilanciare l'attività di ricerca italiana in un settore strategico quale quello delle biotecnologie applicate al miglioramento genetico vegetale, per costituire nuovi genotipi più resistenti agli stress abiotici, alle malattie e ai parassiti, dotati di nuovi caratteri di qualità nutrizionali e tecnologiche e più idonei alle nuove esigenze di coltivazione.

Nelle figure che seguono, nelle quali vengono sintetizzati gli obiettivi per le singole specie o gruppi di specie, le tre categorie vengono evidenziate così:



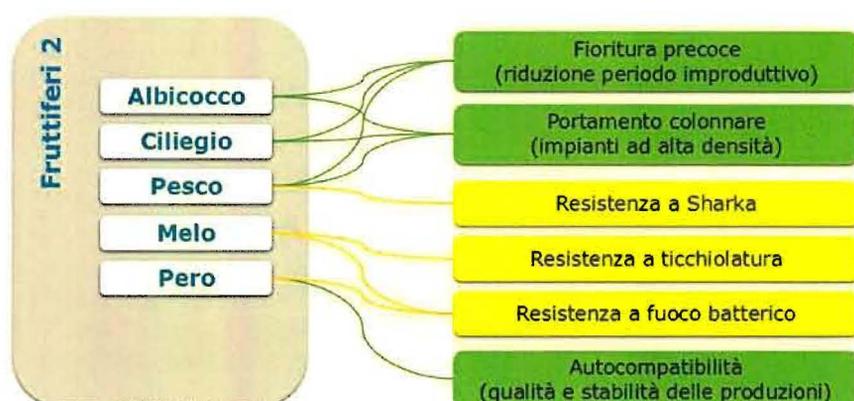
Obiettivi per le piante da frutto



Per gli agrumi si focalizzerà l'attenzione su due aspetti. Il primo, legato al miglioramento delle proprietà nutrizionali dei frutti, mira ad ottenere, tramite cisgenesi, piante di arancio i cui frutti contengano sia licopene che antocianine, composti ad alto valore antiossidante e salutistico. Il secondo

obiettivo, rilevante soprattutto per la resa e la qualità delle produzioni, riguarda la caratterizzazione funzionale del meccanismo di autoincompatibilità in clementine, allo scopo di ottenere varietà che, pur in presenza di polline da varietà sessualmente compatibili, siano apirene assicurando nel contempo livelli di produzione adeguata. Per la fragola il carattere *target*, in grado di incidere molto fortemente sulla resa complessiva degli impianti e ottimizzare quindi gli investimenti, è la rifioritura, ovvero la capacità di ottenere più cicli produttivi nella stessa annata.

Infine, per il kiwi, il cui fattore limitante più significativo negli anni recenti è stato determinato dalla batteriosi causata da *Pseudomonas syringae* pv *actinidiae* si concentreranno gli sforzi per ottenere genotipi resistenti.



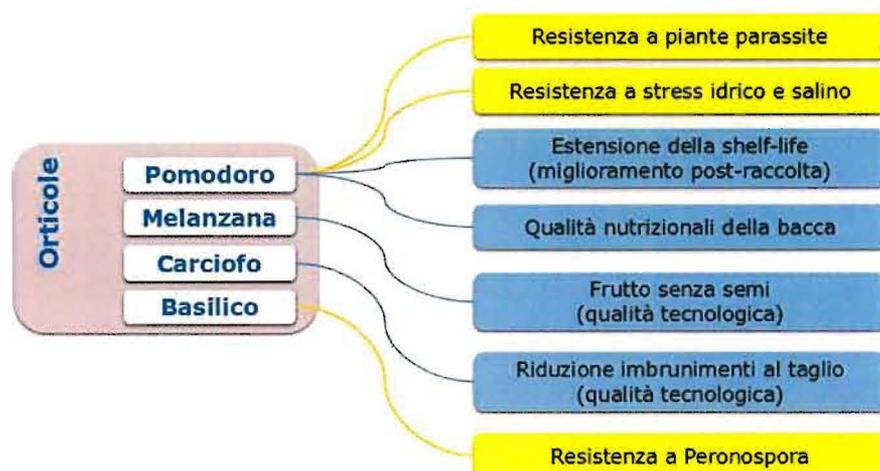
Per pesco, ciliegio e albicocco (drupacee) il progetto intende studiare i geni implicati nel passaggio dalla fase giovanile alla fase adulta per ottenere sia una maggior precocità nell'entrata in produzione sia un'accelerazione dei processi di *breeding* condotti attraverso l'incrocio.

Inoltre si mirerà a modificare il portamento delle piante: una forma colonnare (*pillar*) consente di incrementare l'efficienza degli impianti ad alta densità nelle drupacee che non possono avvantaggiarsi di portinnesti nanizzanti (non ancora disponibili) e/o di *habitus* compatto che influirebbe negativamente sulla qualità dei frutti.

I caratteri di resistenza alle malattie sono un obiettivo rilevante sia in pesco (in particolare la resistenza alla sharka) che tra le pomacee. Tra queste ultime, l'ottenimento di nuove varietà capaci di resistere agli attacchi dei principali patogeni e parassiti della coltura, consentirebbe di ridurre drasticamente il numero dei trattamenti fitosanitari che, in alcune zone e per alcune malattie, sono effettuati con frequenza assai elevata (es. per la ticchiolatura del melo).

Altro problema di grande rilievo che il progetto intende affrontare è la stabilità delle produzioni e la specializzazione degli impianti che, soprattutto in pero, viene fortemente influenzata dall'autoincompatibilità della specie.

Obiettivi per le specie orticole



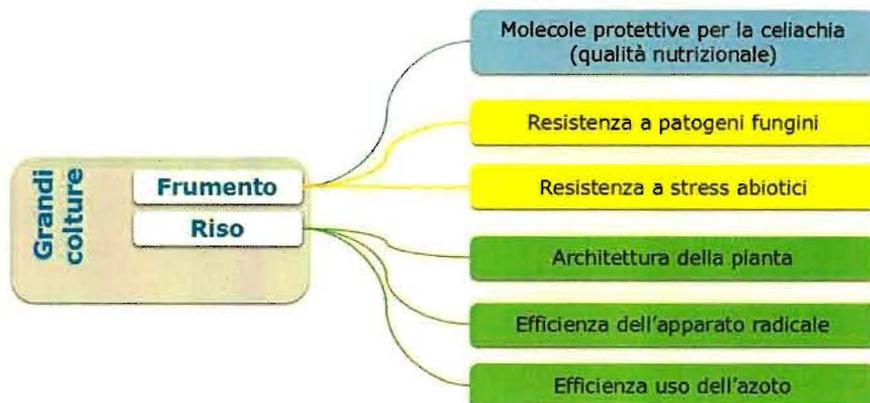
Il pomodoro, che in Italia ha una grande importanza sia come prodotto da mensa che per le trasformazioni industriali e che è alla base di molti piatti della tradizione gastronomica del Paese, verrà migliorato sia per aspetti legati alle qualità nutrizionale, attraverso un aumento della presenza di vari composti ad azione antiossidante, sia per caratteri rilevanti nella catena della commercializzazione, in particolare per un allungamento della *shelf-life* del prodotto fresco.

Verrà inoltre migliorata la resistenza a stress abiotici (salinità, carenza idrica) e a *Orobanche ramosa*, una pianta parassita che sempre di più si sta diffondendo negli ambienti di coltivazione.

Per la melanzana si concentreranno gli sforzi verso l'ottenimento di piante senza semi, carattere di grande rilevanza commerciale per la riduzione degli sprechi ma soprattutto per la facilità di utilizzazione domestica e industriale. Per il carciofo, altra specie "minore" ma fortemente legata a produzioni tipiche italiane, si focalizzerà l'attenzione sulla riduzione del fenomeno dell'imbrunimento al taglio, fattore che riduce la qualità dei prodotti, soprattutto nelle utilizzazioni industriali.

Per il basilico l'obiettivo principale è il miglioramento genetico dalla resistenza a Peronospora, il parassita fungino che provoca i maggiori danni biotici alla coltura.

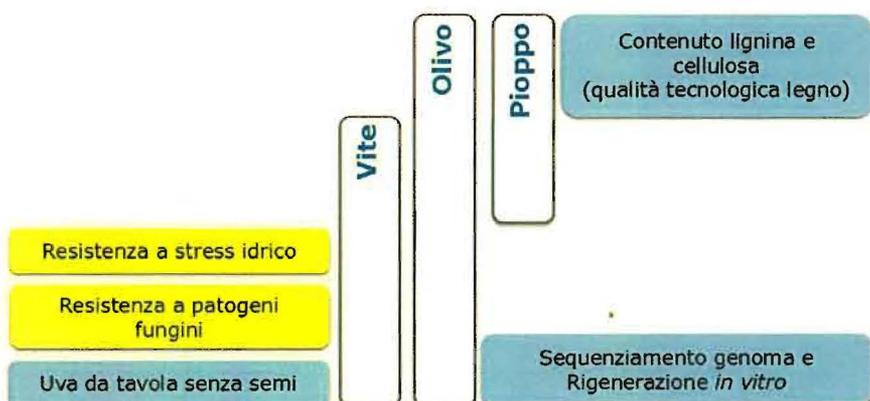
Obiettivi per le grandi colture



Per quanto riguarda il frumento, un obiettivo di notevoli ricadute potenziali è l'aumento nella cariossida del numero di copie di un peptide protettivo nei confronti della Celiachia, patologia in continuo aumento nella popolazione italiana. Sempre in frumento si migliorerà la resistenza ad ampio spettro nei confronti dei patogeni più comuni e dei fattori ambientali avversi che limitano la produttività e che diventeranno sempre più un fattore limitante in ragione dei cambiamenti climatici in atto.

Per il riso, l'obiettivo è quello di costituire piante di Vialone nano dotate di performance produttive più elevate in condizioni ambientali sfavorevoli. In particolare, si migliorerà la produttività, attraverso la resistenza all'allettamento dei culmi, e l'adattabilità agli ambienti di coltivazione, grazie ad una più efficiente capacità di utilizzazione dell'acqua e dell'azoto.

Obiettivi per Vite (da vino e da tavola), Olivo e Pioppo



Nel miglioramento genetico della vite le nuove biotecnologie offrono il vantaggio di mantenere pressoché inalterato il *background* genetico delle varietà già affermate e rinomate, utilizzate per la produzione di vini di

grande importanza, intervenendo solo per i caratteri desiderati; obiettivo difficile da raggiungere, se non in modo approssimativo, con il *breeding* tradizionale. In particolare, le moderne biotecnologie di cisgenesi e *genome editing* possono fornire importanti strumenti utili alla gestione sostenibile delle malattie fungine (in particolare oidio e peronospora) e dello stress idrico, con vantaggi derivanti dalla riduzione dell'impatto ambientale, dalla tolleranza al cambiamento climatico e di economicità di gestione del vigneto oltre che, beninteso, di salubrità del prodotto.

Nel settore specifico dell'uva da tavola il carattere commercialmente più rilevante, sul quale si concentreranno gli sforzi, è quello dell'apirenia, ovvero dello sviluppo di bacche senza semi, carattere di grande interesse per il mercato.

L'olivo rappresenta un caso particolare. Il completamento del sequenziamento del genoma, iniziativa già finanziata dal Ministero ma non conclusa, sarà uno degli obiettivi del progetto in quanto fornirà la base di conoscenze necessarie per l'individuazione dei singoli geni e quindi la possibilità di applicare tali tecnologie a specifici obiettivi di miglioramento genetico delle varietà. In parallelo si migliorerà la capacità di rigenerazione *in vitro* in modo da disporre degli strumenti necessari per l'applicazione di interventi di cisgenesi e *genome editing* appena disponibili le conoscenze del genoma.

Il pioppo, unica pianta "*non food*" nel progetto, è una coltura rilevante per l'economia del Paese, sopperendo da sola a quasi la metà della produzione nazionale di legno da industria. La disponibilità della sequenza del genoma e la conoscenza della struttura e funzionalità di alcuni geni implicati nella biosintesi della cellulosa e della lignina consentirà di modificare in modo mirato la composizione del legno in funzione degli usi industriali.

Stato di avanzamento degli studi genomici e di rigenerazione *in vitro* sulle singole specie

In questa tabella è riportato, in estrema sintesi, il livello di conoscenze e di strumenti ad oggi disponibili su aspetti chiave per l'applicazione delle nuove tecnologie di miglioramento genetico alle specie oggetto del programma. La situazione è variabile da specie a specie e talora nell'ambito della stessa specie in funzione dei geni e dei genotipi trattati.

	Actinidia	Albicocco	Agrumi	Carciofo	Basilico	Ciliegio	Fragola	Fruento	Melanzana	Melo	Olivo	Pero	Pesco	Pomodoro	Pioppo	Riso	Vite
Informazioni/ Tools genomici di base	2	2,3	2-3	2	1	2,3	2,3	1	3	2,3	2	2,3	2,3	3	2	3	3
Informazioni/ Tools genomici avanzati	2	1	1-2	1	2	1	2	2	1-3	2	1	2	2	2-3	2	1-2	2
Risposta <i>in vitro</i>	2	1	1-2	1	2	1	3	2	3	3	1	2	1	2	2	2	1-2
Tools per cisgenesi e genome editing	1	1	2	0	2	1	1	2	0	1	0	1	0	3	2	3	0-1

Informazioni / Tools genomici di base. Specie coltivata: nessuna disponibilità di dati genomici (0); disponibilità di dati parziali sul genoma (1); disponibilità della sequenze dell'intero genoma (*high quality*) (2); dati di risequenziamento disponibili (3)

Informazioni / Tools genomici avanzati. Nessuna informazione funzionale dei geni che si vuole modificare (0); conoscenze funzionali sui geni oggetto di *editing*/cisgenesi nella proposta in specie modello (1); conoscenze funzionali sui geni oggetto di *editing*/cisgenesi nella proposta nella specie oggetto di studio (2); conoscenze sulla variabilità allelica attraverso dati di *resequencing* o *exome resequencing* (3)

Risposta *in vitro*: Protocolli di trasformazione e rigenerazione non disponibili (0); protocolli di trasformazione e rigenerazione disponibili ma non routinari (1); protocolli di trasformazione e rigenerazione routinari su varietà modello (2), protocolli di trasformazione routinari con sistemi *in vitro* diversi (diretti/indiretti con protoplasti, tessuti, ecc) su molte varietà di interesse commerciale (3)

Tools per cisgenesi e genome editing: vettori e protocolli per cisgenesi e/o *genome editing* non disponibili (0); disponibilità di vettori per cisgenesi *marker free* (1); disponibilità di protocolli per *genome editing* (2); disponibilità di protocolli diversi per il *genome editing* (es. con vettori virali, con agro, con protoplasti) e capacità di eliminare il costrutto nella progenie (3)

Sottoprogetti trasversali

Valutazione di resistenza a malattie

L'attività di miglioramento genetico deve poggiare su una efficace valutazione delle interazioni tra piante e parassiti.

Il sottoprogetto copre i sistemi pianta-patogeno più rilevanti per le specie agrarie oggetto delle altre linee di ricerca con un ventaglio di patogeni che comprende funghi presenti nel suolo e funghi della parte aerea, oomiceti e batteri di piante erbacee e legnose.

I due obiettivi principali sono:

- i) ricorrere all'impiego di isolati ben caratterizzati e tipici delle aree geografiche per le quali le piante ottenute con cisgenesi e *genome editing* sono destinate;
- ii) fornire ai *breeder* un servizio di *screening* rapido per la resistenza a malattie dei nuovi genotipi ottenuti.

Si otterranno elementi di conoscenza sulla biologia sia dei patogeni che delle piante ospiti, sulla variabilità genetica degli uni e delle altre, sulle interazioni ospite-patogeno, sulla struttura genetica e la distribuzione geografica dei patogeni *target*.

Pathway ormonali: incremento di produttività in frumento duro

Il sottoprogetto si pone l'obiettivo di studiare i meccanismi ormonali che controllano lo sviluppo dei semi nei cereali e di modificarli in modo mirato per aumentare la resa (più semi per spiga e di maggiori dimensioni) e la qualità in modo sostenibile. In particolare si prevede di modificare in modo mirato la funzione di geni coinvolti nella regolazione della ubiquitinazione e nel metabolismo delle citochinine, delle auxine e degli zuccheri durante lo sviluppo dell'infiorescenza e della cariosside.

Il sottoprogetto opererà un trasferimento delle conoscenze da riso e orzo, intesi come sistemi modello dove esistono maggiori informazioni e strumenti di analisi genomica, al frumento duro, identificando i fattori chiave che regolano lo sviluppo dei meristemi riproduttivi e delle cariossidi.

Impatto socio-economico e mercati

Obiettivo del sottoprogetto è la valutazione dell'impatto economico e sociale dell'introduzione di nuovi tratti genetici in colture tipiche dell'agroalimentare italiano. Per le colture oggetto di sperimentazione all'interno del progetto e descritte nei diversi *work package*, il lavoro consisterà nell'individuazione dei soggetti potenzialmente interessati, nell'individuazione degli indicatori idonei alla valutazione dell'impatto e delle relative metodologie di misurazione, e, infine, nella loro misurazione in termini quantitativi o qualitativi in relazione alle informazioni disponibili.

Allo scopo di comprendere quali possano essere eventuali ostacoli alla diffusione e all'applicazione dei risultati, nella valutazione dei costi e delle potenzialità riveste un'importanza fondamentale l'analisi dello stato attuale di protezione brevettuale delle tecnologie e dei materiali che i Centri di ricerca intendono utilizzare che sarà un obiettivo specifico di questo sottoprogetto.

Partecipazione della comunità scientifica nazionale

Il progetto, affidato dal Governo al CREA, viene realizzato con competenze proprie dell'Ente in tutti i settori nei quali esse siano di livello elevato sulla base di riconosciuti standard internazionali.

Per le attività in cui il CREA non abbia al suo interno competenze adeguate, il progetto si avvale del contributo di gruppi di ricerca, appartenenti ad Università o altri Enti, selezionati attraverso procedure ad evidenza pubblica.

Coordinamento, promozione e rafforzamento strutture

Il progetto prevede un'azione di coordinamento del CREA, mirata anche ad alimentare il confronto e il dibattito sui temi sviluppati nel corso del triennio.

Infine, una quota delle risorse saranno destinate all'upgrade tecnologico dell'Ente, attraverso l'acquisizione di strumentazione e adattamento delle strutture per favorire lo sviluppo delle singole attività di ricerca attivate dal progetto.

Internazionalizzazione

Il progetto consentirà di rafforzare i collegamenti scientifici delle istituzioni italiane, e del CREA in particolare, nell'ambito di iniziative di collaborazione internazionali, tra le quali "Wheat Initiative" nella quale

l'Italia con CREA-GPG e Università di Bologna già coordina le ricerche sul Grano duro.

E' inoltre prevista un'attività di formazione attraverso la concessione di due borse di studio annuali per dottori di ricerca o dottorandi palestinesi.

Saranno attivate inoltre collaborazioni con ricercatori stranieri attivi nelle materie d'interesse nel progetto che potranno apportare utili contributi scientifici senza oneri per il progetto oltre il mero rimborso dei costi del viaggio e del soggiorno. Fin d'ora si prevedono collaborazioni con:

- Università di Lleida (Spagna);
- Max Planck Institute of Molecular Plant Physiology, Monaco (Germania)
- Max-Planck Institute of Molecular Plant Physiology, Potsdam (Germania);
- Università della Florida (USA)
- Volcani Research Centre (Israele)
- Citrus Center, Hunan Agricultural University (Cina)
- Dept. of Molecular Biology and Biochemistry, University of Malaga (Spagna);
- Dept. of Horticulture, Michigan State University (USA);
- Dept. of Biological Sciences e Dept. of Genetics and Biochemistry, Clemson University (USA);
- US Dept. of Energy, Joint Genome Institute, Walnut Creek CA (USA);
- John Innes Centre e Sainsbury Lab di Norwich (UK);
- INIA La Platina di Santiago (Cile);
- Agroscope, Wädenswil (Svizzera);
- Plant Research International, Wageningen (Olanda);
- Agriculture Research Organization, Bet Dagan (Israele);
- INRA Angers (Francia);
- Serida, Asturias (Spagna);
- JKI, Dresda (Germania)
- Department of Forest Ecosystem and Society, Oregon State University, Corvallis OR (USA);
- Unità di biotecnologie dell'Accademia Forestale Cinese di Pechino (Cina);
- Unità di Miglioramento Genetico e Fisiologia Forestale dell'INRA di Orleans (Francia)
- ESEB, European GMO Socio-Economic Bureau, Joint Research Center di Siviglia (Spagna)

Sottoprogetti

Sotto-progetto: CITRUS-BIOTECH

CITRus improvement by sUSTainable BIOTECHnologies

WP1 Messa a punto di costrutti per cisgenesi allo scopo di ottenere frutti di arancio con caratteristiche qualitative migliorate (cospresenza di antocianine e licopene)

Il gene Ruby, appartenente alla famiglia Myb-like, corredato del suo promotore e terminatore, noto per essere il marcatore della pigmentazione rossa in arancio dolce, verrà inserito nel genoma di un arancio contenente licopene attraverso approccio cisgenico. La valutazione di eventuali altri geni regolatori appartenenti alla famiglia Myc-like e WD40, che in modo sinergico insieme a Myb-like, regolano la sintesi delle antocianine, è comunque una delle attività che verrà svolta, partendo dal presupposto che sono disponibili alcuni risequenziamenti di arancio dolce che mostrano variabilità per i caratteri di interesse. Verranno messi a punto e sviluppati i costrutti per cisgenesi, con relativa trasformazione e rimozione dei marcatori genetici di resistenza disponibili, per la realizzazione delle quali attività si ritiene necessario il reclutamento di competenze esterne. L'ottimizzazione dei protocolli di rigenerazione e conseguente trasformazione mediata da *Agrobacterium* costituiscono parte integrante del progetto. La natura recalcitrante dell'arancio dolce necessiterà la messa a punto dei protocolli di trasformazione, prima con costrutti di controllo e poi con quelli di interesse. L'integrazione del/i gene/i introdotti via cisgenesi verrà verificata mediante analisi molecolari, così come verrà altresì valutata l'effettiva integrazione ed espressione dei geni oggetto di studio. Il numero di copie verrà stimato mediante PCR quantitativa. Ragionevolmente con i tempi biologici e fisiologici dell'arancio dolce l'analisi del fenotipo del frutto verrà rimandata a una fase successiva alla conclusione del progetto.

WP2 Definizione dei meccanismi responsabili del fenomeno di autoincompatibilità in clementine e knock-out di geni candidati in genotipi autoincompatibili

Gran parte dello sviluppo di questo WP verrà svolto in collaborazione con un partner esterno. Verranno utilizzati geni candidati già noti per il loro putativo coinvolgimento nella regolazione dell'incompatibilità gametofitica in clementine, e nello specifico verranno valutati geni appartenenti alle famiglie *F-box*, *asp-rich*, *DELLA*. Per confermarne l'effettiva implicazione, in una prima fase verrà eseguita una caratterizzazione funzionale di tali geni mediante sovra-espressione, utilizzando la pianta modello tabacco. Quindi ne verrà valutato il corrispondente effetto a carico del comportamento riproduttivo. Secondariamente verrà utilizzato un approccio di tipo *genome editing* presumibilmente CRISP/Cas9, traendo

vantaggio dalla disponibilità del genoma di clementine che agevolerà nel disegno dell'RNA guida. Si tenterà quindi di eliminare il costrutto batterico utilizzato per il *genome editing* attraverso i metodi più accreditati. Le mutazioni indotte tramite *genome editing* saranno verificate tramite sequenziamento e allineamento dei geni target con la sequenza di riferimento. Anche per questa attività l'analisi complessiva del fenotipo verrà rimandata a una fase successiva alla conclusione del progetto.

WP3 Piano di sfruttamento dei risultati e disseminazione

Considerate assolutamente innovative e strategiche le attività proposte nella presente scheda, si ritiene necessaria un'attività di divulgazione non solo delle tecniche in oggetto (sono veramente rari gli esempi di utilizzo delle *New Breeding Technologies* – *NBT* - in agrumicoltura), ma anche delle potenzialità applicative che potrebbero avere. L'effettiva realizzazione degli obiettivi proposti sarà inoltre propedeutica per un potenziale utilizzo delle medesime tecnologie per tematiche altrettanto interessanti ma al momento non prese in considerazione (es. resistenza a stress). La disseminazione dei risultati *step-by-step* avverrà sia utilizzando canali facilmente accessibili all'opinione pubblica, attraverso *newsletter* e comunicazioni divulgative, sia attraverso la pubblicazione di articoli scientifici su riviste nazionali e internazionali dotate di impatto. Saranno inoltre previste attività seminariali per addetti ai lavori (ricercatori, studenti, ...).

Articolazione del sottoprogetto in Work Package e Task

WP-1: Messa a punto di costrutti per cisgenesi allo scopo di ottenere frutti di arancio con caratteristiche qualitative migliorate (copresenza di antocianine e licopene)

Task 1.1: Scelta e verifica del/i gene/i candidati e delle sequenze regolatrici

Task 1.2: Messa a punto e sviluppo di costrutti per cisgenesi (ESTERNO)

Task 1.3: Trasformazione delle piante e rimozione del gene marcatore selezionabile (ESTERNO)

Task 1.4: Valutazione del potenziale di rigenerazione delle piante trasformate

Task 1.5: Verifica tramite PCR qualitativa e quantitativa della presenza del gene e del numero di copie e relativa espressione

WP-2: Definizione dei meccanismi responsabili del fenomeno di autoincompatibilità in clementine e knock-out di geni candidati in genotipi autoincompatibili

Sotto-progetto: BioSOSFru

Approcci biotecnologici di nuova generazione per migliorare la produttività, gli aspetti qualitativo-nutrizionali e la sostenibilità delle specie da frutto

WP1 Analisi computazionale delle famiglie geniche per i caratteri di interesse.

Verranno utilizzate le sequenze dei genomi delle specie frutticole attualmente disponibili (melo, pesco, fragola, pero e actinidia) al fine di individuare le regioni regolatrici da utilizzare per i geni di interesse, disegnare l'RNA guida per il *genome editing*. Nelle specie di cui non si dispone la sequenza del genoma geni ortologhi verranno individuati attraverso analisi comparativa con le sequenze delle specie affini (per ciliegio e albicocco verrà utilizzato il genoma del pesco, per la fragola ottaploide il genoma della fragola diploide).

WP2 Cisgenesi e genome editing in Prunus spp, Malus, Pyrus, Actinidia spp, e Fragaria spp.

Costrutti cisgenici verranno preparati per: resistenza ai nematodi galligeni; fioritura continua (*fast breeding*) per pesco, ciliegio e albicocco; resistenza a batteriosi del kiwi; multiresistenza in melo, in particolare a ticchiolatura (due geni) e al fuoco batterico; per la rifioritura in fragola. I marcatori genetici di resistenza verranno eliminati attraverso l'induzione con dexamethasone di una ricombinasi sito-specifica.

Costrutti per il *genome editing* verranno preparati per: modificare l'architettura dell'albero delle drupacee (pesco, albicocco e ciliegio) mediante knock-out del gene che controlla l'angolo di apertura delle branche; indurre resistenza a sharka in pesco mediante mutazione dei geni di suscettibilità al patogeno; induzione di autocompatibilità in pero. Il costrutto batterico utilizzato per il *genome editing* verrà eliminato dal genoma mediante ricombinazione per autofecondazione.

WP3 Rigenerazione e trasformazione genetica.

Un requisito essenziale per la riuscita del progetto è legato alla disponibilità di protocolli di rigenerazione e alla successiva trasformazione mediata da Agrobatterio. In questo WP verranno ottimizzati i protocolli già esistenti per le diverse specie frutticole: Pesco, Ciliegio, Albicocco, Melo, Pero, Fragola, Actinidia.

Particolare attenzione verrà posta alle specie del genere *Prunus*, e in particolare al pesco, che al momento sono considerate tra le più recalcitranti. A questo proposito oltre ad utilizzare i diversi protocolli pubblicati negli ultimi dieci anni, in genere genotipo dipendenti, sono state attivate collaborazioni con istituzioni estere impegnate nella messa a punto di protocolli di rigenerazione e trasformazione.

WP4 Caratterizzazione genetica e fenotipica degli individui trasformati

L'integrazione dei geni introdotti via cisgenesi verrà verificata dalle diverse UUOO coinvolte mediante tecniche basate sulla PCR. Le piante cisgeniche saranno analizzate per verificare l'effettiva integrazione ed espressione dei geni oggetto di studio. Il numero di copie verrà stimato mediante PCR quantitativa. Le mutazioni indotte tramite *genome-editing* saranno verificate tramite sequenziamento e allineamento dei geni target con la sequenza *wild-type*. Per quanto riguarda l'analisi fenotipica per i caratteri visibili fin dallo stadio vegetativo le UUOO procederanno ai saggi necessari (analisi visiva, test di resistenza). Il carattere resistenza a Sharka verrà valutato dal CREA-PAV su piantine microinnestate fornite dal CREA-FRU. Per i caratteri visibili durante la fase riproduttiva delle specie arboree (fioritura e fruttificazione) l'analisi del fenotipo è rimandata a una fase successiva alla conclusione del progetto.

Articolazione del sottoprogetto in Work Package e Task

WP-1: Analisi computazionale delle famiglie geniche per i caratteri di interesse

Task 1.1: Identificazione tramite approcci di genomica comparativa dei geni ortologi per i caratteri fioritura precoce e portamento colonnare, in specie del genere *Prunus*

Task 1.2: Mining in silico delle regioni regolatrici dei geni di interesse

Task 1.3: Disegno dei sgRNA nel sistema CRISPR/Cas9 in *Prunus*

Task 1.4: Disegno dei sgRNA nel sistema CRISPR/Cas9 nelle pomacee (ESTERNO)

Task 1.5: Identificazione delle sequenze geniche in *Actinidia* per la resistenza a PSA

Task 1.6: Identificazione delle sequenze dei geni per la rifioritura (ESTERNO)

WP-2: Cisgenesi e genome editing in *Prunus spp*, *Malus*, *Pyrus* e *Actinidia spp*, *Fragaria spp*

Task 2.1: Disegno dei costrutti cisgenici per la resistenza ai nematodi galligeni e per la fioritura precoce in *Prunus*

Task 2.2: Disegno dei costrutti cisgenici per la multi-resistenza in melo (ESTERNO).

Task 2.3: Disegno di costrutti cisgenici per la resistenza al fuoco batterico in pero (ESTERNO).

Task 2.4: Disegno dei costrutti per il genome editing in *Prunus* per il carattere pillar e per la resistenza a sharka

Task 2.5: Disegno dei costrutti per il genome editing in pero per l'ottenimento di piante autocompatibili (ESTERNO)

Task 2.6: Disegno dei costrutti per la modulazione del bilancio ormonale per regolare la risposta a PSA in Actinidia spp. mediante approcci di cisgenesi

Task 2.7: Disegno di costrutti cisgenici in fragola per la rifioritura (ESTERNO)

WP-3: Rigenerazione e trasformazione genetica

Task 3.1: Ottimizzazione dei metodi di trasformazione genetica e rigenerazione in vitro di specie del genere Prunus

Task 3.2: Ottimizzazione dei metodi di trasformazione genetica e rigenerazione in vitro di pomacee (ESTERNO)

Task 3.3: Ottimizzazione dei metodi di trasformazione genetica e rigenerazione in vitro di Actinidia spp

Task 3.4: Ottimizzazione dei metodi di trasformazione genetica e rigenerazione in vitro in Fragaria (ESTERNO)

Task 3.5: Trasformazione e rigenerazione delle piante cisgeniche e modificate tramite il genome editing in Prunus e Actinidia

Task 3.6: Trasformazione e rigenerazione delle piante cisgeniche e modificate tramite il genome editing nelle Pomacee (ESTERNO)

Task 3.7: Trasformazione e rigenerazione delle piante cisgeniche e modificate tramite il genome editing in Fragaria (ESTERNO)

WP-4: Caratterizzazione genetica e fenotipica dei genotipi trasformati

Task 4.1: Analisi molecolari per la valutazione dell'integrazione e dell'espressione dei geni target in Prunus

Task 4.2: Analisi molecolari per la diagnosi dell'integrazione e dell'espressione dei geni target in melo e pero (ESTERNO)

Task 4.3: Analisi molecolari per la diagnosi dell'integrazione e dell'espressione dei geni target in actinidia

Task 4.4: Analisi molecolari per la valutazione dell'integrazione e dell'espressione dei geni target in Fragaria (ESTERNO)

Task 4.5: Analisi del fenotipo delle piante trasformate per i caratteri di interesse in Prunus

Task 4.6 Analisi del fenotipo delle piante trasformate per i caratteri di interesse in melo e pero (ESTERNO)

Task 4.7: Analisi fenotipica della resistenza a PSA

Task 4.8: Analisi del fenotipo delle piante trasformate per la rifioritura in fragola (ESTERNO)

Articolazione temporale

Anno	1												2												3														
Quadrimestre	I			II			III			IV			I			II			III			IV			I			II			III			IV					
Mese	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
WP 1	[Shaded]																																						
Task 1.1	[Shaded]																																						
Task 1.2	[Shaded]																																						
Task 1.3	[Shaded]																																						
Task 1.4	[Shaded]																																						
Task 1.5	[Shaded]																																						
Task 1.6	[Shaded]																																						
WP 2	[Shaded]																																						
Task 2.1	[Shaded]																																						
Task 2.2	[Shaded]																																						
Task 2.3	[Shaded]																																						
Task 2.4	[Shaded]																																						
Task 2.5	[Shaded]																																						
Task 2.6	[Shaded]																																						
Task 2.7	[Shaded]																																						
WP 3	[Shaded]																																						
Task 3.1	[Shaded]																																						
Task 3.2	[Shaded]																																						
Task 3.3	[Shaded]																																						
Task 3.4	[Shaded]																																						
Task 3.5	[Shaded]																																						
Task 3.6	[Shaded]																																						
Task 3.7	[Shaded]																																						
WP 4	[Shaded]																																						
Task 4.1	[Shaded]																																						
Task 4.2	[Shaded]																																						
Task 4.3	[Shaded]																																						
Task 4.4	[Shaded]																																						
Task 4.5	[Shaded]																																						
Task 4.6	[Shaded]																																						
Task 4.7	[Shaded]																																						
Task 4.8	[Shaded]																																						

Sotto-progetto: CISGET

Cisgenesis and Genome Editing in Tomato

WP1 Tolleranza agli stress

In questo WP saranno affrontati alcuni stress limitanti per la coltura del pomodoro, in particolare la resistenza a *Orobanche* spp. e specie parassite simili, e la tolleranza a stress abiotici.

Nell'ambito di questo WP ci si propone di:

- a. Selezionare i geni *target* coinvolti nella biosintesi degli strigolattoni (1.1) o in grado di modulare la tolleranza a stress idrico e da eccesso di sale attraverso il mantenimento del turgore cellulare e/o la modificazione del trasporto ionico (1.2).
- b. Costruire i vettori mirati all'*editing* dei geni selezionati per la tolleranza a stress biotici (resistenza a *Orobanche*) e abiotici.
- c. Produrre mutanti *knockout/knockdown* mediante *genome editing* (introduzione di mutazioni casuali di tipo *loss-of-function*) da valutare per resistenza/tolleranza a stress.
- d. Selezionare e rigenerare le piante trasformate.
- e. Effettuare le analisi molecolari sui mutanti ottenuti.
- f. Effettuare le analisi morfo-fisiologiche dei mutanti ottenuti.

WP2 Qualità nutrizionale e "shelf-life"

In questo WP saranno affrontati alcuni temi di ricerca legati all'incremento delle qualità nutrizionali della bacca, alla riduzione delle perdite in post-raccolta e all'estensione della *shelf-life*.

Nell'ambito di questo WP ci si propone di:

- a. Selezionare i geni *target* coinvolti nella biosintesi dei flavonoli e dell'etilene (2.1), responsabili dell'incremento del contenuto di solidi solubili totali (2.2) o coinvolti nella biosintesi di molecole ad attività antiossidante (2.3).
- b. Costruire i vettori per il trasferimento, mediante cisgenesi da specie affini o altre varietà di pomodoro coltivato, dei geni selezionati per gli aspetti qualitativi d'interesse.
- c. Costruire i vettori per gli approcci di genome editing sugli stessi geni.
- d. Produrre mutanti mediante cisgenesi e/o genome editing (introduzione di mutazioni casuali di tipo *loss-of-function* o sostituzioni nucleotidiche).
- e. Selezionare e rigenerare le piante trasformate.

- f. Effettuare le analisi molecolari sui mutanti ottenuti.
- g. Effettuare le analisi morfo-fisiologiche e biochimiche sui frutti dei mutanti ottenuti per verificare il miglioramento delle caratteristiche legate alla qualità nutrizionale in pomodoro.

WP3 Modulazione del processo fotosintetico e suo legame con gli stress e la qualità

Uno dei principali bersagli degli stress abiotici è il processo fotosintetico. Moderati livelli di stress limitano l'attività del ciclo di Calvin-Benson, determinando l'accumulo di molecole legate alla qualità del frutto di pomodoro.

Nell'ambito di questo WP ci si propone di:

- a. Selezionare i geni target responsabili della fotoprotezione e dissipazione dell'energia luminosa (3.1).
- b. Costruire i vettori mirati all'*editing* dei geni selezionati.
- c. Produrre mutanti mediante *genome editing* (introduzione di mutazioni non-senso o introduzione di mutazioni casuali di tipo *loss-of-function*).
- d. Selezionare e rigenerare le piante trasformate.
- e. Effettuare le analisi molecolari sui mutanti ottenuti.
- f. Effettuare le analisi morfo-fisiologiche e biochimiche delle piante ottenute in relazione alla crescita, alla tolleranza agli stress e agli aspetti nutrizionali.

WP4 Analisi bioinformatiche ed altre attività trasversali

In questo WP verranno perseguite le seguenti attività:

- a. Individuazione e reperimento dei vettori di clonaggio ed espressione da utilizzare nel corso del progetto (4.1).
- b. Analisi bioinformatiche *ex ante* ed *ex post*. Queste consistono nel i) disegnare gli RNA a singola-guida, individuando, all'interno delle sequenze di interesse, i siti bersaglio della nucleasi Cas9; ii) individuare i potenziali siti *off-target* dell'endonucleasi RNA-guidata Cas9; iii) eseguire un'attenta analisi a posteriori degli esperimenti di *genome editing* caratterizzando e quantificando eventi di inserzione, delezione e ricombinazione omologa, nonché eventuali modificazioni *off-target* (4.2).
- c. Allevamento, valutazione e riproduzione delle piante selezionate, nel rispetto della normativa vigente. I mutanti ottenuti saranno riprodotti per autofecondazione finalizzata al *sorting-out* dei geni codificanti per la Cas9 e gli RNA guida (4.3).

Sotto-progetto: QUALIMEC

Miglioramento delle proprietà QUALitative in MELanzana e Carciofo mediante approcci di genome editing e cisgenesi.

WP1 Induzione di partenocarpia in melanzana

Il frutto della melanzana, similmente a quasi tutti gli altri tipi di frutti, deriva dall'accrescimento dell'ovario e da un punto di vista botanico può essere definito come un ovario maturo. Il suo sviluppo generalmente dipende dall'impollinazione e formazione dell'embrione che è racchiuso all'interno del seme. Nel fiore aperto l'ovario è già formato, ma si trova in uno stato quiescente e la sua crescita è bloccata. E' stato dimostrato che, in seguito alla fecondazione, dagli ovuli fecondati e dall'embrione si originano i segnali molecolari ed ormonali che inducono l'allegagione e sostengono lo sviluppo del frutto. In pomodoro è stato provato in modo indiscutibile che le auxine e le gibberelline svolgono un ruolo decisivo nel controllo dell'allegagione e nella crescita del frutto. Infatti, una delle pratiche molto diffuse in ortofrutticoltura è l'impiego di insetti pronubi o il trattamento ai fiori aperti con auxine e/o gibberelline naturali o di sintesi per stimolare l'allegagione e la crescita dei frutti, questo soprattutto per le produzioni extrastagionali o quando si verificano condizioni ambientali (es. alte o basse temperature) che pregiudicano la fecondazione. L'unico sistema alternativo ed efficace per ottenere una buona fruttificazione è l'induzione della partenocarpia, cioè lo sviluppo di frutti in assenza di impollinazione e fecondazione. Tale carattere genetico si ritrova in alcuni mutanti naturali o indotti che però non riescono a soddisfare le esigenze tecnico-agronomiche e qualitative; al contrario, alla fine degli anni 90 la partenocarpia transgenica aveva ottenuto buoni risultati agronomici e qualitativi.

Per il conferimento tramite cisgenesi del tratto partenocarpico in melanzana si provvederà ad identificare in questa specie gli ortologi di geni di pomodoro, già noti per essere coinvolti nella sintesi di auxina e nell'allegagione del frutto (es: YUCCA e PIN4). Dei geni identificati verranno inoltre studiate le regioni promotrici in modo da identificare quelli specificamente o preferenzialmente attivi nell'allegagione. Si prevede di sperimentare il sistema CRISPR/Cas9 per indurre partenocarpia tramite il knockout di geni repressori dell'allegagione quali ARF7 e ARF8. L'attività di ricerca riguarderà anche geni coinvolti nello sviluppo dell'ovulo che possono influenzare l'accrescimento del frutto. Tra questi, il target sarà il gene MADS-box STK (AGL11) che a seguito di silenziamento ha indotto partenocarpia in pomodoro. Nell'ambito di QUALIMEC verrà verificato se la distruzione di SmSTK attraverso genome editing determina la partenocarpia in melanzana.

In una prima fase verranno messi a punto i costrutti cis-genici e quelli per il sistema CRISPR/Cas9 e/o multiplex CRISPR/Cas9. Nella seconda fase si procederà a valutare l'efficacia dei costrutti attraverso l'analisi molecolare e morfologica delle piante ottenute tramite genome editing e cis-genesi per il tratto partenocarpico.

WP2 Inattivazione di PPO per ridurre l'imbrunimento in carciofo (ESTERNO)

Il carciofo è fonte di molecole bioattive di interesse nutraceutico e farmacologico ed in particolare di composti fenolici (acidi mono- e di-caffeoilchinici). Quest'ultimi, tuttavia, a causa dell'attività degli enzimi polifenolossidasi (PPO) sono soggetti ad ossidazione, determinando l'imbrunimento delle brattee esterne ed interne del capolino. Tale fenomeno si verifica sia durante la conservazione del capolino intero che a seguito del suo taglio, ed ha un impatto negativo sulla qualità del prodotto sia per il consumo fresco che per la sua trasformazione industriale.

Grazie alla recente disponibilità della sequenza del genoma di carciofo, verranno identificati i geni delle polifenolossidasi (PPO) responsabili del marcato imbrunimento del capolino di carciofo, verrà condotto uno studio di espressione di tali geni e ne verranno identificate le varianti alleliche in una collezione rappresentativa del germoplasma italiano. I geni di identificati saranno clonati in vettori plasmidici e verranno prodotti costrutti per studi di genomica funzionale. Inoltre, verrà messo a punto un approccio di genome editing (creazione di costrutti CRISPR/Cas9) per lo sviluppo di un sistema di inattivazione/modulazione dei geni PPO, finalizzato ad eliminare/ridurre il fenomeno dell'imbrunimento dei tessuti, e verranno valutati diversi protocolli per ottimizzare la rigenerazione 'in vitro' di plantule di carciofo da espianti somatici.

WP3 Ottenimento di resistenza duratura a *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* (Fomg) in melanzana

Le principali cultivar di melanzana e tutti gli ecotipi e varietà locali Italiane di melanzana sono sensibili a fusariosi, una malattia emergente il cui agente (*Fusarium oxysporum* f.sp. *melongenae*-Fomg) pur già presente nei suoli italiani, inciderà ulteriormente sulla produzione in uno scenario di futuri cambiamenti climatici (tropicalizzazione delle regioni temperate). Il fungo può persistere per molti anni nel terreno, pertanto la comune pratica della rotazione non è sufficiente a ridurre in modo significativo l'incidenza della malattia. Da qui la necessità di ricorrere a pratiche dispendiose come l'utilizzo di portainnesti od interventi con fungicidi. Negli anni scorsi il carattere di resistenza a *Fusarium* è stato introgresso in melanzana da specie selvatiche affini.

La caratterizzazione fine del binomio melanzana-Fomg è di essenziale importanza per individuare le basi molecolari per il controllo della malattia. Pertanto, si procederà sia tramite caratterizzazione della variabilità genetica del patogeno e la ricerca dei suoi determinanti di

patogenicità, sia tramite isolamento in melanzana dei geni di resistenza, al fine di ottenere piante che possiedano una duratura resistenza al patogeno. Differenti isolati del fungo verranno collezionati, caratterizzati e testati su una collezione di linee di melanzana. Verrà effettuato un "Long Read Sequencing" di *Fomg*, seguito da assemblaggio *de novo* e confronto con il genoma di riferimento al fine di individuare i determinanti di patogenicità del fungo. Dal punto di vista dell'ospite, recentemente sono stati individuati in una popolazione biparentale di melanzana QTL associati a due tratti di completa (locus *Rfo-Sa1*, introgresso da *S. aethiopicum* nel parentale 305E40) e parziale (nel parentale maschile 67/3) resistenza a *Fomg*. Grazie alla recente disponibilità del genoma della linea 67/3, verranno identificati i geni responsabili dei tratti di parziale resistenza anche tramite lo sviluppo di una popolazione segregante *ad hoc*. Si procederà inoltre al ri-sequenziamento e all'assemblaggio *de novo* del parentale di mappa 305E40 unito alla tecnica Ren-seq capture e successiva analisi comparativa col genoma di riferimento di 67/3 per l'isolamento dei geni associati al tratto di resistenza totale. Analisi di genomica funzionale sarà condotta per identificare 2-3 geni target per la messa a punto di costrutti cis-genici e di genome editing mediante il sistema CRISPR/Cas9 per l'ottenimento di piante resistenti a *Fomg*. La disponibilità dei geni di resistenza totale e parziale consentirà anche di sviluppare marcatori molecolari per assistere il loro inserimento in un unico genotipo per l'ottenimento di resistenza durevole a Fusarium.

Articolazione del sottoprogetto in Work Package e Task

WP-1: Induzione di partenocarpia in melanzana

Task 1.1: Analisi bioinformatica.

Task 1.2: Clonaggio e caratterizzazione di geni inibitori dell'allegazione (ESTERNO)

Task 1.3: Preparazione dei costrutti per silenziare ed over-esprimere i geni di interesse (ESTERNO)

Task 1.4: Clonaggio e caratterizzazione di geni coinvolti nello sviluppo dell'ovulo (ESTERNO)

Task 1.5: Preparazione dei costrutti per silenziamento di STK (ESTERNO)

Task 1.6: Ottenimento di piante cis-geniche ed editate

Task 1.7: Analisi fenotipica

WP-2: Inattivazione di PPO per ridurre l'imbrunimento in carciofo (ESTERNO)

Task 2.1: Analisi bioinformatica

Task 2.2: Studio varianti alleliche

- Task 2.3: Rigenerazione in vitro
- Task 2.4: Analisi espressione genica
- Task 2.5: Costruzione di vettori
- Task 2.6: Ottenimento di calli editati
- Task 2.7: Analisi biochimica e funzionale

WP-3: Ottenimento di resistenza duratura a *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* (Fomg) in melanzana

- Task 3.1: Ottenimento e caratterizzazione di una collezione di isolati di Fomg, analisi della variabilità genetica e della differente patogenicità in diverse accessioni di melanzana.
- Task 3.2: Sviluppo di un sistema veloce per lo screening delle linee resistenti a Fomg
- Task 3.3: Identificazione di determinanti di patogenicità mediante long-read sequencing di 2-4 isolati di Fomg, de novo assembly, annotazione e comparazione col genoma di riferimento.
- Task 3.4: Isolamento dei geni (e dei loro promotori) associati al carattere di resistenza totale a Fomg del locus Rfo-Sa1 mediante long-read sequencing del parentale 305E40, de novo assembly seguito da Ren-seq capture e comparazione col genoma di riferimento.
- Task 3.5: Isolamento dei geni (e dei loro promotori) associati al carattere di resistenza parziale a Fomg tramite DNA e cDNA RenSeq ed utilizzo di una popolazione segregante ad hoc per lo studio del tratto di resistenza parziale a Fomg derivante da 67/3.
- Task 3.6: Identificazione dei geni target da utilizzare per approcci di cisgenesi e genome editing mediante analisi funzionale tramite silenziamento per iRNA in linee resistenti dei geni isolati nei task T3.4 e T3.5.
- Task 3.7: Sviluppo di marcatori molecolari associati ai geni di resistenza totale e parziale per la selezione rapida dei genotipi resistenti.
- Task 3.8: Sviluppo dei costrutti cisgenici per l'overespressione dei geni di resistenza e/o di genome editing per il silenziamento dei geni di suscettibilità al patogeno sulla base delle sequenze dei geni/promotori isolati in T3.4 e T3.5 e dei risultati degli esperimenti di iRNA in T3.6,
- Task 3.9: Ottenimento di linee di melanzane cisgeniche e/o editate e screening per la resistenza.

Articolazione temporale

Anno	1												2												3														
Quadrimestre	I			II			III			IV			I			II			III			IV			I			II			III			IV					
Mese	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
WP 1	[Shaded]																																						
Task 1.1	[Shaded]																																						
Task 1.2	[Shaded]																																						
Task 1.3	[Shaded]																																						
Task 1.4	[Shaded]																																						
Task 1.5	[Shaded]																																						
Task 1.6	[Shaded]																																						
Task 1.7	[Shaded]																																						
WP 2	[Shaded]																																						
Task 2.1	[Shaded]																																						
Task 2.2	[Shaded]																																						
Task 2.3	[Shaded]																																						
Task 2.4	[Shaded]																																						
Task 2.5	[Shaded]																																						
Task 2.6	[Shaded]																																						
Task 2.7	[Shaded]																																						
WP 3	[Shaded]																																						
Task 3.1	[Shaded]																																						
Task 3.2	[Shaded]																																						
Task 3.3	[Shaded]																																						
Task 3.4	[Shaded]																																						
Task 3.5	[Shaded]																																						
Task 3.6	[Shaded]																																						
Task 3.7	[Shaded]																																						
Task 3.8	[Shaded]																																						
Task 3.9	[Shaded]																																						

Sotto-progetto: GEO

Genome editing per il miglioramento della resistenza di *Ocimum basilicum* a *Peronospora belbahrii*

WP1 Analisi del trascrittoma di basilico durante le fasi di infezione della pianta con *Peronospora belbahrii*.

L'attività è indispensabile per acquisire le conoscenze di base su cui si opererà con il genome editing nella sua versione meno invasiva: la mutagenesi sito specifica.

Sequenziamento del trascrittoma di *O. basilicum*. Il database di trascritti di basilico, programmato per identificare geni differenzialmente espressi durante il processo di infezione di *P. belbahrii* su una cv (tipologia Genovese), è fondamentale per individuare geni coinvolti nel processo di resistenza e procedere ad interventi specifici di genome editing per indurre resistenze. Le foglie di basilico su cui effettuare il trascrittoma verranno prelevate durante le tre fasi tipiche di sviluppo della malattia, indotta a seguito di inoculazione artificiale: fase biotrofa, fase necrotrofa e fase di passaggio tra le due. I tempi tra infezione e prelievo verranno stabiliti in seguito a tests specifici definiti in Zuluaga et al.,2016 (Molecular Plant Pathology, 17 (1) 42-54). Verranno inoltre prelevate foglie trattate con il solo tampone di infezione allo stesso tempo del prelievo delle foglie in fase biotrofa (controllo non infetto). Dai quattro campioni verrà estratto l'RNA e gli RNA non trascritti (siRNA, mRNA, ecc). Saranno costituite 4 librerie non normalizzate, utilizzate per il sequenziamento con il metodo Illumina presso Azienda specializzata.

Analisi dei dati del sequenziamento. Le reads delle 4 librerie saranno processate per rimuovere gli adattatori ed eliminare quelle corte, poco informative e di bassa qualità. Le librerie saranno assemblate in un unico set di trascritti utilizzando il programma CLC Genomics Workbench 5.0 o programma analogo. Al fine di ottenere Gene Ontology (GO) terms, associati alle categorie di GO, processo biologico (BP), funzione molecolare (MF) e componente cellulare (CC), verrà utilizzato il programma Blast2GO. Gli unigenes (contigs ed i singletons rimanenti) saranno annotati utilizzando BLASTx verso il database non ridondante di proteine dell' NCBI utilizzando il programma Blast2GO v2.5 (<http://www.blast2go.org>). La funzione ANNEX sarà utilizzata per affinare l'annotazione. Per identificare le categorie di GO rappresentate in modo differenziato nelle 4 librerie, sarà utilizzato il "Fisher's exact test" di Blast2GO, applicando la "Multiple Testing Correction" (Benjamini and Hochberg,1995, Journal of the Royal Statistical Society Series B, Methodological: 289-300); a questo fine la libreria di foglie non infette sarà utilizzata come riferimento. Con il programma DESeq saranno identificati i trascritti differenzialmente espressi. Gli unigenes saranno confrontati con databases di geni di resistenza per identificare quelli

coinvolti nei processi di interazione pianta – patogeno e con database di geni di suscettibilità (Fawke et al., 2015, MMBR 79 (3), 263 – 280). Particolare attenzione sarà rivolta ai geni di suscettibilità agli Oomiceti (Fawke et al., 2016, Microbiology and Molecular biology Review, 79 (3): 263-280; Boevink et al., 2016, Molecular Plant, 9:636-638) target preferenziali della mutagenesi sito specifica per l'induzione di resistenze. Per verificare quali geni di basilico codificano per enzimi dei pathway metabolici, gli unigenes con Enzyme Commission (ECs) number saranno mappati su Kyoto Encyclopedia of Gene and Genome (KEGG) pathway database. Anche sui geni dei pathway metabolici è possibile intervenire con la mutagenesi sito specifica per migliorare la resistenza.

WP2 Ottimizzazione di protocolli di rigenerazione e micropropagazione da utilizzare per il genome editing.

I protocolli di rigenerazione *in vitro* e di micropropagazione sono indispensabili per le attività di genome editing

Rigenerazione da tessuti somatici. La rigenerazione da tessuti somatici è riportata in diverse pubblicazioni a partire da espianti fogliari e da ipocotili di diverse varietà di *Ocimum basilicum* (Phippen and Simon, 2000, In Vitro Cell. Dev. Biol., 36: 250-254; Gopi and Ponmurugan, 2006, J. of Biotechnology, 126:260-264; Siddique and Anis, 2008, Acta Physiol. Plant., 30:493-499; Verma et al., 2016, In Vitro Cell. Dev. Biol., 52:20-27). Nel task si prevede di ottimizzare l'efficienza di rigenerazione della cv in studio e di rendere il protocollo di rigenerazione utilizzabile per i successivi esperimenti di genome editing. A tal fine verranno utilizzati inizialmente i terreni di coltura già sperimentati e si procederà ad identificare terreni che garantiscano la migliore rigenerazione a partire da tessuti di piante conservate *in vitro* in condizioni asettiche. Poiché il basilico è una specie allogama, se necessario, all'interno della popolazione si individueranno le piante con la più elevata frequenza di rigenerazione per costituire cloni di piante da utilizzare al fine di ottimizzare i successivi esperimenti di genome editing. In parallelo ai protocolli di rigenerazione, verranno ottimizzati i protocolli di radicazione delle piante rigenerate *in vitro* e di ambientamento *in vivo* a partire dai protocolli degli autori sopra riportati.

WP3 Messa a punto di metodi per l'espressione transiente dei costrutti per il genome editing

L'espressione transiente dei costrutti per il genome editing abbinata alla mutagenesi sito specifica consente di ottenere piante migliorate senza integrazione di DNA esogeno.

Espressione transiente mediante *Agrobacterium tumefaciens*. *A. tumefaciens* è uno dei vettori più efficienti per l'integrazione di geni nel genoma di piante; per questo fine un gene marcatore selezionabile (es. resistenza ad un antibiotico) è aggiunto sul T-DNA in linkage al gene di interesse (GOI); dopo trasferimento del costrutto nella pianta, è applicata

una appropriata pressione di selezione (es. un antibiotico) per dare un vantaggio selettivo alle cellule transgeniche. In assenza di pressione di selezione, i geni trasfettati in pianta da *A. tumefaciens*, sono espressi in modo transiente per alcuni giorni (8-12), ma solo raramente si otterranno piante transgeniche. L'espressione transiente di CRISPR/Cas9 operata da *A. tumefaciens* è altamente efficiente e sufficiente a generare un elevato numero di cellule mutate da cui potranno essere rigenerate piante mutate in assenza di pressione di selezione. Al fine di mettere a punto il sistema di trasfezione transiente, geni marcatori (*GFP*, *GUS*) saranno inseriti nel plasmide pGreen sotto promotori ottimizzati per le dicotiledoni. pGreen sarà trasferito in *A. tumefaciens* (strain AGL1) (Lazo *et al.*, 1991. *BioTechnology* 9, 963-967), contenente il plasmide helper pSoup essenziale per la replicazione di pGreen (Hellens *et al.*, 2000. *Plant Mol. Bio.* 42: 819-832), usando la metodologia di An (1987. *Methods in Enzymology* 153, 292-305). Sulla base delle esperienze ottenute nel Task 2.1, l'efficacia di trasfezione di *A. tumefaciens* sarà saggiata su foglie, callo ed eventualmente direttamente su semenzali mediante co-coltivazione con o senza applicazione di impulsi di vuoto. Dopo 2-3 giorni dalla co-coltivazione il tessuto sarà trasferito su terreno per l'induzione di callo o di rigenerazione/propagazione contenente cefotaxime per prevenire la crescita del batterio. L'efficienza di trasfezione transiente dei geni marcatori sarà effettuata con saggi fluorimetrici / istochimici entro 8- 12 giorni dalla cocoltivazione.

Espressione transiente mediante peptidi di transito. In modo analogo a quanto avviene con *A. tumefaciens*, i costrutti per il genome editing possono essere trasfettati nelle cellule mediante peptidi di transito [Transit Peptides (TP) conosciuti anche come cell penetrating peptides (CPPs),] in grado di attraversare le membrane cellulari (e la parete cellulare, nel caso di piante), sia da soli sia associati ad altre sostanze a loro legate come ad esempio proteine, DNA, RNA, proteine associate ad acidi nucleici (PNAs, riboproteine), liposomi e nano materiali (Madani *et al.*, 2011. *Journal of Biophysics*, doi: 10.1155/2011/414729). I plasmidi contenenti geni marcatori sotto il controllo di promotori ottimizzati per le dicotiledoni saranno mescolati con peptidi di transito di diversa composizione ed a diverse concentrazioni. Dopo incubazione per un'ora a 37 °C il miscuglio sarà somministrato a tessuti fogliari calli o meristemi/germogli. Per facilitare l'infiltrazione del tessuto sarà applicato il vuoto per 30 secondi. I calli ed i meristemi/germogli verranno trasferiti su appropriato mezzo di coltura a 37 °C per 24 ore e successivamente trasferiti a 23 ±1°C per 10 giorni. Successivamente il materiale verrà trasferito su terreno di rigenerazione/propagazione. L'efficienza di trasfezione transiente dei geni marcatori sarà effettuata con saggi fluorimetrici/istochimici entro 8-12 giorni dalla cocoltivazione. Analogamente alla trasfezione di plasmidi verrà effettuata la trasfezione di proteine (*GFP*, *GUS*) e valutata l'efficacia del protocollo con saggi fluorimetrici/istochimici. L'utilizzazione dei TP per il trasferimento in cellule di Cas9 associata al gRNA (riboproteina) permette di effettuare la

mutagenesi sito specifica evitando il trasferimento nelle cellule di DNA ed avendo, di conseguenza, l'assoluta garanzia di non produrre OGM.

WP4 Genome editing di geni di basilico

Rappresenta l'attività finale dell'intero progetto.

Costruzione dei gRNA e valutazione della loro efficacia. I siti per effettuare la mutagenesi sito specifica verranno identificati con il software grRNA designer (Doench, 2016, Nat. Biotechnol., 32 (12): 1262-7) sulla base delle sequenze dei geni target di basilico (geni di suscettibilità ed anche geni dei pathway metabolici). La sequenza target sarà assemblata con lo scaffold dell'RNA per formare il gRNA. La quantità necessaria di ciascun gRNA da valutare sarà prodotta, per mezzo di Guide-it *in vitro* transcription kit (Clontech). L'efficacia dei gRNA prodotti sarà valutata *in vitro*, prima degli esperimenti *in vivo*, per mezzo di Guide-it gRNA screening kit (Clontech). A tal fine, i templati contenenti il sito target della mutagenesi saranno sintetizzati mediante PCR e combinati con il gRNA e la proteina CAS9 purificata. L'atteso taglio del template sarà visualizzato mediante elettroforesi su gel. Saranno valutati diversi siti di taglio per ciascun gene bersaglio.

Strumenti per il genome editing. I costrutti utilizzati (Dong et al., 2014 BMC Plant Biol. 29; 14:327) sono disponibili presso Addgene (www.addgene.org). Sono ingegnerizzati in plasmidi pGreen e pCAMBIA. L'espressione del gRNA e di CAS9 è ottimizzata per le dicotiledoni con opportuni promotori. Per poterli adattare alla mutagenesi di specifici geni è richiesta la restrizione del sito BsaI per inserire in esso il frammento del gRNA complementare al sito da mutagenizzare. Sarà utilizzata a tal fine la strategia Golden gate (Engler et al., 2008, PLoS ONE, 3 (11) e3647. doi:10.1371/journal.pone.0003647) per clonare in un singolo passaggio la sequenza target in posizione adiacente all'RNA scaffold. I costrutti finali possono contenere uno o più gRNA e quindi potranno essere mutati più geni contemporaneamente. Il plasmidi pGreen ingegnerizzato come sopra indicato potrà essere utilizzato per la trasfezione mediata sia da *A. tumefaciens* sia da TP. Per la produzione della proteina CAS9 funzionale nelle piante, la preparazione della riboproteina e per trasfezione si seguirà il protocollo proposto da Ramakrishna et al., 2014, Genome Research, 24:1020-1027.

Verifica molecolare *in vivo* dell'avvenuta mutagenesi ed identificazione delle piante mutate. Alcuni giorni dopo la trasfezione mediante *A. tumefaciens* o peptidi di transito, il DNA genomico sarà estratto con apposito kit da calli o meristemi/germogli. Su tale DNA, verranno effettuate PCR utilizzando primers fiancheggianti il sito target. Il prodotto di PCR verrà o digerito con appositi enzimi ed i frammenti separati su gel o sottoposto all'analisi della curva di melting per verificare la presenza di eventuali mutazioni. Per ridurre l'ammontare di DNA non mutato verrà effettuata una enrichment PCR. Il prodotto della PCR verrà clonato in plasmidi ed inviato al sequenziamento.

Per l'identificazione delle piante mutate verranno utilizzati i metodi di analisi previsti per l'identificazione di cellule mutate. Per facilitare lo screening di numerose piante si procederà all'analisi di pools di 10 piante. Nel caso sia evidenziata la presenza di mutazioni in un pool, le piante del pool verranno analizzate singolarmente. Le piante rigenerate che portano mutazioni a carico di geni di suscettibilità a *Peronospora belbahrii* verranno allevate fino a maturità e saggiate per verificare eventuali resistenze.

Controllo di integrazioni indesiderate. Il controllo di integrazioni indesiderate di DNA nelle piante mutagenizzate, sebbene un evento raro, verrà effettuato mediante AL-PCR sulle piante ottenute in seguito a trasfezione di plasmidi con *A. tumefaciens* o TP (Zheng et al., 2001, Transgenic Res., 10: 237-245) Si tratta di una tecnica basata sui seguenti passaggi: digestione del DNA della pianta sotto analisi con un enzima che taglia una sola volta nel frammento che potrebbe essere stato integrato; ligazione di adattatori ai frammenti ottenuti; amplificazioni nested con primers costruiti sugli adattatori; sequenziamento dei frammenti amplificati. Le piante ottenute mediante trasfezione della riboproteina CAS9-gRNA con TP non necessiteranno della verifica delle integrazioni indesiderate di DNA.

Resistenza delle piante mutagenizzate. Verrà valutata in ambiente confinato a confronto con piante non mutagenizzate, in presenza di piante infette e di condizioni permissive alla diffusione della malattia. A tal fine verrà predisposta una griglia di valutazione che tenga conto sia della gravità dei sintomi sia del ritardo della comparsa.

Articolazione del sottoprogetto in Work Package e Task

WP-1: Analisi del trascrittoma di basilico durante le fasi di infezione della pianta con *Peronospora belbahrii*.

Task 1.1 Sequenziamento del trascrittoma di *O. basilicum*.

Task 1.2 Analisi dei dati del sequenziamento.

WP-2: Ottimizzazione di protocolli di rigenerazione e micropropagazione da utilizzare per il genome editing.

Task 2.1: Rigenerazione da tessuti somatici.

WP-3: Messa a punto di metodi per l'espressione transiente dei costrutti per il genome editing

Task 3.1: Espressione transiente mediante *A. tumefaciens*

Task 3.2: Espressione transiente mediante peptidi di transito.

WP-4: Genome editing di geni di basilico

Task 4.1: Costruzione dei gRNA e valutazione della loro efficacia.

Task 4.2: Strumenti per il genome editing.

Sotto-progetto: Wh-ITALY

NBT (New Breeding Techniques) per il Miglioramento Sostenibile del Frumento

WP1 Qualità globale ed effetti benefici

Presso il CREA-CI è stato isolato un gene che codifica per una ω -secalina contenente un decapeptide protettivo (pRPQ: QQPQRPPQQPF) (De Vita et al. 2012 *Journal of Cereal Science* 55 234e242). L'introduzione di questa sequenza gliadinica in nuove linee di frumento offrirà una nuova strategia terapeutica per il CD. Poiché il rapporto tra sequenza protettiva e sequenze del glutine che causano CD è sbilanciato a favore di queste ultime, costrutti per il genome editing verranno preparati per inserire la variante del peptide protettivo (pRPQ) nelle gliadine di frumento duro. Il costrutto utilizzato per il genome editing verrà quindi eliminato dal genoma mediante ricombinazione.

WP2 Sostenibilità

Il WP2 affronta l'incremento della sostenibilità della coltura del frumento anche in vista dei patogeni emergenti e della combinazione di stress diversi favoriti dai cambiamenti climatici, mediante l'ottenimento di varianti editate e cisgenici di geni per la resistenza a ruggine fogliare e a stress abiotici multipli (sicchezza, elevate temperature, freddo, sommersione). Dopo le iniziali analisi bioinformatiche per il reperimento della sequenza del gene completo di frumento, costrutti cisgenici verranno preparati per l'inserimento mediante tecnologie di rasformazione pulita marker-free della variante resistente del gene Lr67 in varietà di frumento duro altamente produttive, ma suscettibili alle ruggini. Tale gene, già indicato come "magic gene", mediante la modifica del tenore in esosi nell'apoplasto conferisce una resistenza durevole e ad ampio spettro nei confronti di ruggine fogliare e ruggine striiforme, oltre all'oidio (Moore et al. 2015 *Nature Genetics* 47, 1494-1498). Costrutti per il genome editing verranno preparati per indurre nuove varianti nei fattori di trascrizione ERF appartenenti al gruppo VII, in grado di conferire resistenza a stress abiotici multipli in frumento. Il costrutto utilizzato per il genome editing verrà quindi eliminato dal genoma mediante ricombinazione

WP3 Analisi bioinformatiche ed attività comuni di supporto

Nel WP3 saranno eseguite tutte le necessarie attività di bioinformatica, di biologia molecolare e di valutazione dei risultati. In particolare, verranno disegnati gli RNA a singola guida per la preparazione dei costrutti individuando, all'interno delle sequenze di interesse del complesso genoma del frumento, i siti bersaglio della nucleasi Cas9, e verranno anche individuati i potenziali siti off-target dell'endonucleasi RNA-guidata Cas9. Verrà quindi eseguita un'attenta analisi a posteriori degli

esperimenti di genome editing caratterizzando e quantificando eventi di inserzione, delezione e ricombinazione omologa, nonché eventuali modificazioni off-target. Infine, in accordo con gli obiettivi complessivi di progetto, e nel rispetto della normativa vigente, il CREA effettuerà l'allevamento, valutazione dei risultati sui caratteri, e riproduzione delle piante selezionate. Verranno altresì disseminati in maniera trasparente i risultati prodotti e lo stato dell'avanzamento delle ricerche non solo su riviste scientifiche, ma anche su siti web specifici, social networks, ed in incontri pubblici.

Articolazione del sottoprogetto in Work Package e Task

WP-1: Qualità globale ed effetti benefici

Task 1.1: Produzione di mutanti gliadinici mediante approcci di genome editing con inserimento di decapeptide protettivo nei confronti del morbo celiaco (CD)

WP-2: Sostenibilità

Task 2.1: Produzione di cisgenici per la resistenza durevole a patogeni fungini in frumento

Task 2.2: Produzione di mutanti e studi di genome editing in geni chiave per la tolleranza a stress abiotici multipli (ESTERNO)

WP-3: Analisi bioinformatiche ed attività comuni di supporto

Task 3.1: Disegno degli RNA a singola-guida, individuazione dei siti bersaglio della nucleasi Cas9 e dei potenziali siti off-target

Task 3.2: Analisi molecolari a posteriori degli esperimenti di cisgenesi e genome editing e valutazione finale degli effetti

Task 3.3: Disseminazione e comunicazione scientifica dei risultati

Articolazione temporale

Anno	1												2												3											
Quadrimestre	I			II			III			IV			I			II			III			IV														
Mese	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3									
WP 1																																				
Task 1.1																																				
WP 2																																				
Task 2.1																																				
Task 2.2																																				
WP 3																																				
Task 3.1																																				
Task 3.2																																				
Task 3.3																																				

Sotto-progetto: SusRice

Realizzazione di un nuovo ideotipo di pianta di riso con migliorata resilienza e sostenibilità tramite l'inserimento di caratteri che influenzano la adattabilità della coltura

WP1 Caratterizzazione dei tre geni target nei genotipi dotati degli alleli efficaci e in Vialone Nano

Per ognuno dei tre geni oggetto del lavoro (DRO1, IPA1 e NRT1.1B) verranno caratterizzate le sequenze sui genotipi di riso portatori dei caratteri favorevoli (Kinandang Patong per DRO1, Ri22 per IPA1, Nanjing 11, IR24 and Teqing per NRT1.1B). Tutte queste varietà sono state reperite da colleghi cinesi (Chinese Academy of Sciences, Beijing, Cina) e delle Filippine (International Rice Research Institute, IRRI, Metro Manila, Filippine). Il sequenziamento verrà condotto anche per Vialone Nano e le sequenze ottenute saranno tra loro confrontate per evidenziare le differenze alleliche e per confermare le sequenze bersaglio che saranno modificate mediante genome editing.

Le sequenze dei geni DRO1, IPA1 e NRT1.1B verranno inoltre ricercate mediante analisi bio-informatica delle banche dati disponibili per le due varietà di riso per le quali sono disponibili i genomi di riferimento utilizzati dalla comunità scientifica (Nipponbare e 9311).

WP2 Realizzazione di costrutti per genome editing e trasformazione cis-genica

Costrutti cisgenici verranno realizzati per il gene NRT1.1B che influenza la architettura della pianta: a tale scopo la sequenza del gene verrà ottenuta dalle varietà donatrici (Nanjing 11, IR24, Teqing) utilizzando procedure che consentono di non introdurre errori nelle sequenze ottenute. Il gene, incluse le sequenze regolatorie e di terminazione native, sarà introdotto in vettori che saranno usati per la trasformazione di Vialone Nano che conterrà quindi una sequenza del gene che consentirà di ottenere una architettura ottimale della pianta. Il costrutto batterico utilizzato per la trasformazione cisgenica verrà eliminato dal genoma mediante ricombinazione per autofecondazione.

Costrutti per il genome editing verranno preparati per: i) generare in Vialone Nano una variante del gene IPA1 che influenza positivamente la architettura della pianta. Modifiche verranno inserite in una regione del gene per eliminare una regolazione negativa della espressione del gene e permetterne una espressione adeguata in Vialone Nano; ii) generare in Vialone Nano una variante del gene DRO1 che influenza positivamente l'angolo di crescita delle radici. A tal fine verranno introdotte modifiche nella regione di regolazione che consentiranno di eliminare effetti negativi

sulla espressione del gene causati dall'ormone auxina ed ottenere una adeguata espressione in Vialone Nano.

I costrutti batterici utilizzati per il *genome editing* verranno eliminati dal genoma mediante ricombinazione per autofecondazione.

WP3 Trasformazione di Vialone Nano con i costrutti per genome editing e cis-genesi ed identificazione di linee portanti le modificazioni alleliche attese

I partners del progetto hanno dimostrata competenza in relazione alla trasformazione di calli di Vialone Nano mediata da Agrobatterio e successiva rigenerazione di questa varietà di riso, fornendo validi presupposti per la realizzazione delle attività presenti in questo WP.

Le linee rigeneranti ottenute saranno valutate per la presenza degli eventi cisgenici (gene NRT1.1B) e di genome editing (geni IPA1 e DRO1) desiderati.

Le piante di generazione T1 (quelle prodotte dai semi ottenuti dalle piante generate dal callo) saranno valutate per espressione dei geni oggetto del lavoro e per la presenza di ricombinazione tra gli eventi di cisgenesi/genome editing ed i costrutti batterici contenenti i marcatori di selezione in modo da ottenere piante marker-free.

Le piante T1 saranno autofecondate per incrementare la quantità di semi T2 che saranno utilizzati per le valutazioni del WP4.

WP4 Valutazione fenotipica delle linee ottenute e loro incrocio per ottenere accumulo di più caratteri favorevoli

Le piante ottenute dalle attività del WP3 saranno cresciute in condizioni controllate di serra insieme al Vialone Nano originale e saranno oggetto di valutazioni differenziate a seconda del carattere in analisi.

Per le linee in cui si sono introdotte modifiche per l'angolo di crescita delle radici (gene DRO1), verranno valutate le caratteristiche dell'apparato radicale e le performance delle piante (inclusa la resa produttiva e componenti della produzione) in condizioni di moderata disponibilità idrica.

Le linee modificate per la architettura della pianta (gene IPA1) saranno valutate morfologicamente per la verifica della architettura ideale, per la produzione e componenti della produzione.

Le linee modificate per la efficienza di uso dell'azoto (gene NRT1.1B) verranno valutate in coltura idroponica per le loro performance (inclusa fenologia, resa e componenti della resa) a diverse disponibilità di nitrato.

Analisi della espressione dei geni oggetto di studio verranno condotte in diversi tessuti, diversificati a seconda del carattere in studio.

Verranno infine condotti incroci classici tra le linee ottenute per ottenere l'accumulo di più caratteri favorevoli in una medesima pianta.

WP5 Trasferimento delle tecnologie/applicazione dei risultati

Un registro dettagliato delle procedure e problematiche emerse nel corso delle attività verrà redatto da tutte le persone implicate nel progetto, anche considerando gli avanzamenti tecnici negli approcci che emergeranno nel corso dei lavori. Questo consentirà di avere protocolli applicativi per il trasferimento delle procedure in applicazioni su altre varietà o per altri caratteri bersaglio in riso.

Le attività di coordinamento prevederanno la comunicazione degli obiettivi del progetto agli stakeholders che includono agricoltori, associazioni di agricoltori, ditte sementiere tramite eventi organizzati ad hoc e open days organizzati annualmente dalle strutture CREA coinvolte nel progetto.

Articolazione del sottoprogetto in Work Package e Task

WP-1: Caratterizzazione dei tre geni target nei genotipi dotati degli alleli efficaci e in Vialone Nano

Task 1.1: Verifica della variabilità allelica dei tre geni target (IPA1/OsSPL14 che influenza la architettura della pianta, DRO1 che influenza la crescita delle radici e NRT1.1B che influenza la efficienza di utilizzazione del nitrato) nei donatori e in Vialone Nano

Task 1.2: Ottenimento delle sequenze dei geni target dai genomi di riferimento Nipponbare e 9311

WP-2: Realizzazione di costrutti per genome editing e trasformazione cis-genica

Task 2.1: Realizzazione di costrutti genici per la trasformazione stabile e cis-genica del gene NRT1.1B e per il genome editing dei geni OsSPL14/IPA1 e DRO1 (ESTERNO)

Task 2.2: Trasformazione di ceppi idonei di *Agrobacterium tumefaciens* con i costrutti realizzati (ESTERNO)

WP-3: Trasformazione di Vialone Nano con i costrutti per genome editing e cis-genesi ed identificazione di linee portanti le modificazioni alleliche attese

Task 3.1: Trasformazione di calli embrionici di riso della varietà Vialone Nano con i costrutti generati (ESTERNO)

Task 3.2: Analisi dei geni target nelle piante di riso rigenerate, selezione delle linee con alleli favorevoli e analisi della espressione genica

Task 3.3: Screening delle piante selezionate per la identificazione di linee con ricombinazione tra allele modificato e marker di selezione (identificazione di linee marker free)

Task 3.4: Implementazione della quantità di seme delle linee selezionate

WP-4: Valutazione fenotipica delle linee ottenute e loro incrocio per ottenere accumulo di più caratteri favorevoli

Task 4.1: Le linee selezionate saranno valutate in condizioni di serra per verificare il fenotipo conferito dagli alleli modificati

Task 4.2: Analisi della espressione dei geni target per valutare differenze tra le linee ottenute e Vialone Nano

Task 4.3: Esecuzione di incroci tra le linee selezionate per ottenere accumulo di caratteri favorevoli in un singolo genotipo

WP-5: Trasferimento delle tecnologie/applicazione dei risultati

Task 5.1: Produzione di protocolli dettagliati su procedure, problemi, possibili miglioramenti per rendere possibile la applicazione routinaria delle procedure per altri caratteri in riso

Articolazione temporale

Anno	1												2												3											
Quadrimestre	I			II			III			IV			I			II			III			IV			I			II			III			IV		
Mese	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
WP 1																																				
Task 1.1																																				
Task 1.2																																				
WP 2																																				
Task 2.1																																				
Task 2.2																																				
WP3																																				
Task 3.1																																				
Task 3.2																																				
Task 3.3																																				
Task 3.4																																				
WP 4																																				
Task 4.1																																				
Task 4.2																																				
Task 4.3																																				
WP 5																																				
Task 5.1																																				

Sotto-progetto: VITECH

Biotechnologie applicate al miglioramento genetico della vite per incrementare sostenibilità e competitività della filiera

WP1 Miglioramento genetico della vite da vino per la resistenza ai funghi

Sulla base delle informazioni disponibili in letteratura o provenienti da studi in corso, saranno selezionati uno o due geni per la resistenza a peronospora e/o oidio tra quelli già isolati e caratterizzati (es. Rpv1 e Rpv3 per peronospora; Run1 e Ren1 per oidio). Successivamente, verranno messi a punto e validati diversi costrutti cisgenici per la trasformazione stabile di colture embriogeniche di vite a partire da almeno una varietà da vino di interesse commerciale. Inoltre, sarà condotta l'analisi fine di un QTL noto per la resistenza a peronospora o oidio, non completamente caratterizzato, allo scopo di restringere il numero dei geni candidati responsabili del carattere in esame. Uno o pochi dei geni selezionati verranno caratterizzati funzionalmente per *knockout*, tramite *genome editing*.

WP2 Miglioramento genetico della vite da tavola per l'apirenia

Saranno disegnati e preparati alcuni costrutti plasmidici (CRISPR/CAS9) necessari all'editing del gene *VvAGL11*, un fattore di trascrizione appartenente alla famiglia dei MADS-box, responsabile della stenospermocarpia. Le modifiche riguarderanno la varietà Italia e un'altra delle varietà con seme fra le più coltivate nel nostro Paese (es. Victoria, Michele Palieri, Red Globe). Sulla base di conoscenze consolidate e studi in corso si procederà a trasferire il carattere dell'apirenia seguendo due approcci: i) trasferendo una porzione della regione regolatoria del gene; ii) modificando direttamente gli SNP causali identificati all'interno della regione regolatoria del gene. La trasformazione stabile delle varietà da migliorare avverrà su calli embriogenici e meristemi apicali, tramite agrobatterio. La selezione dei trasformanti avverrà tramite analisi di sequenza e saggi qPCR.

WP3 Miglioramento genetico dei portinnesti per la tolleranza allo stress idrico

Saranno utilizzate le informazioni genomiche, molecolari, biochimiche e fisiologiche, già disponibili per alcuni portinnesti maggiormente tolleranti allo stress idrico, per isolare uno o pochi geni candidati per la tolleranza allo stress idrico e successivamente trasferirli, mediante tecniche di cisgenesi, in altri portinnesti d'interesse per la viticoltura italiana (es. 101.14, 1103P). L'ottenimento di plantule di portinnesto stabilmente trasformate prevederà la produzione e il mantenimento di colture embriogeniche dei portinnesti oggetto di studio. Le plantule cisgeniche eventualmente ottenute saranno micropropagate e valutate in condizioni di stress idrico.

Articolazione del sottoprogetto in Work Package e Task

WP-1: Miglioramento genetico della vite da vino per la resistenza ai funghi

Task 1.1: Identificazione dei geni di resistenza da utilizzare per cisgenesi e genome editing (ESTERNO).

Task 1.2: Trasferimento per cisgenesi di almeno un gene di resistenza a peronospora e/o oidio

Task 1.3: Propagazione delle plantule e verifica delle modificazioni introdotte.

Task 1.4: Knockout di geni putativamente coinvolti nella resistenza tramite genome editing.

WP-2: Miglioramento genetico della vite da tavola per l'apirenia

Task 2.1: Colture in vitro a partire da tessuti delle varietà di interesse.

Task 2.2: Design dei costrutti plasmidici per il genome editing.

Task 2.3: Agroinfiltrazione e trasformazione. (attività in collaborazione non onerosa con il Dipartimento di Biotecnologie dell'Università di Verona, compensata da collaborazione CREA-UTV di pari valore su altro progetto).

Task 2.4: Selezione, sviluppo e valutazione delle plantule trasformate.

WP-3: Miglioramento genetico dei portinnesti per la tolleranza allo stress idrico (ESTERNO)

Task 3.1: Definizione e scelta del/i gene/i candidato/i

Task 3.2: Trasferimento per cisgenesi di almeno un gene per la tolleranza allo stress idrico.

Task 3.3: Fenotipizzazione in condizioni di controllo e di stress idrico.

Articolazione temporale

Anno	1												2												3														
Trimestre	I			II			III			IV			I			II			III			IV			I			II			III			IV					
Mese	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
WP1																																							
task 1.1																																							
task 1.2																																							
task 1.3																																							
task 1.4																																							
WP2																																							
task 2.1																																							
task 2.2																																							
task 2.3																																							
task 2.4																																							
WP3																																							
task 3.1																																							
task 3.2																																							
task 3.3																																							

Sotto-progetto: PIOPPINGENE

Miglioramento genetico innovativo di cloni di pioppo per impieghi in filiere produttive.

WP-1: Miglioramento genetico di cloni di pioppo per il contenuto in cellulosa e lignina.

Per la scelta dei geni coinvolti nella biosintesi della lignina (F5H, CAld5H e MYB221) da inserire in cloni di interesse (*P. nigra*, *P. alba* e *P. x canadensis*) tramite esperimenti di cisgenesi si fa riferimento ai risultati di studi di genomica funzionale in genotipi di pioppo. La regione codificante e le regioni regolative poste alle estremità 5' e 3' dei geni prescelti saranno clonate in vettori binari recanti siti di ricombinazione per la successiva eliminazione dei *marker* utilizzati per la selezione (pMF1).

Espianti fogliari ed internodi di cloni di *Populus* spp., mantenuti in condizioni ottimali *in vitro*, saranno prelevati e co-coltivati secondo protocolli già definiti con i ceppi di *Agrobacterium* (EHA105, LBA4404 e GV3101) contenenti vettori con le cassette di espressione dei geni F5H, CAld5H e MYB221. Tali espanti saranno successivamente allevati su substrati di rigenerazione già messi a punto presso l'Unità di ricerca PLF di Casale Monferrato. Le piantine rigenerate saranno sottoposte a trattamento specifico per l'excisione del *marker* e della ricombinasi, preventivamente inserita nel costrutto. Mediante un secondo ciclo di rigenerazione sarà possibile ottenere un congruo numero di piantine potenzialmente cisgeniche contenenti i geni di pioppo di interesse.

Per gli esperimenti di inattivazione mediante *genome editing* i geni target (CCoAOMT, C3H e 4CL) sono stati scelti in base a pregressi esperimenti di genomica funzionale in pioppo. Le regioni codificanti i suddetti geni saranno clonate e sequenziate dai cloni di pioppo che si intende modificare; le sequenze ottenute saranno utilizzate per disegnare gli RNA guida (sgRNA). A tale scopo si farà ricorso a strumenti bioinformatici disponibili on-line (sgRNA-designer; E-CRISP; ZiFiT Targeter) che consentono di ottimizzare la specificità della mutagenesi riducendo il rischio di 'off-targeting'. Le sequenze degli sgRNA progettati saranno inserite in appositi vettori per essere espressi contemporaneamente alla nucleasi Cas9. Per questo saranno utilizzati sia sistemi di espressione basati su *Agrobacterium* che sistemi di espressione transiente di sgRNA e Cas9 tramite vettori virali e tramite transfezione di protoplasti. Gli espanti utilizzati saranno coltivati su opportuni substrati per la rigenerazione di piantine potenzialmente modificate per i geni coinvolti nella biosintesi della lignina mediante *CRISPR/Cas*.

Le piante modificate mediante *genome editing* saranno rigenerate *in vitro*. Previo acclimatamento in ambiente controllato, saranno mantenute in serra fino al raggiungimento di un' altezza utile alle analisi per le mutazioni attese. La rigenerazione di piante mutagenizzate potrà essere

direttamente eseguita anche a partire dai protoplasti, in modo da potere ottenere subito piante mutate in assenza di ogni porzione di DNA esogeno. Evidenziate le mutazioni attese nelle piante rigenerate, si procederà ad ulteriori analisi per investigare la presenza o assenza di possibili mutazioni off-target mediante sequenziamento. Le piante di interesse verranno quindi fenotipizzate per i caratteri morfologici attesi tra cui la produzione di biomassa legnosa e il contenuto in lignina.

WP-2: Valutazione del materiale genetico ottenuto

Le piantine potenzialmente cisgeniche rigenerate *in vitro* saranno sottoposte ad analisi molecolari mediante PCR, utilizzando *primer* specifici per i geni inseriti (GA20ox, GA2ox2, AP2/ERF, F5H, CALd5H e MYB221) ed analisi Southern blot per la determinazione del numero di copie degli stessi. Inoltre, mediante iPCR (inverse PCR) si procederà alla caratterizzazione delle regioni genomiche fiancheggianti i siti di inserzione dei geni utilizzati.

Estratti di DNA ottenuti da porzioni di tessuto di piante rigenerate *in vitro* saranno sottoposti ad analisi molecolari mediante amplificazione con *primer* specifici per le regioni bersaglio dei geni selezionati. Successivamente si procederà al clonaggio e sequenziamento dei prodotti di amplificazione per la verifica dell'avvenuta mutazione.

Previa estrazione di RNA dalle piante rigenerate *in vitro*, a seguito di modifiche indotte mediante cisgenesi o *genome editing*, si procederà alla determinazione del livello di espressione dei geni inseriti o mutagenizzati, mediante PCR quantitativa a confronto con i genotipi di partenza considerati come controllo.

Le linee di pioppo modificate mediante cisgenesi o *genome editing*, ritenute potenzialmente più interessanti, saranno fatte radicare ed acclimate in ambiente controllato ai fini della loro valutazione fenotipica. L'indagine riguarderà le principali caratteristiche morfologiche dei diversi organi della pianta oltre al contenuto e composizione in cellulosa, emicellulosa e lignina. Le analisi biochimiche sui materiali ottenuti a seguito di cisgenesi e *genome editing* consentiranno la valutazione delle modifiche effettuate rispetto ai cloni di controllo non sottoposti ad alcuna modifica.

Articolazione del sottoprogetto in Work Package e Task

WP-1: Miglioramento genetico di cloni di pioppo per il contenuto in cellulosa e lignina.

Task 1.1: Clonaggio e sequenziamento di geni coinvolti nella biosintesi della lignina (ESTERNO)

Task 1.2: Trasformazione e rigenerazione di cloni di pioppo mediante cisgenesi.

Task 1.3: Inattivazione di geni mediante CRISPR/Cas

Task 1.4: Rigenerazione di piante modificate mediante CRISPR/Cas .

WP-2: Valutazione del materiale genetico ottenuto

Task 2.1: Analisi molecolare del DNA inserito mediante cisgenesi

Task 2.2: Accertamento e caratterizzazione molecolare delle modifiche indotte mediante "genome editing".

Task 2.3: Analisi dell'espressione genica nelle piante rigenerate.

Task 2.4: Valutazione fenotipica delle piante ottenute in ambiente confinato

Articolazione temporale

Anno	1												2												3											
Quadrimestre	I			II			III			IV			I			II			III			IV			I			II			III			IV		
Mese	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
WP 1	[Shaded]																																			
Task 1.1	[Shaded]																																			
Task 1.2	[Shaded]																																			
Task 1.3	[Shaded]																																			
Task 1.4	[Shaded]																																			
WP 2	[Shaded]																																			
Task 2.1	[Shaded]																																			
Task 2.2	[Shaded]																																			
Task 2.3	[Shaded]																																			
Task 2.4	[Shaded]																																			

Sotto-progetto: PATHORES

Plant pathogen studies for screening of disease resistance

WP1: valutazione della variabilità di agenti della peronospora della vite

Sarà istituita una collezione di isolati provenienti da diverse zone di coltivazione italiane. Saranno valutati diversi di metodi di conservazione degli isolati fungini, verificandone la vitalità e la patogenicità al fine di ampliare il periodo utile per la valutazione della resistenza. A tal fine saranno messi a punto di sistemi di inoculazione *in vitro* e in *semi-vivo* in serra ed in laboratorio e la loro efficacia sarà verificata mediante inoculazioni in pieno campo.

WP-2: caratterizzazione di isolati di *Venturia inaequalis* e interazione con la pianta ospite a supporto di programmi di breeding per la resistenza alla ticchiolatura del melo

Sarà effettuato un monitoraggio della presenza *V. inaequalis* in frutteti rappresentativi della coltivazione del melo in Italia al fine di sviluppare una collezione di isolati del fungo. Un set di isolati rappresentativi del patogeno sarà caratterizzato per la virulenza. Un isolato virulento di *V. inaequalis* sarà trasformato mediante introduzione del gene codificante per GFP ed utilizzato per l'analisi dell'infezione di cultivar resistenti e suscettibili della pianta ospite.

WP-3: screening di pero e melo per la resistenza ad *Erwinia amylovora*

Sarà allestita una collezione di ceppi *Erwinia amylovora* di recente individuazione rispetto alla popolazione clonale comprendente isolati da differenti specie della famiglia delle Rosacee (pero, melo, etc,) e di differente provenienza geografica (Emilia-Romagna, Lazio, Sardegna, Sicilia, Trentino Alto Adige, Friuli Venezia Giulia, Lombardia). La presenza di differenti aplotipi sarà valutata mediante Multilocus sequence analysis (MLSA). La virulenza dei ceppi prescelti sarà valutata mediante un test di *screening* già messo a punto presso il CREA-PAV. Se sarà necessaria la valutazione della resistenza di genotipi ottenuti mediante genome editing, questa sarà effettuata mediante adozione di protocolli di inoculazione *in vitro* e *in vivo* già standardizzati.

WP-4: indagini molecolari su resistenza/suscettibilità e virulenza/avirulenza nel patosistema *Pseudomonas syringae* – kiwi

Sarà effettuata l'analisi bioinformatica dei trascrittomi di kiwi già ottenuti presso il CREA-PAV e studi di analisi di espressione saranno mirati all'individuazione di geni coinvolti nei *pathways* di difesa del kiwi nei

confronti di *P. syringae*. Saranno effettuati saggi di inoculazione artificiale al fine di valutare i livelli di resistenza dei diversi cloni in presenza di differenti condizioni sperimentali. Ceppi batterici con diversi livelli di virulenza saranno caratterizzati con metodi molecolari.

WP-5: valutazione della resistenza all'oidio di germoplasma di *Vitis vinifera*

Sarà effettuato un monitoraggio di vigneti laziali per individuare quelli con sintomi di mal bianco da cui prelevare i conidi da utilizzare come fonte di inoculo. Verrà selezionata una popolazione di *Erysiphe necator* che sarà mantenuta in serra su una cultivar di *Vitis vinifera* altamente suscettibile. Saranno condotti biosaggi su dischetti fogliari in laboratorio e prove in serra per valutare la resistenza di barbatelle di vite trasformate geneticamente da altra U.O.

WP-6: trasferimento tecnologico/ applicazione dei risultati

Saranno effettuati incontri periodici con i responsabili dei WPs e interazione con i breeders dei diversi sistemi considerati. Nel corso del progetto saranno organizzati workshop tematici, open-day e attività di training. Sarà prevista l'organizzazione di un Convegno finale e la pubblicazione dei risultati scientifici ottenuti.

Articolazione del sottoprogetto in Work Package e Task

WP-1: valutazione della variabilità di agenti della peronospora della vite.

Task 1.1: valutazione della virulenza di isolati di peronospora della vite collezionati in diverse zone di coltivazione italiane.

Task 1.2: valutazione di metodi di conservazione dei diversi isolati fungini.

Task 1.3: messa a punto di sistemi di inoculazione *in vitro* e in *semi-vivo*.

WP-2: Caratterizzazione di isolati di *Venturia inaequalis* e interazione con la pianta ospite a supporto di programmi di breeding per la resistenza alla ticchiolatura del melo.

Task 2.1: Sviluppo di una collezione di isolati di *V. inaequalis* provenienti da frutteti italiani.

Task 2.2: Caratterizzazione della virulenza di un set di isolati rappresentativi di diverse popolazioni del patogeno.

Task 2.3: *Tagging* di un isolato virulento di *V. inaequalis* mediante introduzione del gene codificante per GFP ed utilizzo di questo per l'analisi dell'infezione di cultivar resistenti e suscettibili della pianta ospite.

WP-3: Screening di pero e melo per la resistenza ad *Erwinia amylovora*

Task 3.1: caratterizzazione degli aplotipi di ceppi *Erwinia amylovora* di recente individuazione rispetto alla popolazione clonale nota.

Task 3.2: selezione dei ceppi rappresentativi e determinazione della virulenza.

Task 3.3: selezione di germoplasma 'genome-edited' (prodotto da altri gruppi afferenti al progetto).

WP-4: Indagini molecolari su resistenza/suscettibilità e virulenza/avirulenza nel patosistema *Pseudomonas syringae* - kiwi

Task 4.1: Analisi bioinformatica dei trascrittomi di kiwi e studi di espressione mirati.

Task 4.2: Saggi di resistenza.

Task 4.3: Caratterizzazione di ceppi batterici con diversi livelli di virulenza.

WP-5: Valutazione della resistenza all'oidio di germoplasma di *Vitis vinifera*.

Task 5.1: Monitoraggio di vigneti laziali per individuare quelli con sintomi di mal bianco da cui prelevare i conidi da utilizzare come fonte di inoculo; mantenimento della popolazione di *Erysiphe necator* in serra su una cultivar di *Vitis vinifera* altamente suscettibile.

Task 5.2: Biosaggi su dischetti fogliari; prove in serra per valutare la resistenza di barbatelle di vite trasformate geneticamente da altra U.O.

Task 5.3: Ripetizione delle prove per la validazione dei risultati.

Task 5.4: Elaborazione statistica dei dati ottenuti e divulgazione.

WP-6 Trasferimento tecnologico/ applicazione dei risultati

Task 6.1: incontri periodici con i responsabili dei WPs e interazione con i *breeders* dei diversi sistemi considerati.

Task 6.2: organizzazione di workshop tematici, *open-day* e attività di *training*.

Task 6.3: organizzazione di un Convegno finale e pubblicazione risultati scientifici.

Articolazione temporale

Anno	1												2												3														
Quadrimestre	I			II			III			IV			I			II			III			IV			I			II			III			IV					
Mese	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3			
WP 1																																							

Sotto-progetto: WHEADIT

Approcci di genome editing per ottimizzare la performance dei cereali tramite il controllo dei pathway ormonali

WP1 Identificazione e caratterizzazione funzionale di geni chiave che regolano la resa in riso

Le attività previste all'interno di WP1 verranno svolte da un partner esterno. Tali attività riguardano i) l'analisi del trascrittoma condotta in modo tessuto e stadio specifico durante il differenziamento dell'infiorescenza e della cariosside in riso; ii) l'identificazione di geni candidati che svolgano un ruolo di controllo durante lo sviluppo dei tessuti analizzati e iii) la caratterizzazione funzionale dei geni selezionati. La caratterizzazione funzionale sarà svolta in modo dettagliato studiando i profili di espressione (qRT-PCR ed ibridazione in situ), i meccanismi di interazione proteina-proteina e proteina-DNA e la fenotipizzando mutanti nei geni candidati. Tali mutanti potranno essere identificati sia nelle popolazioni per inserzione già disponibili sia sviluppati ad-hoc utilizzando la tecnica del Genome Editing.

I risultati ottenuti all'interno di WP1 saranno fondamentali per operare un trasferimento di conoscenze dal riso, inteso come specie modello, al frumento duro. Frumento duro è infatti una specie tetraploide e questo è un fattore limitante sia per l'identificazione e la caratterizzazione funzionale di nuovi geni, sia per la loro modificazione. La possibilità di identificare nuovi geni regolatori dello sviluppo dell'infiorescenza e della cariosside in riso e di verificarne successivamente il loro ruolo in frumento duro procedendo all'editing dei migliori candidati sarà fondamentale per porre le basi per i successivi WP.

WP2 Studio dei trascritti che regolano la resa in frumento duro

L'obiettivo di WP2 è quello di descrivere il trascrittoma dell'infiorescenza e della cariosside di frumento duro a specifici stadi di sviluppo. Le attività previste all'interno di questo WP riguarderanno il sequenziamento di librerie di RNA messaggeri e di small-RNA. L'analisi e il confronto dei dati ottenuti da WP1 e WP2 permetteranno di identificare fattori chiave la cui trascrizione sia correlata a specifici tipi cellulari e stadi di sviluppo durante il differenziamento della spiga e della cariosside.

WP3 Studio dei metaboliti secondari che influenzano la resa in frumento duro

Le attività programmate all'interno di WP3 sono focalizzate alla descrizione delle variazioni di metaboliti secondari, principalmente ormoni, nei tessuti e negli stadi analizzati in WP2. In particolare si rivolgerà l'attenzione alla quantificazione e descrizione dei livelli ormonali, dei rapporti tra le concentrazioni dei diversi ormoni e la disponibilità di forme

attive e coniugate di auxine e citochinine. Tali fattori sono infatti determinanti nel modulare la crescita in risposta sia allo stadio di sviluppo che alle condizioni ambientali.

L'integrazione dei dati ottenuti da WP2 e WP3 fornirà un quadro dei fattori chiave che sono modulati durante lo sviluppo dell'infiorescenza e delle cariossidi e che sono influenzati o regolano l'equilibrio ormonale.

WP4 Identificazione di geni candidati

L'obiettivo di WP4 è quello di fornire una lista di geni candidati che operino come regolatori chiave durante il differenziamento dell'infiorescenza e delle cariossidi e la cui funzione sia modulabile tramite GE o cisgenesi. Tali geni saranno selezionati in base all'integrazione dei dati di genomica funzionale ottenuti all'interno di WP1 in riso e di trascrittomiche e metabolomiche sviluppati in WP2 e WP3. Oltre a tali geni, WP4 selezionerà un set di geni noti dalla letteratura ma tuttora non modificati tramite GE nei cereali.

WP5 Sviluppo di piante di orzo e frumento duro "edite"

WP5 è dedicato all'attività di GE. Saranno quindi preparati costrutti per modulare l'attività dei geni candidati identificati all'interno del progetto (WP1-4). La tecnologia di GE verrà applicata in frumento duro, a cura di un partner esterno, e in orzo al fine di testare alcuni costrutti in un genoma omologo a quello del frumento, ma diploide, una condizione geneticamente più semplice che consentirà una verifica preliminare del fenotipo.

Articolazione del sottoprogetto in Work Package e Task

WP-1: Identificazione e caratterizzazione funzionale di geni chiave che regolano la resa in riso (ESTERNO)

Task 1.1: Analisi di espressione stadio e tessuto specifica di geni candidati nella regolazione della struttura della pannocchia

Task 1.2: Preparazione di costrutti necessari per il silenziamento tramite Genome Editing dei geni selezionati nel task 1.1

Task 1.3: Trasformazione e analisi di piante di riso con i costrutti sviluppati nel task precedente

WP-2: Studio dei trascritti che regolano la resa in frumento duro

Task 2.1: Identificazione dei trascritti e degli small RNA coinvolti nello sviluppo dell'infiorescenza di frumento duro

Task 2.2: Identificazione dei trascritti e degli small RNA coinvolti nello sviluppo della cariossidi di frumento duro

Task 2.3: Selezione di geni candidati ottenuti dall'analisi dei task precedenti

WP-3: Studio dei metaboliti secondari che influenzano la resa in frumento duro

Task 3.1: Quantificazione stadio e tessuto specifica di auxine e citochinine durante lo sviluppo dell'infiorescenza in frumento duro

Task 3.2: Quantificazione stadio e tessuto specifica di auxine e citochinine durante lo sviluppo delle cariossidi

WP-4: Identificazione di geni candidati

Task 4.1: Integrazione dei dati ottenuti nei WP precedenti e identificazione di geni candidati nella regolazione della resa

Task 4.2: Selezione di geni candidati a partire dai dati disponibili in letteratura

WP-5: Sviluppo di piante di orzo e frumento duro "edite"

Task 5.1: Sviluppo di costrutti necessari per il silenziamento tramite Genome Editing di geni di frumento duro selezionati in WP4 (ESTERNO)

Task 5.2: Trasformazione di piante di frumento duro con i costrutti sviluppati nel task 5.1 (ESTERNO)

Task 5.3: Sviluppo di costrutti necessari per il silenziamento tramite Genome Editing di geni di orzo ortologi a quelli selezionati in WP4.

Task 5.4: Trasformazione di piante di orzo con i costrutti sviluppati nel task 5.3

Task 5.5: Analisi delle piante editate

Articolazione temporale

Anno	1												2												3											
Quadrimestre	I			II			III			IV			I			II			III			IV														
Mese	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3									
WP 1																																				
Task 1.1																																				
Task 1.2																																				
Task 1.3																																				
WP 2																																				
Task 2.1																																				
Task 2.2																																				
Task 2.3																																				
WP 3																																				
Task 3.1																																				
Task 3.2																																				
WP 4																																				
Task 4.1																																				
Task 4.2																																				
WP 5																																				

Sotto-progetto: SBEVAL

Valutazione dell'impatto economico, politico e sociale delle biotecnologie soft nell'agricoltura italiana

WP1 Valutazione economica ex ante

La valutazione economica, politica e sociale dell'introduzione delle colture ottenute applicando le moderne tecniche di breeding, trattandosi di cultivar non disponibili in commercio, è un problema di valutazione ex-ante. Di conseguenza essa dipende dalla definizione di una serie di ipotesi relative ai comportamenti degli attori economici e politici coinvolti, dal contesto agronomico e produttivo, dal quadro normativo e dalla sua prevista evoluzione. Il progetto quindi prevede la definizione degli scenari effettuando precise ipotesi su vari aspetti quali il contesto tecnico-agronomico, l'organizzazione della filiera, il quadro legislativo e successivamente la misurazione quali-quantitativa di una serie di indicatori.

WP2 Analisi della produzione brevettuale e soluzioni giuridiche

Il work package si propone di interrogare le banche dati brevettuali e identificare le domande di brevetto e dei brevetti già concessi pertinenti le biotecnologie in agricoltura e, sulla base di queste informazioni, identificare le possibili soluzioni di natura giuridica percorribili nel caso di identificazione di diritti di proprietà industriale di terzi ostativi alla protezione o sfruttamento.

Articolazione del sottoprogetto in Work Package e Task

WP-1: Valutazione dell'impatto economico, politico e sociale delle biotecnologie soft

Task 1.3: Definizione degli indicatori e dei dati necessari alla loro misurazione

Task 1.4: Definizione degli scenari e valutazione dell'impatto

Task 1.5: Modelli econometrici per l'analisi dell'impatto (ESTERNO)

Task 1.6: Disseminazione dei risultati

WP-2: Analisi della produzione brevettuale e soluzioni giuridiche (ESTERNO)

Task 2.1: Investigazione delle banche dati brevettuali e identificazione delle domande di brevetto e dei brevetti già concessi pertinenti le biotecnologie in agricoltura

Task 2.2: Identificazione di possibili soluzioni di natura giuridica percorribili nel caso di identificazione di diritti di proprietà industriale di terzi ostativi alla protezione o sfruttamento

Progetto

AgriDigit AGRICOLTURA DIGITALE

Sintesi del progetto

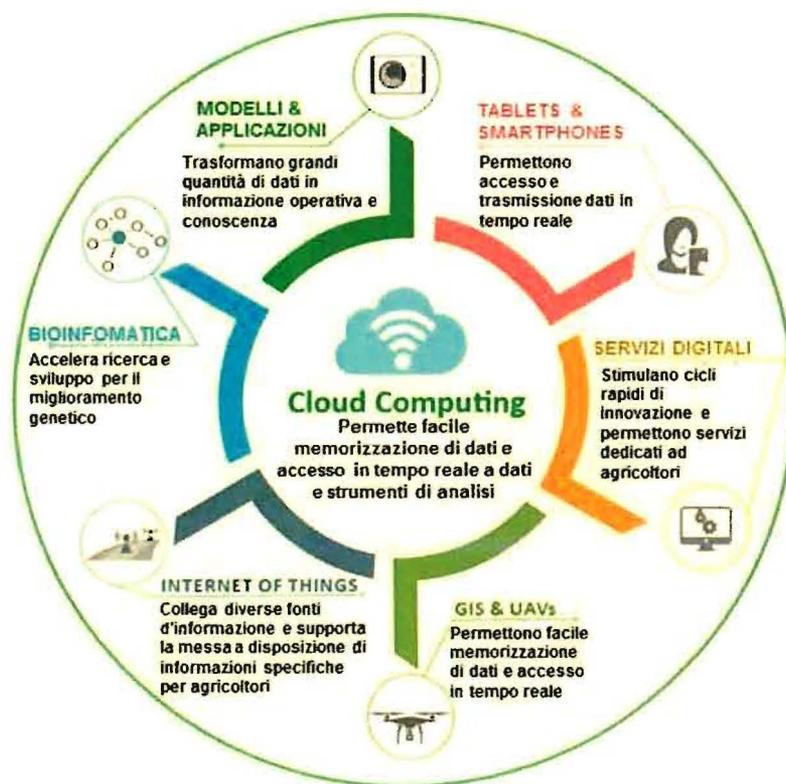
Lo sviluppo prorompente delle innovazioni impiegabili nel campo dell'agricoltura digitale, pur nella attuale caoticità delle singole proposte, ha evidenziato la possibilità di un cambiamento di paradigma nella impostazione produttiva dell'azienda agraria e dei territori, raccordando la fase produttiva con la trasformazione sino a raggiungere il consumatore.

Siamo molto probabilmente all'alba di una rivoluzione delle scienze agrarie che segnerà una fondamentale evoluzione dell'agricoltura moderna, indotta dalla necessità di un incremento di efficienza, da una ritrovata consapevolezza della complessità delle tematiche e da un accresciuto rispetto per l'uomo, il cibo, l'ambiente ed il clima.

Il nuovo paradigma scaturisce così dalle innumerevoli innovazioni disponibili che permettono di aumentare in tempo reale le conoscenze e conseguentemente le proprie capacità professionali.

Sotto il nome di Agricoltura 4.0 si può identificare quel complesso di ausili tecnologici e formativi che inducono una conoscenza ed una intelligenza aumentata, di cui devono poter disporre tutti, in qualsiasi luogo e per qualsiasi segmento produttivo.

Sono componenti del sistema Agricoltura 4.0 gli "ambienti social" alimentati dall'evoluzione delle tecnologie ICT, le innovazioni tecnologiche nel campo della sensoristica, dell'ottica e della robotica, gli avanzamenti realizzati dalla conoscenza e dalla ricerca all'interno delle produzioni primarie e della trasformazione agroalimentare, come di seguito graficamente rappresentate.



Le potenzialità offerte dall'integrazione delle nuove tecnologie digitali (ingegneristiche, meccatroniche, informatiche, logistiche, di comunicazione, ecc.) risultano ancora largamente inesprese nel sistema italiano, ma anche in buona parte d'Europa. Ciò è dovuto in larga parte alla presenza di rilevanti costi fissi, tipici dei sistemi tecnologici a rete, che necessitano di un'accurata programmazione a monte, per essere efficientemente distribuiti tra i diversi portatori di interesse.

Altro elemento non trascurabile, che osta la rapida ed ampia diffusione, è rappresentato dalla necessità di integrare e sviluppare contemporaneamente diversi ambiti di conoscenze.

Tanto le piattaforme informatiche, quanto le tecnologie applicative di meccanica di precisione e *remote sensing*, infatti, necessitano di una calibrazione e adattamento alle condizioni produttive, realizzabili solo attraverso una combinazione di conoscenza organizzata e sperimentazione in campo.

È proprio l'esigenza interpretativa dei fenomeni rilevati con strumenti di sensoristica o rilevazione ottica e termica a distanza, la chiave di volta indispensabile per la costituzione di banche dati dinamiche e integrate tra di loro che siano in grado, da un lato, di generare un sistema di conoscenze (modelli di previsione e di gestione) capace di calibrare e attivare strumenti di agricoltura di precisione o monitorare processi di trasformazione agroalimentare, dall'altro, di alimentare una piattaforma informatica in grado di connettere i diversi attori, favorendo l'accesso alle tecnologie e l'attivazione di servizi mediante l'utilizzo di applicazioni *user-friendly* a costi contenuti (es.: App per smartphone). Il progetto AgriDigit mira a sviluppare tale sistema di conoscenze su una scala campionaria a livello aziendale, individuando gli ambiti più avanzati dell'Agricoltura di Precisione, della modellistica, della sensoristica e dell'informatica, sui quali innestare dei prototipi capaci di trarre, nel corso del triennio di attività, almeno uno dei seguenti obiettivi:

- incremento della profittabilità attraverso una riduzione dei costi di produzione o un miglioramento della qualità dei prodotti;
- incremento della sostenibilità ambientale attraverso una riduzione dei prodotti chimici immessi, una riduzione dei consumi idrici o del suolo, una riduzione delle emissioni nocive;
- incremento della *awareness* e della curiosità del consumatore, attraverso l'accesso alle informazioni circa l'origine dei prodotti, le fasi della produzione e della trasformazione, i contenuti nutrizionali e qualitativi.

Il perseguimento di tali risultati verrà conseguito mediante l'espletamento delle seguenti attività:

- 1) costruzione delle banche dati e sistematizzazione di quelle esistenti per la realizzazione di mosaicatura delle cartografie relative al territorio agricolo italiano;
- 2) calibrazione di sistemi sensoristici e ottici per la costituzione di librerie informatiche georeferenziate (e/o tipizzate, nel caso di applicazioni zootecniche o in serra);
- 3) sviluppo di modellistica per l'elaborazione di scenari previsionali e la realizzazione di applicazioni di agricoltura di precisione attraverso un **sistema di supporto alle decisioni**, con particolare riferimento alla produttività, alla qualità e allo stato di salute delle specie vegetali e animali, nonché della valutazione dei fattori di contesto, quali suolo, emissioni e consumi idrici;
- 4) sperimentazione e adattamento degli strumenti e tecnologie dell'agricoltura di precisione alla realtà italiana, con particolare riferimento alle centraline per la gestione dell'irrigazione, fertirrigazione e smaltimento reflui e digestati, macchine per la sistemazione e la gestione del suolo e delle pratiche agronomiche, per la raccolta, per l'alimentazione degli animali, per l'analisi e la gestione della qualità nelle fasi della trasformazione;
- 5) sviluppo di interfacce digitali per la gestione degli strumenti dell'agricoltura di precisione, sia da remoto che in situ, integrate in ambiente di tipo cloud;
- 6) progettazione e sviluppo di apposita piattaforma informatica per la gestione e lo sviluppo di tutte le attività del progetto, nonché per la realizzazione di casi pilota di erogazione e gestione dei servizi di agricoltura digitale in un contesto 4.0.

Introduzione

L'Agricoltura italiana, in misura maggiore di altri Paesi sviluppati, ha nella qualità dei prodotti un valore aggiunto richiesto dai consumatori, apprezzato a livello internazionale. La qualità è indissolubilmente legata alle metodologie di produzione, sia per l'effetto diretto sui prodotti, sia per il possibile impatto ambientale che da solo caratterizza la percezione della salubrità dei prodotti. Questi aspetti, di per sé obiettivi integrati delle metodologie di produzione agricola, sono resi più critici per gli elevati costi di produzione del nostro Paese e la crescente criticità legata alla variabilità climatica. Tecniche di produzione perfettamente valide decenni addietro devono essere modificate per aumentare l'efficienza della gestione delle risorse, per ridurre la possibile dispersione nell'ambiente di prodotti di sintesi, per costituire un sistema più resiliente al rischio climatico. Strumento primario per una oculata gestione delle risorse è l'Agricoltura di Precisione, che possiamo definire come la capacità di fornire quantità di mezzi di produzione con una differenziazione in superfici produttive tradizionalmente considerate omogenee. L'applicazione dell'agricoltura di precisione va di pari passo con la tecnologia, di cui una componente essenziale è legata alle tecnologie di tipo informatico in rapporto alla gestione di sensori, apparecchiature e dati. La tecnologia informatica ci mette anche a disposizione risorse di calcolo e una facilità di accesso progressivamente sempre crescente. Una infrastruttura che metta a disposizione dati e strumenti di modellazione, siano questi ultimi utilizzati per la gestione di macchinari o esclusivamente per condurre analisi, permette di sviluppare un sistema integrato per la valutazione delle dinamiche e per la gestione del sistema fisico.

Tale sistema potrà essere proficuamente impiegato anche nella ricerca, accelerando lo sviluppo delle applicazioni descritte nel Piano Strategico del MiPAAF e stimolando la proposta di nuove idee, facilitandone la realizzazione. È ben evidente che il Paese è chiamato a prendere posizioni in ambito comunitario su aspetti legati all'agricoltura, che richiedono stime realizzate con metodologie omogenee e con copertura nazionale, per aspetti non sempre desumibili sulla base di statistiche. Questo anche in proiezione futura, in rapporto a sistemi produttivi e ambientali come quelli relativi ad ipotesi di cambiamento climatico, casi in cui l'estrapolazione attraverso trend statistici non solo a priori richiede assunzioni inaccettabili, ma non fornisce le indicazioni operative di cui i produttori hanno bisogno. Gli strumenti per operare queste stime sono i modelli di simulazione, come riconosciuto a livello internazionale. Iniziative a livello mondiale come l'AgMIP - *Agricultural Modelling Intercomparison and improvement Project*, in cui peraltro il CREA occupa un ruolo di rilievo, hanno da tempo individuato la necessità di riorganizzare e rendere disponibile la conoscenza utile per utilizzare modelli di simulazione per l'analisi di sistemi agricoli anche in rapporto al rischio, in termini di sicurezza sia alimentare che ambientale. È evidenziato che l'analisi di sistemi complessi, con obiettivi multipli e correlati, attraverso i modelli di simulazione, richiede una infrastruttura che non può essere improvvisata

all'emergere di una urgenza. Allo stesso tempo, gli strumenti di simulazione, in rapporto a sviluppi che continuamente derivano dalla ricerca, sia in rapporto ad accuratezza che all'integrazione con la valutazione di nuovi aspetti del sistema, richiedono lo stato dell'arte di piattaforme software integrate.

In Italia le possibilità offerte dalle future applicazioni dell'AD sono sporadiche, mentre il livello di organizzazione dei dati evidenzia lacune e difformità nel Paese. Con il progetto AgriDigit si traggono obiettivi integrati per aumentare lo sfruttamento delle possibilità offerte dalle tecnologie digitali, rispondendo non solo alle attuali necessità, ma costruendo una solida base per ulteriori sviluppi, non completamente prevedibili in questa fase.

Analisi degli stakeholder, dei beneficiari e degli utenti

Il progetto ha l'obiettivo di coinvolgere diversi portatori d'interesse a seconda delle specifiche azioni previste. A seconda della scala di applicazione i beneficiari potranno essere MiPAAF, MiAMB, Assessorati all'Agricoltura ed all'Ambiente e Territorio delle Regioni, Associazioni di Agricoltori e Agricoltori innovatori ma anche Associazioni di servizi avanzati per l'agricoltura ("Contoterzisti") e gli Ordini professionali. La realizzazione dell'infrastruttura riguarderà il CREA e potrà coinvolgere terze parti a titolo gratuito (e.g. Commissione Europea, Progetto Copernicus, privati).

Partners importanti potranno essere le Regioni, soprattutto per la fornitura di dati di agrotecnica geo-referenziata; l'interesse per le Regioni sarà dato dal ritorno attraverso applicazioni specializzate per il territorio. Peraltro, alcune Regioni hanno già previsto, come condizionale di premialità agli agricoltori, l'uso di sistemi di supporto alle decisioni, tutti basati su modelli previsionali. Questi sistemi si basano su specifiche basi di dati (e anche risorse modellistiche) che CREA potrà fornire attraverso specifiche azioni.

Ulteriore gruppo di utenti sarà rappresentato dai gruppi di ricerca, che potranno sviluppare progetti applicativi, ma anche imprese private che abbiano interesse nell'avanzamento delle conoscenze sulla specifica tematica. Il progetto svilupperà e gestirà delle API - *Application Programming Interface* per accesso ai dati, fornendo anche componenti software esemplificativi per accesso finalizzato ad uso dei dati in applicazioni.

In sintesi, i servizi, in parte da realizzare ex novo ed in parte derivanti dall'integrazione di dati e sistemi esistenti a livello nazionale ed internazionale, saranno rivolti a 4 macro tipologie di utenti:

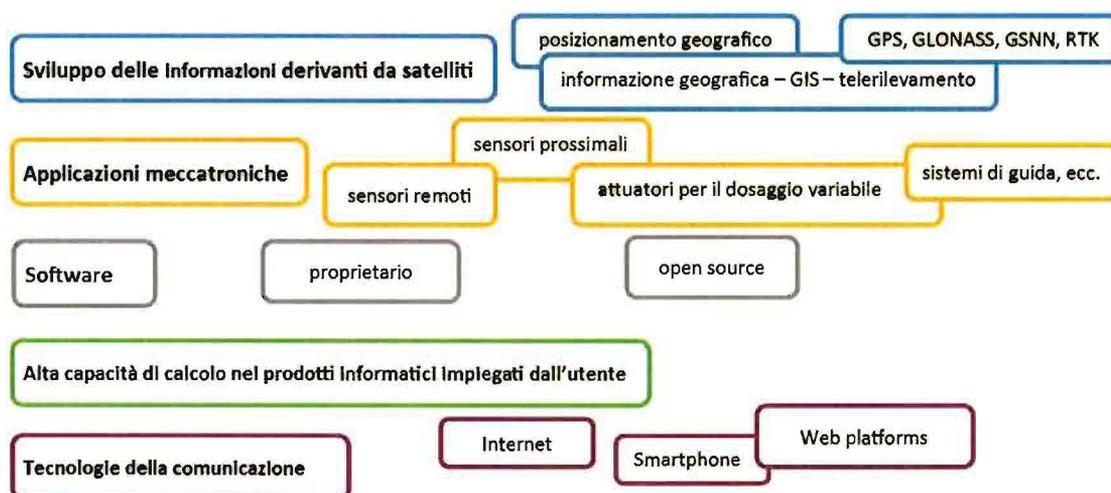
- **Soggetti istituzionali:** Ministeri, Agenzie, Enti, ecc. coinvolti a vario titolo e che potranno beneficiare delle informazioni utilizzate e prodotte da parte degli operatori, favorendo alcuni adempimenti e supportando

l'espletamento delle competenze (pianificazione, controllo del territorio, certificazioni, ecc.).

- **Operatori economici:** esistenti e potenziali, in campo agricolo inteso in senso lato, quindi comprendendo anche il settore della trasformazione e il settore turistico / promozionale;
- **Fruitori professionali:** (agricoltori, allevatori, trasformatori ecc.) ovvero addetti professionali del settore dell'agricoltura.
- **Fruitori quotidiani:** il consumatore responsabile, ovvero cittadini italiani e soprattutto stranieri cui fornire informazioni corrette per una sana e responsabile alimentazione e per una corretta percezione delle problematiche ambientali legate all'agricoltura.

Le tecnologie

L'Agricoltura Digitale (AD) rappresenta una modalità innovativa, efficiente ed efficace per il controllo integrato della gestione aziendale agricola (Agricoltura di Precisione) e agroalimentare e dei processi delle agro-filiera. Sono molteplici le infrastrutture e le soluzioni tecnologiche potenzialmente al servizio dell'agricoltura, il cui sviluppo nel digitale è legato dalla disponibilità di un assetto tecnologico, in continua crescita, articolato in vari livelli:



La disponibilità di tale assetto tecnologico consente l'applicazione dell'AD che prevede generalmente le seguenti fasi attuative: 1) Analisi territoriale su Basi Gis Mosaiccate 2) monitoraggio di dati (ambientali, produttivi, pedologici, meccanici, ecc.), 3) elaborazione e analisi (numerica, statistica, modellistica), 4) decisione/azione (semantica, numerica, guidata o automatica) e 5) controllo (diretto o in *feed-back*), 6) la diffusione dei dati per mezzo di un ESN a più livelli dalla intranet ad internet. Mentre l'Agricoltura di Precisione è fondata sui quattro pilastri finalizzati alla gestione sostenibile degli input e delle risorse (fertilizzanti e nutrienti, sementi, prodotti fitosanitari, carburanti, acqua, suolo, ecc.) per

mezzo del controllo delle macchine che le gestiscono, l'AD prevede un largo impiego dei modelli di simulazione, anche per la previsione durante la stagione e per analisi di scenari.

I modelli di simulazione sono da tempo impiegati nell'analisi dei sistemi colturali, soprattutto in ambito di ricerca scientifica, mentre più limitato è ancora il loro impiego in applicazioni, come strumenti di supporto decisionale, sia per il decisore politico sia nella gestione tattica e strategica delle attività agricole. Alla base del limitato impiego ci sono fondamentalmente due problemi: accesso a dati e ai modelli stessi. Con l'obiettivo di facilitare il collegamento con la ricerca per lo sviluppo di modelli e rendere operativi in tempi brevi modelli integrati, CREA ha sviluppato e continua la leadership della piattaforma software per lo sviluppo di modelli di simulazione, BioMA (<https://en.wikipedia.org/wiki/BioMA>). La piattaforma è nota a livello internazionale e adottata dalla Commissione Europea nel Joint Research Centre - *Institute for Environment and Sustainability*. Applicazioni esplorative sono state sviluppate in rapporto ad adattamento di sistemi colturali rispetto a cambiamenti climatici, impatto di patogeni e insetti, emissioni gassose. La piattaforma è aperta e consente estensioni con modelli basati su processi anche a domini diversi, il cui impiego è previsto in diverse azioni del progetto AgriDigit, anche oltre lo specifico sub-progetto AgroModelli.

Diversi ostacoli limitano l'adozione su larga scala di tali tecnologie da parte degli operatori. I principali sono riconducibili alla mancanza di interfacce dedicate agli utenti finali, alla percezione culturale, alla mancanza di competenze tecniche locali, infrastrutture e vincoli istituzionali, alle conoscenze e alle lacune tecniche e agli elevati costi di start-up con, in alcuni casi, un rischio di insufficiente rendimento dell'investimento. Fino ad ora, il settore privato ha rappresentato il principale motore dello sviluppo e dell'adozione della AD. Tuttavia, il sostegno da parte dei governi e delle altre istituzioni pubbliche riveste un ruolo cruciale nella promozione e ricerca in questo settore.

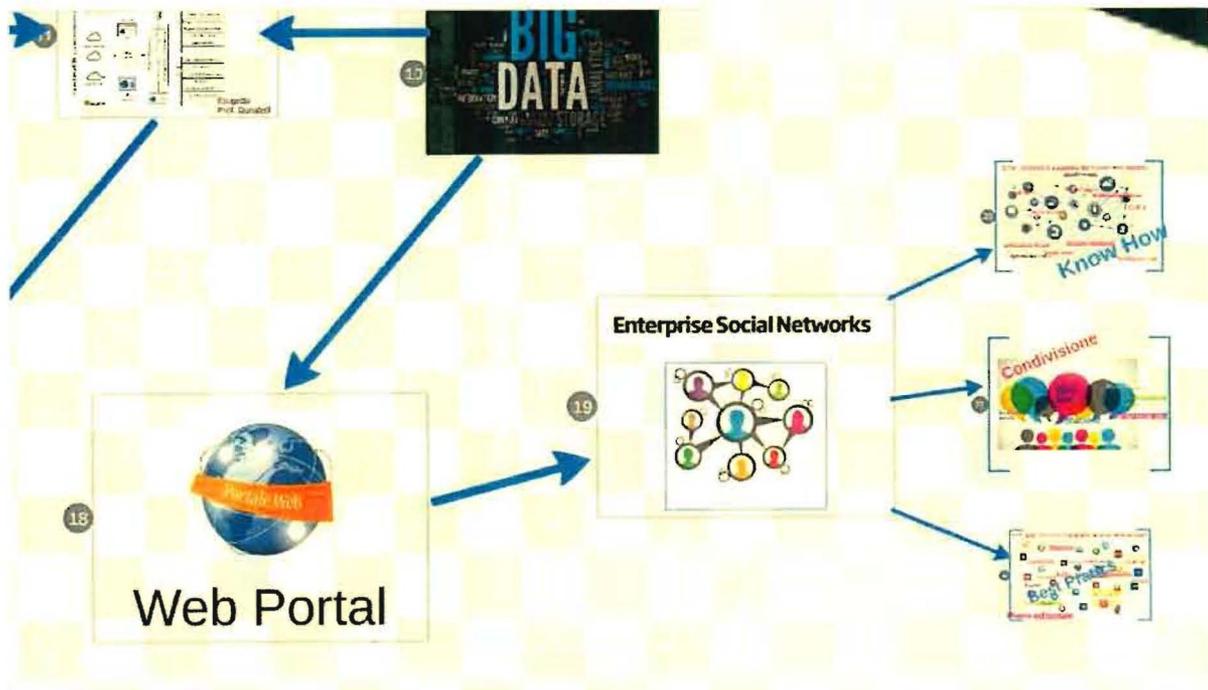
Obiettivi generali

L'obiettivo generale del progetto AgriDigit è la realizzazione di un sistema tecnologie-dati-servizi-conoscenza, gestito dal CREA, a supporto dei processi decisionali di vario livello nel settore agricolo italiano, dall'assistenza operativa di pieno campo, alle analisi di livello strategico di soggetti pubblici e collettivi. Alcuni casi specifici saranno trattati come casi-studio, sviluppando prototipi. Il progetto propone l'applicazione di tecnologie in settori tematici attraverso due dei sotto-progetti (**AgroFiliera** e **AgroModelli**) e attività legate alle filiere **zootecnica, selvicoltura, viticoltura**, sviluppate attraverso tre sotto-progetti.

In particolare, il sotto-progetto denominato **AgroFiliera** ha come obiettivo generale l'analisi, lo studio, l'applicazione e la dimostrazione di come le

tecnologie digitali (ingegneristiche, meccatroniche, informatiche, logistiche, di comunicazione, ecc.) possano migliorare il rafforzamento sostenibile (maggiore remuneratività, minor impatto ambientale, più qualità e sicurezza) di alcuni sottosistemi delle agro-filiere (cerealicole, ortive, IV gamma, floricole, olivicole), operando congiuntamente e sinergicamente dalla produzione, alla trasformazione fino al consumatore. L'obiettivo generale del sotto-progetto **AgroModelli** è la realizzazione di un sistema dati-servizi, basato su modelli biofisici di processo gestito dal CREA, a supporto di processi decisionali a diversa scala spaziale per il comparto agricolo ed agroalimentare italiano, dall'assistenza operativa di pieno campo alle aziende agricole, alle analisi di livello strategico che individuano come portatori d'interesse associazioni di produttori e decisori pubblici. Inoltre, interagirà con le altre azioni del progetto AgriDigit per supportare richieste di dati e di risorse di sistema, predisponendolo ad espansioni future. Il sotto-progetto di **Zootecnia** è rivolto all'esigenza di maggiore efficienza delle aziende zootecniche inserite nella filiera del latte bovino e bufalino. Per la specie bovina l'obiettivo principale è lo sviluppo di un sistema di gestione aziendale integrato, utilizzando l'approccio e le tecniche della zootecnia di precisione. Per la specie bufalina si vuole utilizzare l'approccio della zootecnia di precisione per valutare quantitativamente e quindi gestire adeguatamente lo stress da caldo e l'emissione di gas serra (metano enterico). Attraverso il sotto-progetto **Selvicoltura** si intende sviluppare e testare metodi e tecnologie innovative per la valorizzazione del patrimonio forestale nazionale e lo sviluppo delle sue filiere produttive in coerenza con le priorità della politica di coesione e delle politiche di sviluppo rurale 2014-2020. In un contesto ormai irreversibile di agricoltura sostenibile ed eco-integrata, l'obiettivo generale del sotto-progetto di **Viticoltura** riguarda la gestione del potenziale viticolo che dovrà essere basata sulla riduzione dell'impatto ambientale, sull'affrontare in modo mirato il cambio climatico e i suoi effetti sulle risorse primarie (vedi acqua), sulla possibilità di prevenire le perturbazioni dei mercati dovute alle variazioni produttive, su sistemi di supporto decisionali puntuali e strategici per i produttori, nella certezza di assicurare al consumatore trasparenza e tutela della salute con l'offerta di un vino italiano che rispetti sempre elevati standard di qualità.

Un ultimo sotto-progetto, **AgriInfo** attraverso la realizzazione di una **struttura informatica**, funzionale alle azioni del progetto AgriDigit, esplicita un obiettivo ambizioso per l'intero progetto, che va oltre i casi applicativi che saranno sviluppati. Questo obiettivo è costruire attraverso AgriDigit una base su cui produrre anche in futuro informazione e tecnologia a immediato accesso per i possibili portatori d'interesse, indirizzando e collocando risorse umane in ricerca che utilizzi sempre più tecnologie per raggiungere gli obiettivi integrati della produzione agricola del nostro paese. Gli obiettivi possono essere pertanto sintetizzati nella seguente infografica:



Dati

L'art. 9 del DL n. 179/2012, convertito in Legge n. 221/2012, stabilisce di pubblicare da parte delle amministrazioni pubbliche "il catalogo dei dati, dei metadati, e delle relative banche dati...". Per facilitare l'accesso anche ad utenti di settori diversi, sono in sviluppo standard per descrivere dati. Nell'ambito del progetto ci saranno sostanzialmente due azioni: l'utilizzazione, adeguando formato e aderendo agli standard esistenti, a diversi database disponibili nel CREA per esempio per scenari climatici e suoli e saranno utilizzati anche dati di terze parti che potranno subire trasformazioni come richieste dalle applicazioni sviluppate. Dati di terzi potranno essere elaborati e resi disponibili.

Servizi

I modelli di simulazione saranno resi disponibili anche come servizi, soprattutto per quelli da utilizzare durante la stagione colturale. Gli utenti potranno utilizzare o dei risultati attraverso web apps, o potranno utilizzare i servizi per presentare ai loro stessi utenti, nei loro portali o web apps, risultati. Questa seconda opzione potrà avere particolare interesse per enti di assistenza, ma anche per privati.

Formazione

L'uso di tecnologie e anche l'uso dei dati prodotti da sistemi complessi richiedono una introduzione a risorse e strumenti. Gli stessi ricercatori per l'utilizzo di alcune piattaforme possono beneficiare, quando non indispensabile, di formazione adeguata. Il progetto metterà in atto le iniziative formative necessarie a utilizzare le risorse sviluppate, anche per estendere i possibili contributori. Per ridurre al minimo l'impatto formativo ed di interpretazione sarà indispensabile l'utilizzo dell'ESN affinché, abbattendo le barriere all'ingresso, consenta non solo un approccio semplificato ad ogni funzione ma possa innescare "conversazioni" tra i fruitori e gli stakeholders dei singoli progetti affinché l'uso sia al contempo anche strumento di confronto e strumento di e-learning.

Infrastruttura informatica

Dati e servizi devono essere resi accessibili con facilità, in modo trasparente. Anche la memorizzazione dei prodotti della ricerca, dati e software, deve poter essere eseguita con semplicità. Applicazioni che vogliono utilizzare i dati messi a disposizione devono poter contare su una API (interfaccia per la programmazione) chiara e stabile nel tempo. L'infrastruttura informatica che sarà sviluppata risponderà a questi requisiti, come sistema aperto per ulteriori sviluppi.

Esigenze e linee di intervento

Nel novembre 2015 è stata lanciata dal MiPAAF una chiamata per contributi al fine di analizzare il panorama dell'agricoltura di precisione in Italia. In quattro mesi, sono stati censiti oltre 172 contributi, con le relative citazioni bibliografiche (oltre 250) che rappresentano una oggettiva fotografia dello stato della ricerca in Italia e delle potenziali linee future (Tabella 1).

In particolare la Viticoltura di Precisione è la linea con maggiore contributi di ricerca, mentre meno indagate risultano ancora la Zootecnia e la Selvicoltura.

Tabella 1. Pubblicazioni censite sulla chiamata MiPAAF per contributi AdP

Argomenti		Colture	
Suolo e gestione ambientale	36%	Viticoltura	42%
Macchine e gestione aziendale	30%	Cerealicoltura	30%
Tecnologia e sensoristica	27%	Olivicoltura	11%
Altri argomenti	6%	Frutticoltura	8%
		Zootecnia	6%
		Selvicoltura	4%

Analogamente all'analisi della letteratura scientifica, si è fatto ricorso ad una valutazione sulla diffusione e sulle principali richieste di innovazione da parte degli utilizzatori, in merito alle più importanti tecnologie di precisione per l'Agricoltura Digitale. In Tabella 2 sono indicate numerose aree di promettente crescita e che necessitano di ulteriori interventi di ricerca e sviluppo.

Il progetto AgriDigit affronta sistematicamente tutte queste esigenze, associando attività sperimentali, finalizzate a problemi mirati, ad attività di ricerca di più ampio respiro e di valenza scientifica più estesa.

Tabella 2. Tecnologie per l'agricoltura digitale: diffusione e richieste di innovazione da parte degli utilizzatori (L. Sartori, 2015 rielaborato)

Tecnologie macchine	Sistema AdP	Diffusione	Previsione e crescita mercato	Richiesta di innovazione sviluppo

BARRE DI GUIDA GUIDA SEMI-AUTOMATICA	sistemi di guida manuale after-market	7-8% trattori-anno nuovi	Alta	**
	Sistemi di guida automatica	1% (< 300 unità) trattori-anno nuovi	Molto alta	***
MACCHINE PER LA CONCIMAZIONE	Spandiconcime AdP, con: isobus, controllo delle bordure, trasmissione non meccanica, monitor	10% (150 anno) nuove macchine	Alta	***
	Sistemi con variazione della dose (VRA) basati su mappe	circa 200 aziende che adottano la concimazione variabile, pari all'1,5% delle aziende con più di 100 ha	Alta	****
	VRA basati su sensori (es. NDVI)	se non in zone limitate (riso)	Alta	****
MACCHINE PER TRATTAMENTI	Sistemi di controllo delle sezioni after-market	monitor di guida e controllo delle sezioni circa 200 (6%) del nuovo	Alta	***
	Irroratrici a barra di alta gamma a controllo sezioni	4-5% sul totale venduto del nuovo	Alta	****
	Atomizzatori a	10% sul totale	Alta	****

	getto mirato per vigneti	venduto del nuovo		
FORNITURA DI MAPPE	vegetazione terreno e	6.000 ha susuolo	Alta	***
		5.000 ha per momento irriguo	Alta	***
		vegetazione (NDVI, droni)	Molto alta	****
GESTIONE DELLE FLOTTE DI MACCHINE	Contoterzisti	n.d.	Molto Alta	****
GESTIONE DATO E CONSULENZA AGRONOMIC A	DSS, studi agronomici, spin-off e start-up	n.d.	Molto Alta	****
AGRO-APP	Sistemi smart di supporto informativo e decisionale (meteo, prezzi, leggi e documentazione) su mobile device	n.d.	Molto Alta	****

Partecipazione della comunità scientifica nazionale

Il progetto, affidato dal Governo al CREA, viene realizzato con competenze proprie dell'Ente in tutti i settori nei quali esse siano di livello avanzato, sulla base di riconosciuti standard internazionali.

Per le tematiche in cui il CREA non abbia al suo interno competenze adeguate, il progetto si avvarrà del contributo di gruppi di ricerca, appartenenti ad Università o altri Enti di ricerca, selezionati attraverso procedure ad evidenza pubblica.

Il progetto, infine, prevede azioni che richiedono elevata competenza e operatività nel settore informatico, prevedendo partnership non onerose o in outsourcing realizzazioni specifiche con imprese ai vertici nazionali e internazionali.

Il coinvolgimento dei partner scientifici nazionali seguirà rigidi standard di necessità, qualità, trasparenza e congruità, come indicato dalla vigente normativa, al fine di assicurare un elevato grado di realizzazione scientifica per il conseguimento di risultati che devono evolversi in innovazioni.

Coordinamento, promozione e rafforzamento strutture

Il progetto prevede un'azione di coordinamento del CREA, mirata anche ad alimentare il confronto e il dibattito sui temi sviluppati nel corso del triennio.

Infine, una quota delle risorse saranno destinate all'upgrade tecnologico dell'Ente, attraverso l'acquisizione di macchine, impianti, strumentazioni, apparecchiature e sistemi ad elevata integrazione digitale e adattamento delle strutture organizzative, per favorire lo sviluppo delle singole attività di ricerca attivate dal progetto.

Internazionalizzazione

Il progetto consentirà di rafforzare i collegamenti scientifici delle istituzioni italiane, e del CREA in particolare, nell'ambito di iniziative di collaborazione internazionali, tra le quali: BioMA, OCSE standards sulle macchine agricole, UE-JRC precision farming, (ERA)[F1] NET ICT-AGRI, FP7 UNIFARM, FP7 Field Copter, Precision Agriculture and the Future of Farming in Europe from EU Parliament.AGMIP – Agricultural Models Intercomparison and Improvement Project, GODAN – Global Open Data for Agriculture and Nutrition, cui il CREA partecipa.

E' in discussione la formalizzazione di una cooperazione con il JRC – Joint Research Centre della Commissione Europea, programma MARS, per continuare la cooperazione nello sviluppo della piattaforma di modellazione BioMA di cui il CREA ha la leadership scientifica (si veda oltre, sub-progetto AgroModelli).

Saranno attivate inoltre collaborazioni con ricercatori stranieri attivi nelle materie d'interesse nel progetto che potranno apportare utili contributi scientifici senza oneri per il progetto oltre il mero rimborso dei costi del viaggio e del soggiorno. Fin d'ora si prevedono collaborazioni con:

- INRA, Montpellier
- The James Hutton Institute, Dundee (UK)
- Michigan State University, East Lansing (MI, USA)
- UE-JRC (Siviglia, Spain)
- CSIRO, Towoomba (Australia)
- Washington State University, Pullman (WA, USA)

Struttura progettuale

AgriDigit si articola su 6 sub-progetti che affrontano quattro linee di attività principali oltre ad un'azione trasversale per lo sviluppo di infrastruttura informatica, interessando in modo specifico determinate filiere agricole, selezionate sia per lo stato di avanzamento della ricerca, sia per la rilevanza rivestita all'interno del settore agroalimentare italiano.

AgriDigit

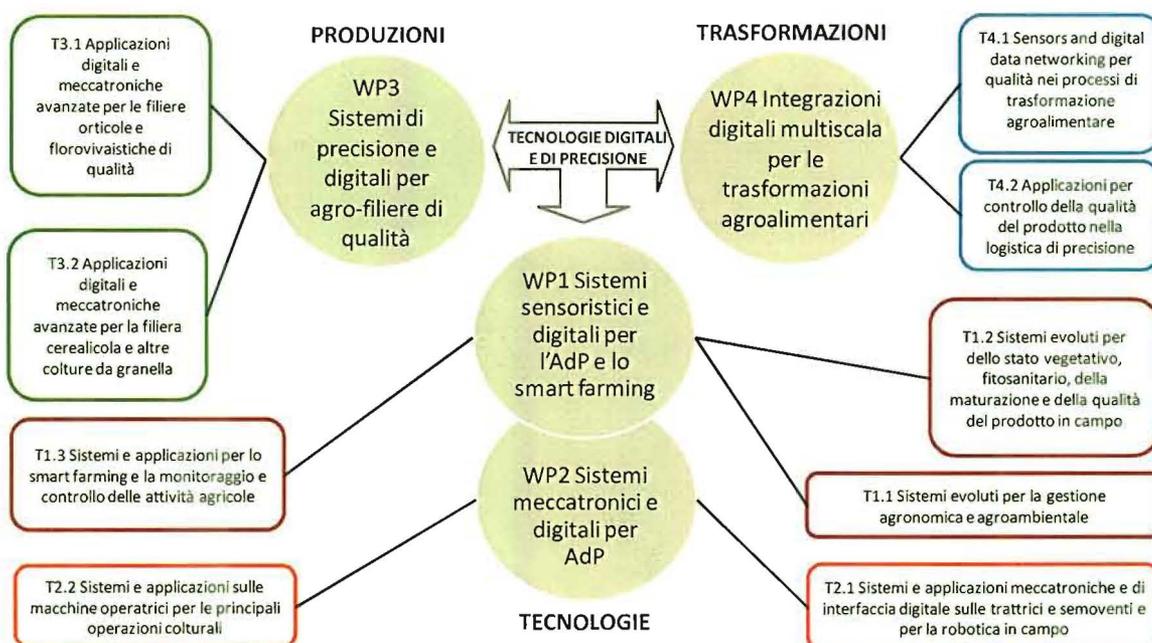


Sotto-progetto: AgroFiliera

Tecnologie digitali integrate per il rafforzamento sostenibile di produzioni e trasformazioni agroalimentari

La linea di progetto, denominata Agrofiliera, considera lo sviluppo e l'applicazione di tecnologie digitali (elettroniche, meccatroniche, informatiche e telecomunicazioni) integrate per il rafforzamento sostenibile di produzioni di campo (macchine e sistemi digitali agricoli), di specifiche filiere (ortofloricole e cerealicole) e per le trasformazioni agroalimentari.

La linea progettuale affronta problematiche attuali indicate dagli stakeholder e potenzialità a medio termine anche in relazione ai previsti sviluppi dell'ICT, sviluppando sperimentazione e ricerca finalizzata ad offrire soluzioni concrete e applicabili su ampia scala.



WP 1. Sistemi sensoristici e digitali per l'AdP e lo smart farming

Il work package prevede la sperimentazione e ricerca sull'uso e applicazioni di sistemi sensoristici multi-scala e multi sensore (ground, proximal, on-site, on-the-go, satellite, UAV, robot terrestre UGV) per applicazioni di agricoltura di precisione.

Task 1.1 Sistemi evoluti per la gestione agronomica e agroambientale

Piattaforma robo-meccatronica per multimisure suolo e canopy e cloud DSS; applicazioni di remote e proximal sensing; irrigazione o fertirrigazione di precisione.

Task 1.2 Sistemi evoluti per la stima dello stato vegetativo, fitosanitario, della maturazione e della qualità del prodotto in campo

Mappe epidemiologiche di agenti fitopatogeni; tools per il controllo e la calibrazione fine di sensori (iper)spettrali con processi esterni possibilmente accessibile via web, open e corredato di app mobile; sviluppo e valutazione in campo di algoritmica dedicata per la traduzione dei dati acquisiti (ad es. spettrali) in indicazioni agronomiche operative di campo; mappe di prescrizione e sensori di vigore; mappe di resa/produzione quanti-qualitative, sistemi imaging e spettrali puntuali e per immagini per applicazioni on-site, on-the-go; sistemi sensoristici per la qualificazione e di tracciabilità del prodotto e dei processi agro-meccanici in campo soprattutto alla raccolta: es. sistemi di imaging, NIT mietitrebbie per qualità cereali, carri miscelatori, ecc.; integrazione con sistemi mecatronici sviluppati e testati in WP2.

Task 1.3 Sistemi e applicazioni per lo smart farming e il monitoraggio e controllo delle attività agricole

Gestione digitale delle flotte di macchine agricole tramite sistemi web-gis, DSS e sistemi informativi su portatile; big data analytics sulle basi dati spazio-temporali delle macchine per l'agricoltura di precisione; tecnologie open source; integrazione di reti di microsensori diffusi per monitoraggio a basso costo e alta precisione sito specifico e dati di calibrazione e funzione di trasferimento sulle mappe da remote o proximal sensing on-the-go; applicazioni IoT e sviluppo di App dedicate alla gestione delle macchine e sistemi tecnologici; applicazioni per UAV e UGV.

WP 2. Sistemi mecatronici e digitali per AdP

Task 2.1 Sistemi e applicazioni mecatroniche e di interfaccia digitale sulle trattrici, macchine semoventi e per la robotica in campo

Automated guidance and controller traffic farming per miglioramento dell'efficienza di lavorazione, trafficabilità, lavorabilità e riduzione del compattamento; sistemi avanzati di interfaccia macchina-macchina, uomo-macchina, realtà virtuale/aumentata; analisi delle applicazioni UAV/UGV per monitoraggio/controllo o per utilizzi sito specifici; dimostrazioni e divulgazioni attraverso field-lab e field-test.

Task 2.2 Sistemi e applicazioni sulle macchine operatrici per le principali operazioni colturali

Gestione avanzata di precisione per la semina e il trapianto, sia in sistema biologico e sia di agricoltura conservativa; attuatori mecatronici e sistemi digitali di controllo da remoto, sistemi in feed-back automatici, modellistica di stima, controllo e predizione per la distribuzione di effluenti zootecnici e del digestato da biogas; gestione della somministrazione fogliare sito-specifica di nutrienti con tecnologie VRA - VRT; agrotecniche di precisione per il controllo sito specifico delle avversità biotiche; dimostrazioni e divulgazioni attraverso field-lab e field-test.

WP 3. Sistemi di precisione e digitali per agro-filiere di qualità

Task 3.1 Applicazioni digitali e meccatroniche avanzate per le filiere orticole e florovivaistiche di qualità

Sensoristica e meccatronica ad elevato grado di integrazione digitale e informativa per lo sviluppo di sistemi avanzati per la gestione integrata sull'intera filiera delle produzioni orticole e florovivaistiche.

Task 3.2 Applicazioni digitali e meccatroniche avanzate per la filiera cerealicola e altre colture da granella

Agrotecniche di precisione e sistemi informativi integrati, per il controllo sito specifico e di tracciabilità nella cerealicoltura e di colture da granella per maggiore qualità (es. incremento valori proteici frumenti duri nazionali) e sicurezza (es. controllo proattivo delle micotossine in campo); sistemi digitali ad elevata integrazione nella filiera per le trasformazioni cerealicole e la tracciabilità informativa.

WP 4. Integrazioni digitali multiscala per le trasformazioni agroalimentari

I processi di trasformazione agroalimentare sono generalmente sensorizzati e informatizzati, ma le informazioni sono compartimentate e non fluiscono nella filiera; la qualità non è monitorata complessivamente. Con strumenti di integrazione digitale e cloud e apparati sensoriali per la qualità e conservazione è possibile ipotizzare integrazioni multiscala (dal campo al piatto) spazio-temporale con grandi benefici per il sistema agroalimentare in termini di visibilità, trasparenza e controllo.

Task 4.1 Sensors and digital data networking per qualità nei processi di trasformazione agroalimentare

Sensoristica evoluta e innovativa ad elevato grado di integrazione digitale e informativa per lo sviluppo di sistemi avanzati per la qualità globale dei prodotti agroalimentari nei percorsi di filiera dalla produzione, alla trasformazione, al consumo.

Task 4.2 Applicazioni per controllo della qualità del prodotto nella logistica di precisione

Uso potenziale di una piattaforma logistica per il monitoraggio della qualità nutrizionale di prodotti ortofrutticoli mediante sviluppo di sistemi basati su tecnologie sensoristiche untargeted e adozione di metodologie di programmazione produttiva.

Investimenti strutturali previsti

- Treviglio (BG): field-lab con macchine e sensori per testing e dimostrazione tecnologie di meccanica agraria di precisione
- Monterotondo (RM): field-lab con macchine e sensori per testing e dimostrazione tecnologie di precisione guida, proximal e remote sensing e smart farming

- Roma: laboratorio/impianto sperimentale a completa integrazione digitale per le trasformazioni cerealicole di elevata qualità
- Milano: laboratorio a completa integrazione digitale per la qualificazione avanzata degli ortofrutticoli

Articolazione Temporale

Anno	1												2												3														
Quadrimestre	I			II			III			IV			I			II			III			IV			I			II			III			IV					
Mese	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
WP 1	[Shaded]																																						
Task 1.1	[Shaded]																																						
Task 1.2	[Shaded]																																						
Task 1.3	[Shaded]																																						
WP 2	[Shaded]																																						
Task 2.1	[Shaded]																																						
Task 2.2	[Shaded]																																						
WP 3	[Shaded]																																						
Task 3.1	[Shaded]																																						
Task 3.2	[Shaded]																																						
WP 4	[Shaded]																																						
Task 4.1	[Shaded]																																						
Task 4.2	[Shaded]																																						

Sotto-progetto: AgroModelli

Modellistica previsionale

La linea d'azione comprende attività di tipo infrastrutturale e applicazioni sia in tempo reale che per analisi di scenari, basandosi sui modelli previsionali biofisici. La disponibilità di previsioni meteorologiche fino a 15 giorni, disponibili in tempo reale per gli 8200 comuni italiani con una maglia di 10 km, permette di sviluppare servizi previsionali d'interesse per i produttori e professionisti operatori agricoli in rapporto all'agrotecnica. Questi servizi possono produrre informazioni di supporto alle decisioni gestionali riguardanti irrigazione, fertilizzazione, lavorazione dei suoli, controllo di patogeni e parassiti delle colture, raccolta e gestione prati, qualità dei prodotti. Questi servizi possono essere resi fruibili e personalizzati per produttore agricolo attraverso tablet e smartphone, ma anche per enti d'assistenza regionali come fonti di dati elaborati utilizzabili in applicazioni diverse. Il tipo di servizio fornito può essere esteso sulla base di richieste specifiche di agricoltori, valutando con loro anche la modalità di presentazione dei dati e l'interattività funzionale delle applicazioni. Molti dei servizi e il quadro generale sono di diretto interesse per il Coordinamento Nazionale Agrometeorologia in rapporto a possibili attività nell'ambito dei PSR. L'analisi di scenari ha come portatori d'interesse principali Ministeri e Regioni, con azioni che riguarderanno le emissioni di gas serra e ammoniaca da sistemi produttivi, patogeni fungini, fabbisogni irrigui, anche in un'ottica di cambiamenti climatici, sviluppando itinerari tecnici di adattamento e valutando il potenziale di mitigazione dei sistemi produttivi.

Alla base delle attività della modellistica ci sono azioni che sono strutturali e che, oltre l'applicazione specifica, renderanno accessibili a terzi dati, utilizzabili direttamente per la modellazione (sistema DAMA – Dati per la Modellazione in Agricoltura) e software come servizi (SaaS, Software as a Service) a terzi. Un ulteriore elemento, che potrà essere azione trasversale nel progetto, prevede lo sviluppo o adattamento di piattaforme software, esemplificativamente per la realizzazione di app per smartphone e tablet, che potrà essere specializzata a seconda dei servizi che si intende fornire per esempio in area frutticola, orticola, zootecnica ecc. Un valore aggiunto sarà offerto dalla implementazione dello standard OpenData.

L'espandibilità del sistema e il suo accesso a terzi saranno fondamentali, in quanto oltre alle applicazioni specificamente previste, rispettivamente quelle che seguendo lo stesso schema potranno essere applicate in altri sub-progetti di AgriDigit, mette a disposizione una infrastruttura che permetterà lo sviluppo di nuove applicazioni. Questa impostazione evita duplicazioni, permette confronti tra diverse soluzioni e innovazioni, aumenta la trasparenza e riproducibilità dei servizi forniti ai diversi portatori d'interesse individuati.

I prodotti e servizi principali che saranno realizzati sono quindi riassumibili nei punti seguenti:

- Infrastrutture basi di dati condivise;
- Modelli e approcci gestionali basati su modelli;
- Piattaforma software per diffusione dati e servizi.

Il diagramma che segue rappresenta una sintesi della attività previste e di altre che potranno essere sviluppate anche da terzi.

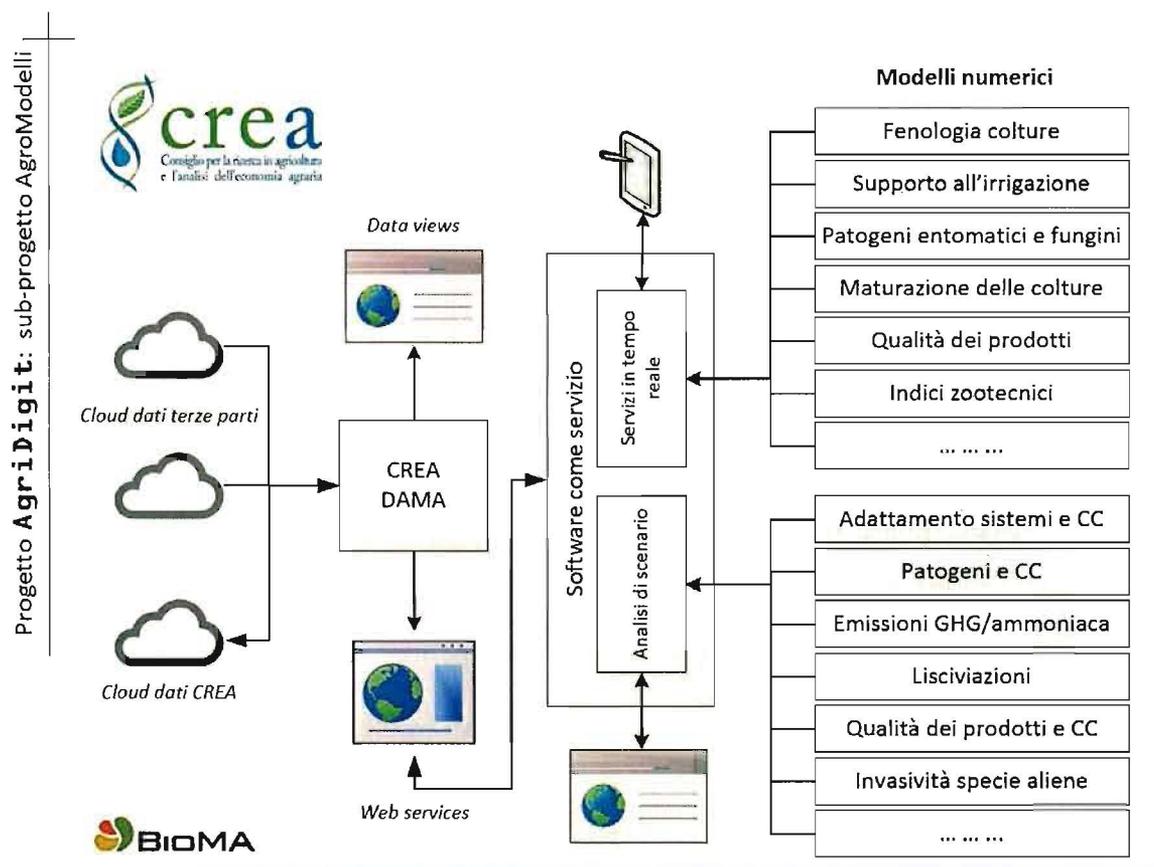


Figura. Diagramma del sistema dati-modelli e schematizzazione delle possibili applicazioni d'uso; le applicazioni consisteranno in software packages contenenti componenti di modelli e soluzioni di modellazione.

WP 1. Basi di dati per modellazione di sistemi

Il WP svilupperà l'infrastruttura dati, creando un primo prodotto che sarà accessibile a terzi, oltre che per gli scopi del progetto. Questo database sarà specificamente sviluppato per la modellazione biofisica di sistemi, rappresentando quindi un sottoinsieme specializzato delle risorse dati previste nel sotto-progetto AgriInfo, da cui acquisirà standard di metadati. Le risorse dati potranno essere dotate di API che consentano l'integrazione con le altre risorse dati dell'Ente e al tempo stesso la specializzazione d'uso per l'uso con gli applicativi di simulazione.

Task 1.1 Definizione degli standard di dominio, dei metadati e della struttura dei database

Sarà progettato e implementato un sistema di metadati basato su standard esistenti, includendo il formato RDF (Resource Description Framework) che è lo standard per scambio dati sul web. L'RDF sarà basato su ontologie esistenti.

Task 1.2 Popolazione e accesso a basi di dati esistenti: agrometeorologia

Reperimento, armonizzazione e formattazione dei dati agrometeorologici disponibili presso il CREA e acquisti presso provider commerciali in base al modello dati/metadati definito dalla task 1.1; sono previste scenari di cambiamento climatico, serie storiche, previsioni a 15 giorni.

Task 1.3 Popolazione e accesso a basi di dati esistenti: profili di suolo

Reperimento, armonizzazione e formattazione dei dati pedologici disponibili presso il CREA in base al modello dati/metadati definito dalla task 1.1; sarà utilizzato anche il componente software per la stima di parametri idrologici attraverso funzioni di perdo-transfer.

Task 1.4 Popolazione e accesso a basi di dati esistenti: gestione sistemi colturali e parametri delle colture

Dati di agrotecniche secondo lo schema del modello AgroManagement, derivando dati da database esistenti e in contatto con le Regioni. Dati di parametri colturali in collegamento con le tasks del WP3.

Task 1.5 Popolazione e accesso a basi di dati esistenti: remote sensing

Generazione di dataset georeferiti ad alta risoluzione spaziale, a copertura nazionale, derivati da serie di immagini satellitari, relativi a indicatori di varia natura da impiegare come proxy di parametri e variabili nelle simulazioni di sistemi colturali.

WP 2 Sviluppo e validazione di servizi in tempo reale

Il WP svilupperà servizi ad utilizzo stagionale, basati principalmente su dati di previsione giornalieri a 15 con copertura nazionale in formato raster con celle di 10 km.

Task 2.1 Sviluppo di prototipi di servizi per supporto decisionale per la gestione delle irrigazioni

Il prototipo di servizio fornirà stime di bilancio idrico a breve (3-5 gg) e lunga scadenza (fino a 15 gg) sulla base di corrispondenti previsioni meteo, associando indici di incertezza per l'implementazione di strategie decisionali.

Task 2.2 Assicurazioni parametriche in agricoltura

Con riferimento a diverse aree pedoclimatiche e relativi dati meteo storici, verranno impiegati modelli di simulazione di colture per simulare l'effetto della variabilità climatica e dell'incidenza di eventi estremi sulle produzioni agricole, per elaborare indici e tabelle di rischio.

Task 2.3 Sviluppo di un prototipo di servizio per il supporto decisionale e per il monitoraggio del livello di rischio di avversità biotiche

Messa a punto di un prototipo di servizio per la fornitura di variabili ambientali utilizzati dai modelli previsionali (es. bagnatura fogliare) sulla base delle previsioni meteo: i) elaborazione di una interfaccia dedicata per l'integrazione di questo servizio con i sistemi regionali; ii) esempi applicativi con modelli per acari e patogeni fungini.

Task 2.4 Valutazione di dati da satelliti Sentinel del programma Copernicus per uso dei stati in servizi agro-ambientali durante la stagione vegetativa

Esplorare le potenzialità applicative dell'uso integrato di dati Sentinel e basi di dati CREA-DAMA nei modelli di simulazione di colture, dove i primi verranno utilizzati come proxy di parametri e variabili colturali. Esempi applicativi: monitoraggio dello stato di stress in colture annuali; stima anticipata delle produzioni. Questo sarà l'obiettivo dell'azione con particolare riferimento ad alcune aree, tra cui la Capitanata.

WP 3. Analisi di scenario

Questo work package svilupperà servizi a supporto di analisi di scenario, dedicati a problemi decisionali di ordine strategico. L'attenzione verrà concentrata alle problematiche di più stretta attualità, in particolare quelle maggiormente richieste da decisori pubblici per esigenze informative della Comunità Europea, anche in rapporto a scenari di cambiamento climatico.

Task 3.1 Emissioni di gas serra dai suoli agricoli

Conduzione di analisi di scenario con modelli di simulazione per la stima di emissioni di GHG dai suoli agricoli del territorio nazionale, in particolare CO₂ e N₂O, anche sulla base di proiezioni climatiche a breve e medio termine. Date le incertezze sui modelli disponibili per la stima di emissioni, un gruppo di lavoro all'interno della task verificherà assunzioni e approcci di modellazione.

Task 3.2 Rischio da infestazioni di patogeni fungini

L'azione considererà la variazione dell'incidenza dei patogeni fungini e entomatici sulle colture arboree e erbacee, in rapporto ai cambiamenti climatici, modellando il ciclo di sviluppo dei patogeni includendo nell'analisi gli effetti dei cambiamenti interazioni patogeno/pianta.

Task 3.3 Itinerari agrotecnici di adattamento ai cambiamenti climatici

Attraverso la simulazione di colture su scenari a breve termine (2030) l'azione esplorerà l'efficacia di itinerari agrotecnici alternativi nell'aumentare la resilienza dei sistemi colturali e stimare capacità di mitigazione. In particolare verranno analizzati nuovi avvicendamenti, i consumi idrici, e l'impatto sulle emissioni.

Task 3.4 Impatto di cambiamenti climatici e pratiche agronomiche sulla qualità dei prodotti

Esistono una quantità di modelli che permettono la stima di parametri qualitativi in rapporto a variabili ambientali. Questi modelli possono essere utilizzati anche in rapporto a scenari climatici diversi in interazione con pratiche agrotecniche. Questa task raccoglierà questi modelli e li applicherà per simulazioni esplorative in scenari climatici futuri.

Task 3.5 Lo sviluppo di una piattaforma software per lo sviluppo di app per smartphone

Il focus di questo task sarà sul design dell'architettura del sistema, sull'implementazione delle funzionalità di base, dei protocolli di comunicazione web e sulla progettazione e realizzazione dell'interfaccia utente. Applicazioni specifiche riguarderanno le task 2.1-4, mentre altre potranno essere sviluppate da altri sub-progetti (e.g. Viticoltura). La task sarà sviluppata con il supporto del sotto-progetto AgriInfo, con modalità che saranno definite nella fase iniziale del progetto una volta definite le risorse umane coinvolte.

Task 3.6 Ulteriore sviluppo della piattaforma di simulazione BioMA e casi di implementazione dei modelli del progetto

L'azione prevede l'implementazione/re-implementazione di modelli e soluzioni di modellazione in ambito BioMA per il supporto di attività del progetto. In particolare si renderanno disponibili soluzioni di modellazione per l'analisi di scenario (simulazione di patogeni, modelli management) e saranno perfezionati gli strumenti di sviluppo per modellisti.

Task 3.7 Data views, GIS e web services

L'obiettivo di questa task è la messa a punto di una API (*Application Programming Interface*) per l'accesso ai dati attraverso web services. Prevede anche la realizzazione di un modulo software per visualizzazione GIS in applicazioni web, che potrà essere riutilizzato anche da altri sub-progetti di AgriDigit. Anche in questa task ci sarà un collegamento diretto con il sotto-progetto AgriInfo per il supporto. Il modulo GIS sarà sviluppato in collaborazione con sotto-progetto AgriInfo, con modalità che saranno definite nella fase iniziale del progetto una volta definite le risorse umane coinvolte.

Articolazione Temporale

Le tasks di AgroModelli si caratterizzano in due gruppi:

- quelle del WP1, mirate a definire e costituire risorse dati, quindi con fine prevista nella maggioranza dei casi nel primo biennio
- quelle dei WP2-3, in cui la prima fase è in genere la definizione di modelli e la seconda per lo sviluppo degli applicativi (pur con una sovrapposizione tra le due). Caso a parte sono le tasks 3.5 e 3.7, in cui il programma di lavoro sarà concertato con il sotto-progetto AgriInfo, e la task 2.2 in cui è prevista la fornitura di un feedback da parte delle compagnie di assicurazioni per l'ulteriore sviluppo/correzione degli approcci sviluppati.

Anno	1												2												3																
Quadrimestre	I			II			III			IV			I			II			III			IV			I			II			III			IV							
Mese	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
WP 1																																									
Task 1.1																																									
Task 1.2																																									
Task 1.3																																									
Task 1.4																																									
Task 1.5																																									
WP 2																																									
Task 2.1																																									
Task 2.2																																									
Task 2.3																																									
Task 2.4																																									
WP 3																																									
Task 3.1																																									
Task 3.2																																									
Task 3.3																																									
Task 3.4																																									
Task 3.5																																									
Task 3.6																																									
Task 3.7																																									

Sotto-progetto: Selvicoltura

Tecniche innovative per la valorizzazione del patrimonio forestale

Questa linea di progetto, denominata Selvicoltura di Precisione, si propone di sviluppare, testare e trasferire i seguenti metodi, strumenti e tecnologie innovative per la valorizzazione del patrimonio forestale nazionale e lo sviluppo delle sue filiere produttive:

1. metodologie avanzate di inventariazione automatizzata multiscala delle risorse forestali;
2. strumenti informatici a supporto della gestione e della pianificazione forestale basati su sistemi di supporto decisionale standardizzati (DSS);
3. sistemi tecnologici per la logistica delle operazioni di utilizzazione forestale e nelle piantagioni da legno;
4. tecnologie basate su identificazione/memorizzazione basata su radiofrequenze (RFiD) per la tracciabilità del legname e il controllo della catena di custodia dei prodotti forestali.

Gli obiettivi sopra indicati vengono realizzati secondo un approccio integrato di applicazione di tecnologie digitali di precisione (elettroniche, meccatroniche, informatiche, telecomunicazione) in un quadro ad alta interconnessione concettuale logico-operativa di innovazione globale del settore.

La linea progettuale è articolata in 3 WP: i primi due obiettivi rientrano nel WP 1 (*Basi informative e sistemi di supporto decisionale standardizzati*) volto a supportare la pianificazione e gestione del bosco e delle piantagioni da legno; il terzo e quarto obiettivo sono volti alla fornitura di strumenti operativi per l'ottimizzazione della logistica di filiera: utilizzazioni forestali (WP 2: *Precision forest harvesting*) e tracciabilità del materiale legnoso (WP 3: *RFiD per la tracciabilità del legname e la logistica*).

WP 1. Basi informative e sistemi di supporto decisionale standardizzati

Task 1.1 Strumenti innovativi per la inventariazione delle risorse legnose forestali

Sviluppo di sistemi per la stima spazializzata di attributi forestali tramite informazioni telerilevate con tecnologia LiDAR, ai fini del loro impiego a supporto della pianificazione forestale;

Mappa del volume legnoso e dell'incremento di volume legnoso a scala nazionale con risoluzione geometrica inferiore a 250 m;

Sviluppo di un sistema informatizzato ed automatizzato per l'esecuzione di rilievi dendrometrici e inventariali mediante TLS.

Task 1.2**Strumenti innovativi per la inventariazione delle risorse legnose fuori foresta**

Modellizzazione dei servizi ecosistemici degli alberi nelle aree urbane/periurbane tramite strumentazioni e strumenti ecofisiologici e geomatici;

Utilizzo di sistemi aerei a pilotaggio remoto per la inventariazione delle piantagioni e degli alberi fuori foresta, con sistemi ottici e LiDAR.

Task 1.3 Strumenti a supporto della gestione

Modellazione di sistemi di gestione basati su sistemi di supporto alle decisioni (DSS) per l'ottimizzazione tecnica ed economica della gestione selvicolturale. Implementazione della piattaforma informatica del DSS tramite sistema Web-GIS. La task sarà sviluppata con il supporto del sotto-progetto AgriInfo, con modalità che saranno definite nella fase iniziale del progetto una volta definite le risorse umane coinvolte.

WP 2. Precision forest harvesting

Sviluppo e validazione di sistemi di supporto alla raccolta del materiale legnoso in bosco e nelle piantagioni da legno, con particolare riferimento alla applicazione sperimentale su forwarder;

mappatura degli spostamenti e delle operazioni eseguite dalla macchina; monitoraggio dei tempi di lavoro e modellizzazione statistica;

sviluppo di App che fornisca informazioni in tempo reale sulle principali funzioni individuate del sistema ICT; analisi costi/benefici relativi all'applicazione del sistema.

WP 3. RFIID per la tracciabilità del legname e la logistica

Analisi territoriale della logistica dei percorsi con rilevazione dei dati di partenza e di destinazione del materiale nell'ambito della filiera di riferimento al fine di definire un modello economico di ottimizzazione dei percorsi per singolo prodotto tracciato;

Analisi della efficienza della logistica in relazione alle due principali destinazioni dei prodotti legnosi ottenuti: i) per fini energetici come legna da ardere o sminuzzato; ii) per lavorazioni industriali in riferimento a legname di maggiore qualità da destinare alla produzione di segati o per falegnameria.

Task 3.1 Sviluppo del sistema RFIID

Sviluppo e test di tecnologie elettronico-informatiche in sistemi di qualificazione e tracciabilità dei prodotti forestali, con particolare riferimento a: sviluppo di un sistema RFIID (antenne+tag-reader) multifunzionale; sviluppo di una App per l'acquisizione, la gestione e la tracciabilità compatibile con terminali mobili (palmare, datalogger, tablet o smartphone).

Task 3.2 Analisi a supporto della logistica

Analisi della sostenibilità economica dell'applicazione dei sistemi di tracciabilità dei prodotti legnosi nell'ambito dei processi produttivi attinenti alle diverse attività dell'impresa forestale, in relazione ai diversi assortimenti legnosi ritraibili dall'utilizzazione.

Articolazione temporale

Anno	1												2												3														
Quadrimestre	I			II			III			IV			I			II			III			IV			I			II			III			IV					
Mese	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
WP 1																																							
Task 1.1																																							
Task 1.2																																							
Task 1.3																																							
WP 2																																							
WP 3																																							
Task 3.1																																							
Task 3.2																																							

Sotto-progetto: Zootecnia

Tecnologie digitali nella filiera del latte bovino e bufalino

La linea di progetto ZOOTEENIA vuole rispondere all'esigenza di una maggiore efficienza delle aziende zootecniche inserite nella filiera del latte bovino e bufalino.

In questo progetto troverà spazio operativo la relazione già in atto tra CREA di Lodi e il gruppo del Prof. Heinrichs della Penn State University (monitoraggio delle caratteristiche fisiche della dieta), nonché le interazioni già avviate con il gruppo su *Livestock Precision Farming* (LPF) all'interno delle attività EAAP. Inoltre, ci si potrà avvalere delle relazioni con il Centro Agrouest dell'INRA di Rennes, soprattutto per quanto attiene alle applicazioni sulle bovine da rimonta.

Per la specie bovina l'obiettivo principale del progetto è lo sviluppo di un sistema di gestione aziendale integrato, utilizzando l'approccio e le tecniche della zootecnia di precisione. Pertanto, partendo da dati ottenuti da sensori installati in una azienda modello (azienda Baroncina del CREA-FLC a Lodi) verrà sviluppato un modello che integra i dati dei differenti sensori e produce, tramite "avvisi" all'allevatore o impulsi per meccanismi/macchine, una retroazione finalizzata a modificare l'ambiente e conseguentemente a normalizzare eventuali situazioni patologiche (o inefficienze) degli animali. L'attivazione di questo sistema retroattivo consentirà di ottimizzare la redditività aziendale contestualmente al miglioramento del benessere animale e della qualità delle produzioni. Il modello di gestione sarà sviluppato in modo tale da renderlo adattabile alle diverse realtà aziendali, in funzione dei sensori presenti e delle caratteristiche ambientali e produttive. L'efficienza del modello, in termini di maggiore redditività aziendale, verrà valutata tramite simulazioni prodotte su dati aziendali acquisiti sul territorio. Le simulazioni prenderanno in considerazione tutti i comparti aziendali da quello del benessere animale a quello della produzione di prodotti di qualità (latte per uso alimentare o per caseificazione di prodotti DOP). Nella scelta della sensoristica e nella definizione dei vincoli produttivi ambientali verranno coinvolti in tutte le fasi del progetto i principali stakeholder/beneficiari/utenti: aziende produttrici di sensori e di macchine, latterie, caseifici, consorzi di tutela di formaggi DOP associazioni di allevatori.

Per la specie bufalina il progetto vuole utilizzare l'approccio della zootecnia di precisione per valutare quantitativamente e quindi gestire adeguatamente lo stress da caldo e l'emissione di gas serra (metano enterico). Finalità dell'approccio è la valorizzazione quantitativa della popolazione Bufalina Mediterranea nella filiera lattiero-casearia, valorizzandone l'immagine e l'importanza a livello internazionale.

Il sotto-progetto è articolato in tre WP. Zootecnia di precisione nella bovina da latte – Gestione aziendale integrata ed automatizzata; Sviluppo

di un nuovo sensore per il riconoscimento dei suoni nei bovini; Zootecnia di precisione nella specie bufalina – Approccio quantitativo per la valutazione del benessere e la riduzione dell'emissione di GHG enterici.

WP 1. Zootecnia di precisione nella bovina da latte

Gestione aziendale integrata ed automatizzata, che prevede lo sviluppo di un sistema integrato di gestione dell'azienda zootecnica di bovine da latte, valorizzando l'informazione di diversi sensori tramite modelli sviluppati partendo da dati raccolti in continuo su database centralizzato del CREA. Una qualsiasi azienda zootecnica potrà, una volta installata la sensoristica, ottenere informazioni "personalizzate" per la gestione degli animali a livello riproduttivo, alimentare e sanitario.

Task 1.1 Completamento del sistema sperimentale dell'azienda Baroncina del CREA

Integrazione del "modello Baroncina" tramite installazione di nuovi sensori che completino il "range" di misure disponibili e di sistemi robotizzati da gestire tramite i modelli che verranno messi a punto. L'azienda modello sarà un completo sistema in grado di valorizzare a livello informativo tutte le categorie di sensoristica oggi presenti sul mercato mondiale.

Task 1.2 Ottimizzazione e/o automazione della gestione aziendale

Verranno studiate le più efficienti modalità di gestione dei sensori e dei sistemi di automazione nell'azienda pilota.

Task 1.3 Gestione ed analisi integrata dei dati

Finalità dell'azione è lo studio integrato dei dati. Verranno sviluppati gli algoritmi utili per una qualsiasi azienda che venga collegata al sistema tramite i propri sensori.

Verranno sviluppati scenari in grado di computare i vantaggi in termini economici degli strumenti della zootecnia di precisione.

Task 1.4 Valutazione casearia dei vantaggi della gestione integrata aziendale con zootecnia di precisione

Sarà effettuata attraverso caseificazione sperimentale; studio comparato della caseificazione da latte prodotto da aziende supportate o meno da un sistema integrato di zootecnia di precisione.

WP 2. Sviluppo di un sensore per il riconoscimento dei suoni nei bovini

Sviluppo e messa a punto di sensori per il riconoscimento e l'interpretazione dei suoni (richiami vocali) nei bovini adulti e della tosse nei vitelli.

Task 2.1 Identificazione e interpretazione dei richiami e delle vocalizzazioni

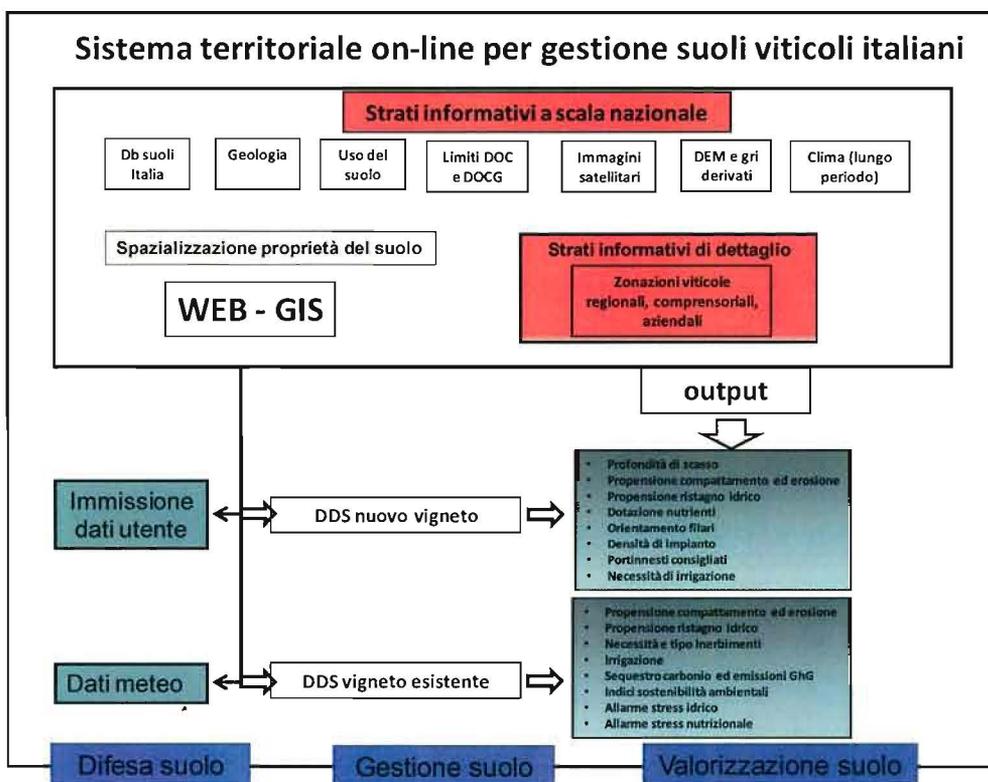
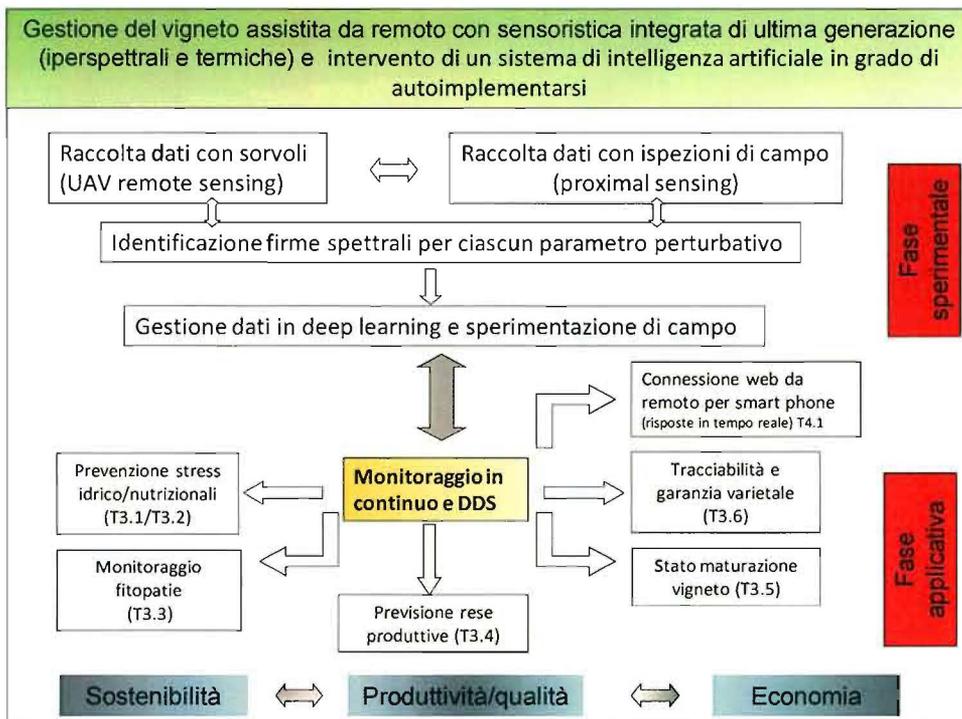
Sotto-progetto: Viticoltura

Sistemi di supporto alle decisioni a diversa scala spaziale

L'obiettivo generale è produrre dei sistemi di supporto alle decisioni a diversa scala spaziale: nazionale, comprensoriale ed aziendale, per la gestione sostenibile dei suoli viticoli e per la valorizzazione dell'effetto "terroir", cioè delle migliori interazioni tra vitigno, ambiente pedoclimatico e gestione agronomica. Verrà realizzato un sistema di supporto alle decisioni (DSS) da utilizzare a scala aziendale e comprensoriale, che fornisca indicazioni pratiche di gestione dei suoli viticoli nelle fasi di pre- e post-impianto, tramite applicativi on-line. Un secondo risultato sarà un WEB-GIS a scala nazionale, con strati tematici per tutti i territori viticoli d'Italia, che includeranno cartografie delle delimitazioni delle aree DOC e DOCG, dei loro suoli, geomorfologia e topografia, del loro clima, bioclima e pedoclima, con indicazione dei rispettivi vitigni coltivati e dei vini prodotti. Queste problematiche saranno trattate attraverso i work packages 1-3.

In un obiettivo di sostenibilità complessiva della viticoltura, il contenimento dei costi produttivi del vigneto e la salvaguardia delle risorse primarie, richiede la descrizione ad altissima risoluzione, dello stato del vigneto nei suoi parametri fisiologici, vegetativi, sanitari, produttivi e qualitativi, differenziando gli interventi in funzione della variabilità spaziale, operando in modo certo e in tempo reale. Questa linea di ricerca interseca perfettamente la corretta progettazione del vigneto, seguendo la sua innovativa gestione.

Le ridotte dimensioni aziendali che caratterizzano la viticoltura nazionale, non sempre sono in grado di sostenere il peso di una spinta innovazione e disporre di personale tecnicamente preparato. Allo scopo di bypassare questo stato di fatto, i servizi di intervento e di programmazione che si intendono sviluppare, sono rivolti in particolare verso il contoterzismo e a grandi comprensori (aree DOC, DOCG, Consorzi di produttori, cantine sociali, organismi di controllo) che a loro volta declineranno il servizio a livello di singola azienda. Per questi motivi, il progetto prevede la rilevazione tramite immagini satellitari e acquisizioni da ultraleggero (airborne), avendo quest'ultimo una maggior autonomia di volo, potendo gestire più sensori grazie al largo margine di peso trasportabile (payload), operare su ampie superfici (alcune migliaia di ettari) e migliorare sensibilmente la risoluzione di acquisizione delle immagini. Il tutto si basa quindi su piattaforme complesse, composte dalla frazione avionica, visionica basata su sensoristica di ultima generazione presente sul mercato internazionale e da un sistema esperto "cloud computing". Queste problematiche saranno sviluppate attraverso i work packages 3-4.



WP 1. Elaborazione di strati informativi territoriali per la viticoltura

Task 1.1 Armonizzazione di strati informativi territoriali esistenti e elaborazione di immagini satellitari

Armonizzazione degli strati informativi territoriali esistenti a scala nazionale e utili al DSS: clima, morfologia, suoli e viticoltura (delimitazioni DOC e DOCG italiane). Armonizzazione dei lavori cartografici già pubblicati nell'ambito di rilevamenti pedologici e zonazioni viticole a scala regionale, provinciale o di distretto vitivinicolo. Saranno utilizzati modelli di predizione di caratteristiche del suolo basati su immagini satellitari multispettrali, così da completare il set di strati informativi disponibile per le aree di validazione dei modelli.

Task 1.2 Creazione carte tematiche e web GIS per il DSS

Tramite statistica spaziale si otterranno carte tematiche di alcune proprietà del suolo funzionali ai modelli. Sarà sviluppato un modello di statistica spaziale per ottenere una carta dei suoli viticoli d'Italia con risoluzione a 100 m.

Task 1.3 Modelli decisionali per l'impianto di nuovi vigneti

Modelli di valutazione ambientale per le scelte da effettuare al momento dell'impianto di un nuovo vigneto (localizzazione del vigneto in funzione della vocazione pedoclimatica del territorio e denominazione di origine del vino, adattabilità dei portinnesti, sesto d'impianto ottimale, ecc).

WP 2. Monitoraggio dello stato vegeto-produttivo del vigneto

Task 2.1 Modellistica idrologica funzionale alla gestione del vigneto pre-impianto

Creazione di una modellistica che sulla base di informazioni presenti nei diversi strati tematici del Web-GIS sia in grado di restituire indicazioni circa i) il livello di propensione relativo ai fenomeni di degradazione fisica specifici dell'area, ii) la profondità massima della lavorazione preparatoria, iii) necessità, dimensionamento e posizionamento di una rete drenante superficiale e sotterranea, iv) lunghezza dei filari, v) sistema irriguo.

Task 2.2 Modellistica idrologica funzionale alla gestione del vigneto post-impianto

Elaborazione di modelli di valutazione della propensione i) all'erosione, ii) al ristagno idrico, iii) al ruscellamento, iv) al compattamento in funzione della gestione viticola.

Task 2.3 Modelli di simulazione delle diverse gestioni del suolo in vigneti esistenti

Modelli di simulazione per le diverse tipologie di gestione del suolo riguardanti: presenza-assenza e tipologia di inerbimento, lavorazione, passaggi per i trattamenti e tipologie di trattori, presenza-assenza di irrigazione, gestione dei residui colturali. Elaborazione di modelli di allarme per stress idrico o nutrizionale per la vite.

Task 2.4 Calibrazione e validazione di modelli di gestione della nutrizione della vite

Implementazione, all'interno di un sistema unico informatizzato, di un modello di gestione sito-specifica della nutrizione del vigneto. Il modello sarà testato nelle diverse aree studio sulla base di rilievi annuali del contenuto dei principali nutrienti nel suolo.

Task 2.5 Validazione di modelli per il sequestro del carbonio ed emissioni di GHG

Implementazione di modelli che possano fornire indicazioni e soluzioni gestionali circa: i) le potenzialità di sequestro del C nel medio e lungo periodo, l'immagazzinamento del C in pool a diverso grado di stabilità e tempi di permanenza nel suolo; ii) le emissioni potenziali di gas serra, il loro contributo relativo e la stima del potenziale di riscaldamento globale (GWP), tenendo conto del contributo relativo dei diversi gas climalteranti.

Task 2.6 Validazione di modelli di simulazione della gestione del suolo per biodiversità microbica

Modelli di valutazione gestionale calibrati e validati attraverso l'integrazione di dati molecolari dei microorganismi coinvolti nei processi biogeochimici del C e dell'N.

WP 3. Firme spettrali, qualità del prodotto, tracciabilità varietale e sostenibilità

Le firme spettrali acquisite attraverso l'impiego di sensori iperspettrali, Lidar e FIR, georeferenziate e interpretate da un sistema di intelligenza artificiale in grado di autoimplementarsi, permetteranno di identificare le anomalie e di programmare gli interventi correttivi. Durante la stagione vegetativa si valuterà la possibilità di identificare l'impronta spettrale di alcune ampelopatie (malattie, batteriche e virali, comprese quelle trasmesse da insetti vettori) in condizioni controllate di laboratorio e semicontrollate di campo, utilizzando le camere iperspettrali e termiche installate su piattaforme aeree. Allo scopo di perseguire l'obiettivo di miglioramento qualitativo e di certificazione, si determinerà su ampi comprensori il carico produttivo del vigneto, il successivo stato di maturazione dell'uva e l'identità varietale, ciò allo scopo di garantire una migliore programmazione e gestione qualitativa delle vendemmie e garantirne l'origine varietale. Infine nell'obiettivo di una viticoltura più sostenibile è attenta alle risorse primarie, si agirà sul rilevamento dello stato idrico del vigneto e sul suo grado di vigoria.

Task 3.1 Creazione di un database dello stress idrico della vite

Tramite misure puntuali iperspettrali e termiche; il database conterrà, da un lato misure fisiologiche di stress idrico della vite raccolte in pieno campo in funzione di diverse unità climatico/territoriali e, dall'altro immagini iperspettrali nella banda compresa tra il visibile e il NIR

valutando principalmente gli indici VARI e NDGI. La task sarà sviluppata con il supporto del sotto-progetto AgriInfo, con modalità che saranno definite nella fase iniziale del progetto una volta definite le risorse umane coinvolte

Task 3.2 Modellazione delle misure fisiologiche vegetali

Attuato in funzione delle firme spettrali e termiche. Le misure fisiologiche di campo saranno correlate tramite modellazione predittiva alle immagini iperspettrali e termiche, in modo da poter stimare lo stato fisiologico della vite in base al segnale ricevuto. Stati di carenze sviluppo o, al contrario, di eccesso di vigore, potranno essere gestiti in modo nettamente differenziato con benefici economici ed ambientali.

Task 3.3 Rilievi ed interventi fitosanitari

Si eseguirà il confronto fra la presenza di malattia identificata tramite i sopralluoghi e le informazioni fornite dal sistema di acquisizione dati. Verrà valutata la congruità delle correlazioni, che preliminarmente si baseranno sull'impronta spettrale acquisita ex-situ, per modulare gli interventi di prevenzione su focolai di infezione per malattie virali e batteriche intervenendo in modo puntuale e non esteso. Altro ambito di prova sarà lo studio di situazioni di infezione non ancora manifeste, tipo peronospora e oidio.

Task 3.4 Analisi precoce (post-allegagione) del carico produttivo del vigneto

Stima del numero di grappoli e loro dimensioni tramite analisi di immagine prossimale (Lidar-iperspettrale). Le previsioni quantitative dovranno tener conto della variabilità dei sistemi di allevamento e procedere per fasi di formazione del grappolo sino a raggiungere lo stadio fenologico più appropriato per la stima.

Task 3.5 Valutazione dello stato di maturazione dell'uva in vigneto

Attuato attraverso l'acquisizione di immagini remote e contemporaneamente valutazione in situ e in laboratorio dello stato di maturazione fisiologica e fenolica dell'uva. Contemporaneamente saranno acquisite tramite sorvolo le immagini iperspettrali. La risoluzione temporale sarà molto serrata (3-4 giorni) allo scopo di differenziare le raccolte su comprensori con variabilità pedo-climatica.

Task 3.6 Caratterizzazione iperspettrale delle varietà nazionali di maggiore interesse

Costruzione di un modello di identificazione varietale, attraverso l'acquisizione in laboratorio della firma spettrale per un pool di varietà basata sulle loro proprietà di riflettanza/assorbanza a diverse lunghezze d'onda comprese tra il visibile e il vicino infrarosso, 400-1350 nm. Creazione di un database di riferimento.

Sotto-progetto: AgriInfo - Piattaforma Informatica

Infrastruttura informatica per la gestione di dati

AgriInfo è un progetto informatico molto articolato mirante a fornire una solida soluzione CLOUD 24H7 che consenta la mosaicatura di ogni tipologia di cartografia di base per gli scopi dell'ente, costituire uno strato di dati/comportamenti per l'I.o.T. gerarchizzata, permettere per mezzo delle attività dei sub-progetti di fornire anche un DSS consultabile in mobile via APP, e di diffondere ogni informazione, a chi ne abbia diritto d'accesso via Mobile Gis integrante un GeoData Warehouse. Ogni informazione sarà poi resa fruibile a tre tipologie di utenti per mezzo di un Enterprise Social Network in grado di funzionare come intranet social per i ricercatori, costituire un vero e proprio House Organ del CREA verso gli agricoltori e gli Stakeholder e gli Opinion Leader, con l'obiettivo di diffondere i risultati delle ricerche al più ampio pubblico, originando discussione e coinvolgendo varie tipologie d'utente. E' un progetto di ricerca trasversale ai precedenti 5 progetti e ha come obiettivo quello di dotare quegli stessi progetti della infrastruttura informatica necessaria a rendere accessibile via CLOUD, con certezza dell'identità degli addetti, i dati oggetto di ricerca e renderli fruibili a vari livelli.

Il progetto AgriInfo doterà l'ente Crea di una piattaforma informatica adeguata a porre le basi per il primo Big Data in agricoltura in Italia.

L'Ente dispone oggi di una struttura informatica limitata al soddisfacimento dei fabbisogni minimi per la gestione delle esigenze quotidiane, che sono prevalentemente organizzative, mentre i fabbisogni informatici del settore ricerca e divulgazione sono spesso limitati e finalizzati ai singoli task operativi.

AgriInfo si pone l'obiettivo di costruire un sistema Informativo di supporto alla ricerca definito con l'obiettivo di fornire una base non solo informativa ma anche metodologica in modo trasversale a tutti i settori di ricerca, per questi progetti e per quelli che verranno e che sarà riusabile da tutti i ricercatori e fruibile anche da operatori non specialistici per mezzo di App diffuse tra gli utenti.

Per ciò che attiene al supporto avanzato alla ricerca, conoscenza, accessibilità, riservatezza, privacy e sicurezza, il soddisfacimento dei requisiti minimi è oggi legato a soluzioni fisiche piuttosto che informatiche e logiche, il progetto oltre a rendere disponibile la tecnologia Cloud provvederà alla sicurezza, privacy e fruibilità dei dati a chi, ne sarà autorizzato in piena indipendenza dagli strumenti hardware disponibili.

Il progetto è pertanto un subset del progetto di più ampio respiro che mira a dotare l'Ente di una metodologia ed una tecnologia informatica Cloud in grado di soddisfare le sfide che la ricerca impone e imporrà nel prossimo quinquennio:

- sia sul fronte interno (ricerca, brainstorming, documentazione, metodologia, dati)
- sia sul fronte interno ma divulgativo (news scientifiche, pubblicazioni, riuso delle buone pratiche, componenti della ricerca, Stakeholders, Agricoltori)
- sia sul fronte esterno (divulgazione a tutti, diffusione delle notizie, informazione e confronto con popolazione, turisti).

WP 1. CLOUD

E' necessario che l'Ente si doti di un proprio Cloud, allo stato dell'arte in termini di sicurezza, privacy, fruibilità ecc. ecc. e che disponga di un sistema Single Sign On e protocollo SAML 2.0

Il sistema dovrà essere ospitato in un Cloud sotto il completo controllo dell'Ente, ospitato presso strutture pubbliche (Regioni/Università) o, successivamente, presso lo stesso CREA e ridonato secondo le migliori e più avanzate logiche progettuali.

In entrambi i casi l'Ente dovrà dotarsi di una struttura di governo e di controllo dell'infrastruttura tale da garantire piena fruizione in sicurezza dei dati e di poter fornire a terzi le informazioni richieste.

Le caratteristiche previste sono:

Cloud di server virtuali mix Windows/Linux a seconda dei requisiti dei componenti

- 3 ambienti paralleli:
 - ✓ Produzione
 - ✓ Quality
 - ✓ Sviluppo

Produzione e Quality debbono essere identici e simmetrici. Quality viene usato per testare gli aggiornamenti (SW e configurazione) e la loro messa in esercizio. I dati di Produzione debbono essere ribaltati in Quality con frequenza.

Sviluppo può essere un ambiente ridotto, utile per test e sviluppi, debug, unit test, integration test.

SingeSign On implementato mediante OpenSSO.

WP 2. Struttura Framework CMS

Task 2.1 CMS e ESN

Il portale dell'ente dovrà consentire, di erogare tutti i contenuti secondo una chiara logica distributiva multilevel e sintetizzabili secondo la logica dell'accessibilità in: gruppi di ricerca, gruppi interni di consultazione, gruppi esterni di divulgazione.

In prospettiva quinquennale il CMS dell'ente dovrà dare supporto alla informazione istituzionale sia in ambito ricerca sia in ambito comunicazione (lavoro, best pratics, organizzazione, bandi ecc. ecc.).

L'architettura che si propone è una soluzione mista **FlexCMP/Liferay**, per coniugare la solidità di una piattaforma consolidata e affidabile congiuntamente alla flessibilità di un componente OpenSource di larga diffusione, facilmente integrabile ed espandibile.

In sintesi:

- ✓ **FlexCMP** come Portal/CMS verso l'esterno
- ✓ **Liferay** come integrazione di portale verso l'interno
- ✓ **Soluzione Opendata**, basata su **Comprehensive Knowledge Archive Network (CKAN)**, come soluzione già consolidata OpenData
- ✓ **Open Source Social Network (OSSN)** come enterprise social network, open source, scalabile e integrabile negli altri componenti.

WP 3. Portale della Comunicazione

L'accesso sarà a vari livelli di privacy e sicurezza e consentirà ai vari interlocutori di discutere, fare brainstorming, divulgare e ricercare secondo le logiche dell'Enterprise Social Network (ESN).

Task 3.1 Comunicazione Scientifica dell'Ente

La Comunicazione Scientifica dell'ente è rivolta sia all'interno del singolo gruppo di ricerca sia ad altri gruppi di ricerca interni al CREA sia a gruppi di ricerca esterni all'Ente CREA.

Task 3.2 Comunicazione Stampa e news dell'Ente

La comunicazione Stampa e News riguarda tutte le news che l'Ente vorrà divulgare

Task 3.3 Comunicazione Amministrativa dell'Ente

La comunicazione amministrativa riguarda tutte le funzioni amministrative cui l'ente è obbligato per normativa, tutte le comunicazioni di servizio e tutte le informazioni relative ai progetti di ricerca sul lato amministrativo.

La piattaforma è la stessa indicata per il CMS:

- ✓ **FlexCMP** come Portal/CMS verso l'esterno
- ✓ **Liferay** come integrazione di portale verso l'interno
- ✓ **Soluzione Opendata**, basata su **CKAN**, come soluzione già consolidata OpenData
- ✓ **OSSN** come Enterprise social Network OpenSource, scalabile e integrabile negli altri componenti.

DBMS

PostgreSQL come motore DBMS, scalabile quanto basta per le esigenze del progetto. Eventuali analisi successive potrebbero portare a Oracle Enterprise Edition non per ragioni prestazionali ma per la presenza di maggiori tools per la diagnosi e il monitoraggio dello stato di salute del DB.

Big Data

Hadoop, soluzione open largamente diffusa ed integrabile con le altre componenti del sistema.

WP 4. GIS: SW Web GIS - mobile GIS; IoT

Il sistema fruirà della cartografia esistente nei vari ambiti pubblici (Ministeri, Regioni, Agenzie ecc.) e per mezzo del GIS costruirà l'informazione territoriale di base, sulla quale organizzare razionalizzare e integrare tutti i dati, nella certezza che se si vogliono gestire, pianificare, programmare le attività e gli interventi – pubblici e privati - a favore dello sviluppo e della tutela del territorio ed a sostegno delle aziende e dell'occupazione, non si può prescindere dall'informazione territoriale e dalla georeferenziazione di tutti i dati acquisiti dall'ente in termini di pianificazione, rilevazione diretta ed indiretta.

La soluzione vuole rispondere alla esigenza di realizzare una suite di strumenti/soluzioni in grado di mettere a fattor comune i dati cartografici ad oggi disponibili e quelli che afferiranno verso la piattaforma pensata come un data HUB accentratore di dati e applicazioni.

Lo sviluppo di applicazioni si caratterizza per la capacità di sviluppare modelli di business di tipo "data-driven" il corretto utilizzo dei dati è il punto cruciale dello sviluppo di un modello di business "win-win".

Oggi, in prospettiva sempre di più, sono i dati al centro dello sviluppo delle piattaforme informatiche: sono disponibili dati generati da sensori, da sistemi legacy, e sempre più da API Open Data.

Queste fonti mettono a disposizione enormi quantità di dati utilizzabili dalle applicazioni tramite web API e tramite un accesso a risorse remote.

In aggiunta il paradigma dell'Open Data verrà sempre più declinato nella sua versione Open "AnyData" e la diffusione dei sensori IoT forniranno le basi per realizzare piattaforme che potranno portare enormi benefici sia per lo sviluppo del business che per il miglioramento del processo decisionale e analisi delle opportunità.

La tecnologia e le infrastrutture di trasmissione dati (wireless, Cellular 3G/4G, Bluetooth) sono oramai allineate per l'utilizzo della sensoristica a livello massivo.

Lo sviluppo della componente GIS sarà basata su un'architettura SOA, IoT-enabled e cloudbased che possa portare strumenti e soluzioni innovative in grado di garantire uno sviluppo del business rivolto a tutti gli

utilizzatori finali della piattaforma benché eterogenei (imprenditori, decisori, cittadini, mondo della ricerca scientifica, etc.).

La piattaforma proposta progettata secondo il paradigma SOA non è scindibile dalla sua connotazione di implementazione "in ottica semantica": applicare le corrette ontologie ai dati, gli strumenti di inferenza e estrazione automatica sono una necessità applicativa per questo tipo di architetture/soluzioni. L'implementazione del sottosistema GIS /WEBGIS quindi non può non ricalcare queste impostazioni: architettura SOA, analisi semantica dei dati provenienti dalle sorgenti dati, quindi dai sensori (IOT) e API Web di interfacciamento per l'interoperabilità e la costruzione di soluzione CloudBased, infine creazione dei GeoSpatialLinkedOpenData.

In particolare le tecnologie abilitanti saranno basate su suite GIS Server/ GIS Portal e dal Framework Open Source FIWARE.

FIWARE è la piattaforma Open Source indicata anche dalla commissione Europea per i progetti di Smart Farming pensata per costruire applicazioni Smart.

La piattaforma offre agli sviluppatori diverse tecnologie disponibili come servizi che possono essere combinate per creare applicazioni complesse. Le tecnologie FIWARE includono soluzioni per Big Data, Internet of Things, Sicurezza.

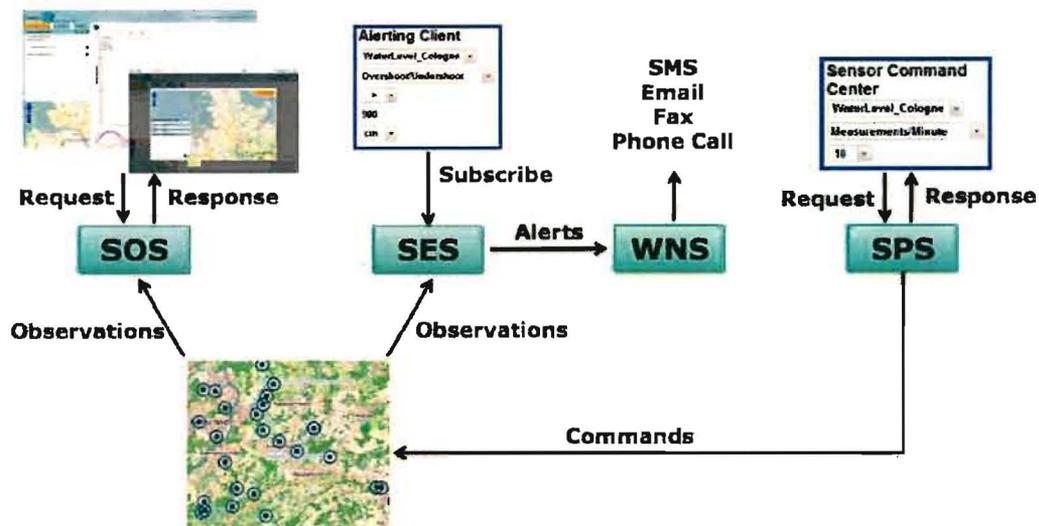
La piattaforma è strutturata per raccogliere dati da varie fonti (OpenData, HFS, SOS, RDBMS etc.) e organizzare le informazioni raccolte e l'analisi per creare dati storici, infine per comporre le applicazioni web e mobile.

FIWARE è dotato di connettori verso molti GIS Server in grado di raccogliere i dati da sensori sul campo e renderli immediatamente disponibili alle piattaforme di visualizzazione (WebGIS) e analisi dei dati. Le componenti di GIS dedicate allo sviluppo di applicazioni SMART e real-time su grosse mole di dati (Big Data) saranno implementate allo scopo di realizzare applicazioni innovative.

L'implementazione di vasi strati GIS (Server, Event, Extension e GIS Server Open Data) consentiranno di traguardare l'obiettivo di realizzare un data HUB GIS in grado di sistematizzare opportunamente tutti i dati cartografici che saranno resi disponibili e integrare nel modello applicativo della "Smart Farm" i dati realtime che provengono dal campo attraverso i sensori IOT e le piattaforme "mobile".

GISGeoEvent è in grado di connettersi con flussi di dati in tempo reale, inclusi i dispositivi mobili, sensori, a bordo dei veicoli dispositivi GPS, e fornitori di social media. Ospita più flussi di dati che fluiscono continuamente attraverso filtri definiti dall'utente e fasi di lavorazione.

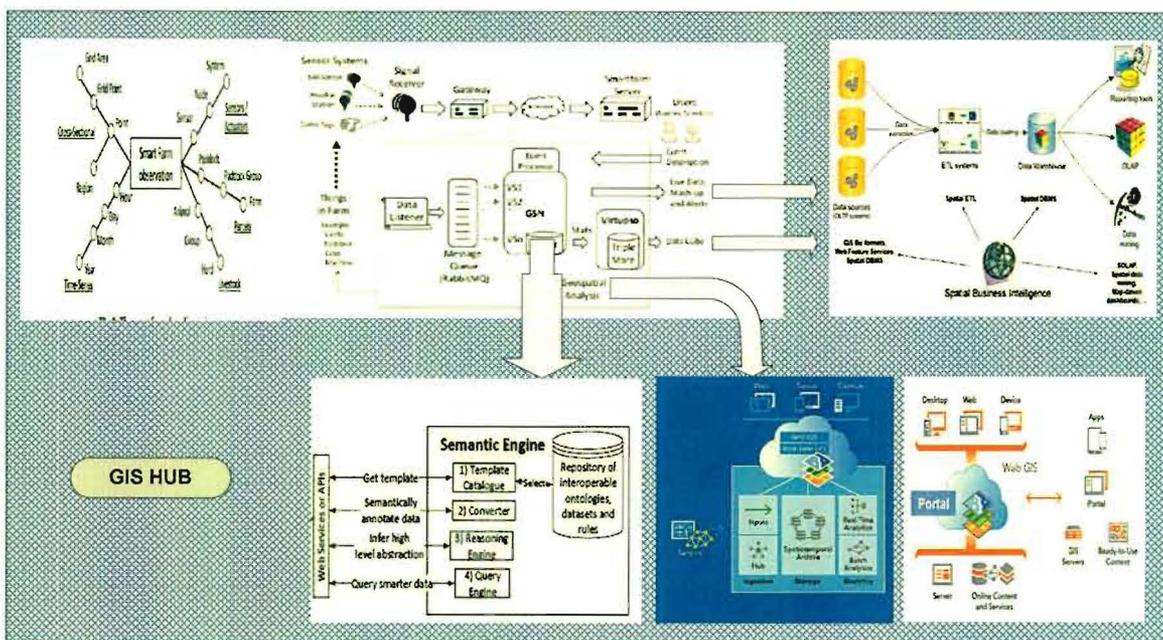
Il GIS Server SOS implementa le specifiche SWE (SOS, SES, SPS, etc.) e consente l'interrogazione di dati di osservazioni (dati da sensori): tutte le istanze di risorse catalogate e disponibili potranno essere interrogate e potranno essere filtrate con potenti operazioni di query.



Infine l'estensione Gis DroneMap è in grado di utilizzare droni per le operazioni di mapping, di sorveglianza e analisi per fornire, anche in questo caso analisi territoriali localizzate e in tempo reale.

Le componenti software prima citate sono quelle che a livello concettuale saranno alla base della realizzazione del GIS HUB.

Il GIS HUB non è un semplice gateway applicativo ma un vero e proprio "semantic-based HUB": in grado di classificare i dati provenienti dai sensori secondo logiche che vanno al di là della semplice classificazione in ottica Data Ware House, capace cioè di applicare specifiche ontologie e inferenze ai dati in funzione dei domini applicativi nei quali si vogliono riutilizzare gli stessi, ovvero nella costruzione delle applicazioni web e su dispositivi "mobile", che siano specifiche per la visualizzazione, analisi, previsione, decisione e rivolte agli eterogenei stakeholder di progetto.



Task 4.1 Mobile GIS Server

Tutta la cartografia così recepita sarà assemblata in un Unicum Geografico georeferenziato. La copertura sarà limitata alle zone nelle quali verranno localizzati i progetti di ricerca e solo successivamente estesi a copertura dell'intero territorio

Lo strumento, le librerie, le API, e soprattutto i dati saranno la base sulla quale tutti gli altri sub progetti georeferenzieranno i propri sensori e i propri dati.

Task 4.2 Internet of Things

L'Internet of Things oltre a rilevare fenomeni in continuo e consentire quindi una migliore precisione nella modellistica previsionale, produrrà anche una notevole quantità di dati relativi ad ogni aspetto del mondo agricolo-selvicolturale-zootecnico.

L'Internet of Things fornirà dati in continuo ed in tempo reale da parte dei 4 progetti di ricerca.

Il progetto prevede un impianto della piattaforma e la realizzazione di tutti i componenti necessari nel contesto scelto, e la produzione di tutti i task previsti nei WP originali.

Task 4.3 Data support system

Tutte le informazioni, i dati, le logiche informative e informatiche dei 5 sotto progetti dovranno essere supportate da AgriInfo secondo una logica unitaria, consistente e coerente:

- medesima base dati cartografica

- medesime logiche di accesso, autenticazione, fruizione
- medesimo schema di rappresentazione e fruibilità dei dati trasversalmente tra tutti i sotto progetti di questa ricerca e dei futuri progetti dell'Ente.

Articolazione temporale

Cronoprogramma																																						
Anno		1												2												3												
Quadrimestre		1			2			3			4			5			6			7			8			9												
Mese		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	
WP1		Cloud s.s.o.																																				
task 1.1		P	P	P	P	G	G	G	F	F	F	F	F	F	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
WP2		Struttura e Framework CMS																																				
task 2.1	CMS e ESN.	P	P	P	P	G	G	G	F	F	F	F	F	F	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
WP3		Portale della Comunicazione																																				
task 3.1	Comunicazione Scientifica dell'ente	P	P	P	P	G	G	G	F	F					F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
task 3.2	Comunicazione Stampa e news dell'ente	P	P	P	P	G	G	G	F	F					F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
task 3.3	Comunicazione Amministrativa dell'ente	P	P	P	P	G	G	G	F	F					F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
WP4		GIS; IOT; DSS																																				
task 4.1	Mobile Gis Server	P	P	P	P	G	G	G	F	F	F	F	F	F	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
task 4.2	Internet of Things	P	P	P	P	G	G	G	F	F					F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
task 4.3	Data support system	P	P	P	P	G	G	G	F	F																												

P	Progettazione
G	Gara/fornitura
F	Fornitura
O	Operatività

Prospetto dei costi previsti

Progetto: BIOTECNOLOGIE SOSTENIBILI PER L'AGRICOLTURA ITALIANA

Sottoprogetto	Costi €
CITRUS-BIOTECH	570.000
BioSOSFru	966.000
CISGET	900.000
QUALIMEC	732.000
GEO	150.000
Wh-ITALY	390.000
SusRice	220.000
VITECH	800.000
GenOliCS	300.000
PIOPPINGENE	202.000
PATHORES	230.000
WHEADIT	415.000
SBEVAL	120.000
Coordinamento triennale	85.000
Totale	6.080.000

Progetto: AgriDigit-AGRICOLTURA DIGITALE

Sottoprogetto	Costi €
AgroFiliere	3.000.000
AgroModelli	1.600.000
Selvicoltura	790.000
Zootecnia	780.000
Viticoltura	1.110.000
AgriInfo piattaforma informatica	600.000
Coordinamento triennale	85.000
Totale	7.965.000
Totale costi operativi	14.045.000

Investimenti

BIOTECNOLOGIE SOSTENIBILI	2.487.000
AgriDigit-AGRICOLTURA DIGITALE	4.468.000
Totale investimenti	6.955.000

Totale generale: Costi operativi + Investimenti **21.000.000**