

GIORNATA DEL MAIS
26 gennaio 2024

Ricerca e sperimentazione nell'iscrizione di nuove varietà di mais al registro nazionale

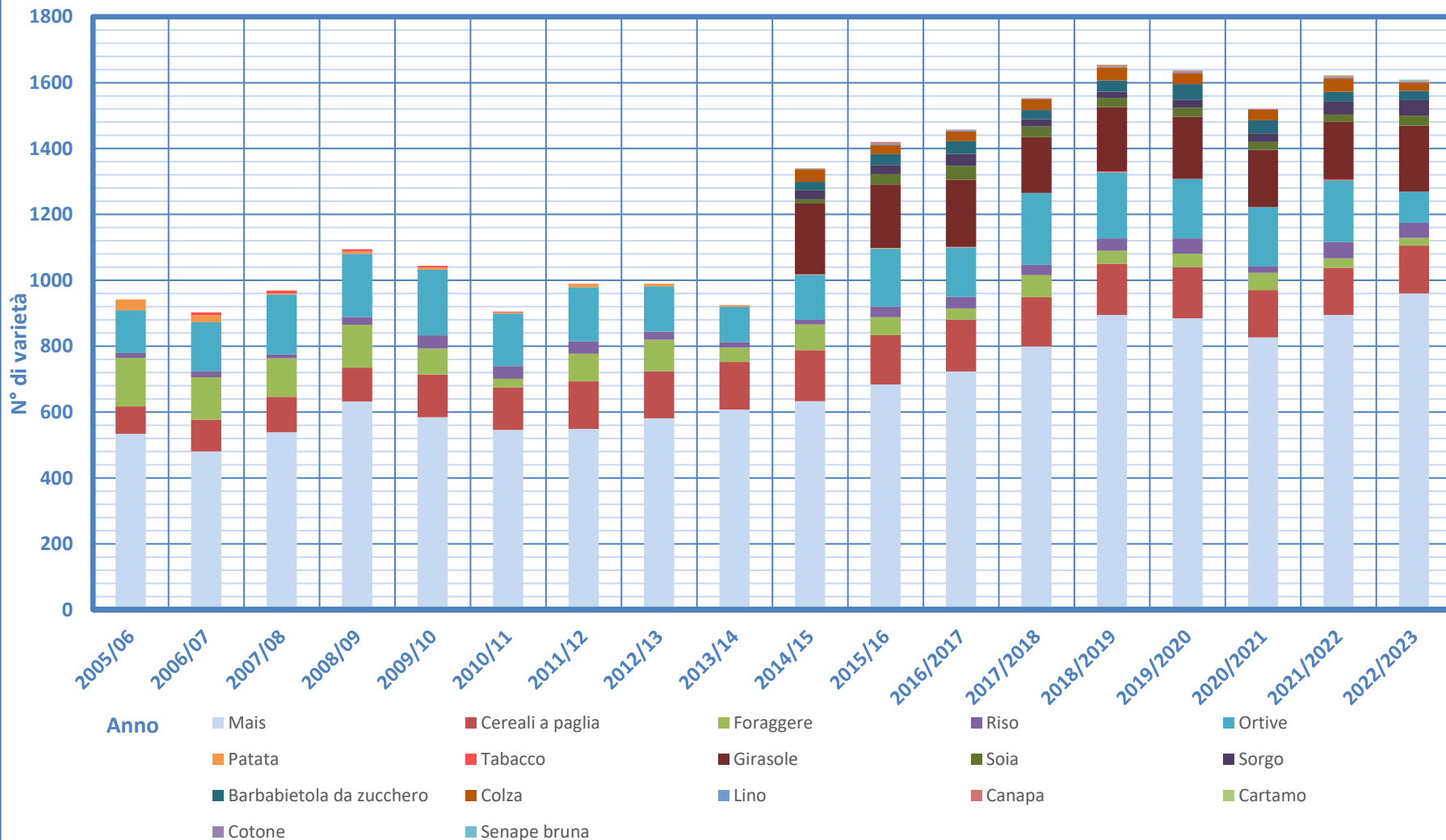
Anna Giulini
**CREA-DC Centro di ricerca Difesa e
Certificazione
MILANO**

- ❖ **Iscrizione registro nazionale 2023**
- ❖ **Privativa CPVO 2023**
- ❖ **News dall'Europa**
- ❖ **Varietà di mais vs *Aspergillus flavus***

Il CREA-DC si occupa, per delega del MASAF, di controllo e certificazione di materiali sementieri e valutazione dei requisiti richiesti per iscrizione o rilascio di privativa di varietà vegetali



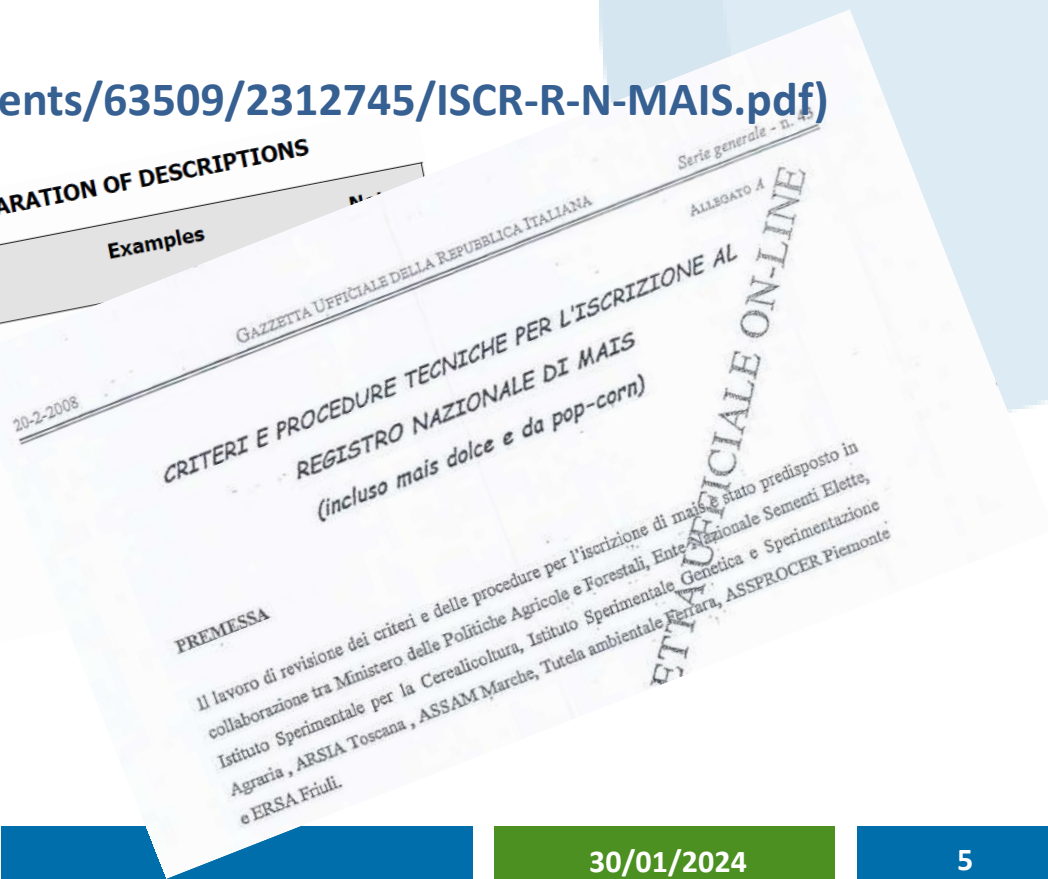
ESAMI TECNICI PER IL REGISTRO NAZIONALE



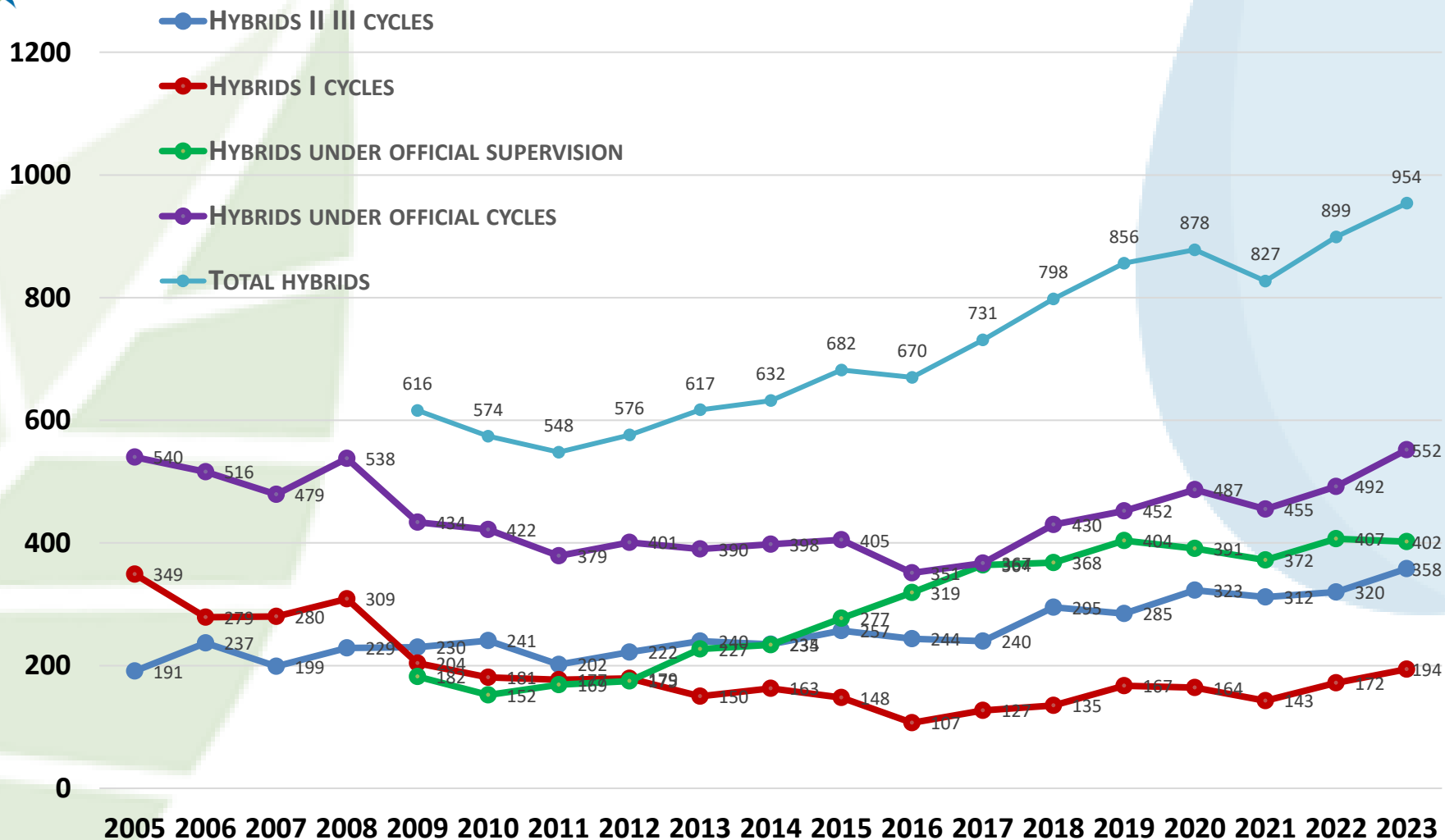
- **DUS: Protocollo CPVO TP/2/3 del 11 marzo 2010**
(http://cpvo.europa.eu/sites/default/files/documents/TP/agricoles/TP_002-3_ZEA_MAYS.pdf)
- **VCU: Criteri e procedure per le prove di iscrizione mais (D.M. 21 gennaio 2008)**
(<https://www.crea.gov.it/documents/63509/2312745/ISCR-R-N-MAIS.pdf>)

TABLE OF CHARACTERISTICS TO BE USED IN DUS-TEST AND PREPARATION OF DESCRIPTIONS

CPVO N°	UPOV N°	Stage ¹	Characteristics	Examples
1.	1.	VG	First leaf: anthocyanin coloration of sheath	
QN		14	absent or very weak	
		(S)	weak	
			medium	
			strong	
			very strong	



Ibridi in prova dal 2005 al 2023



CLASSI FAO/ ANNI DI PROVA	200	300	400	500	600	700	TOTALE
I	98	21	10 (1r)	15	10 (1 varietà)	16 (2r)	170
IU	176	63	45	50	40	20	394
II	171	58	38	29	32	13	341
III						1	1
TOTALE	445	142	93	94	82	50	906

CLASSI FAO/ ANNI DI PROVA	200	700	TOTALE
I	24	-	24
IU	2	6	8
II	12	4	16
TOTALE	38	10	48



Prove speciali

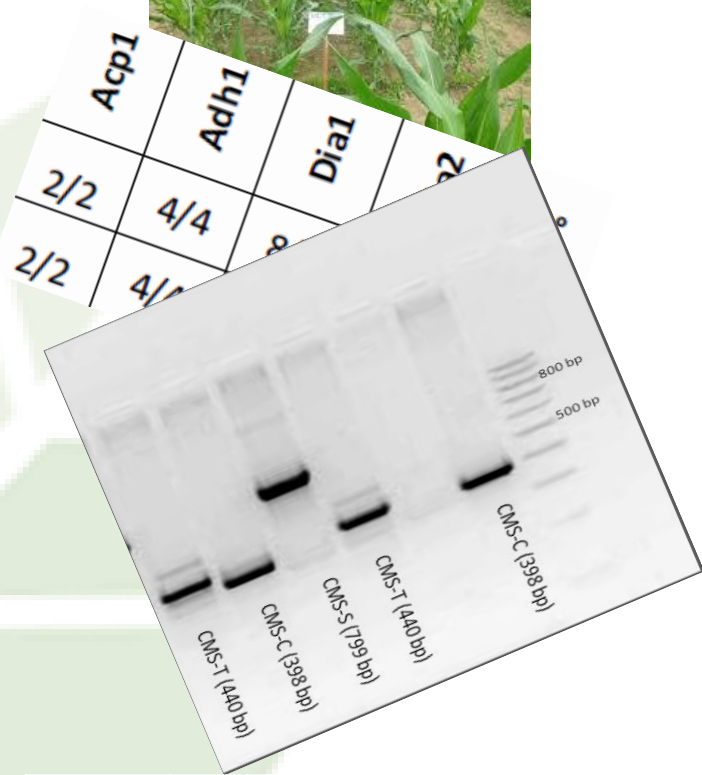
Ibridi resistenti a Cycloxydime	8
Amiloso Estender	1
Reiscrizione	3
Short corn	17

Tipologie differenti di granella

Ibridi con granella vitrea	69
Ibridi con granella semi vitrea	97
Ibridi con granella Wx	11
Ibridi con granella bianca	1

Ibridi a più vie e top cross

Ibridi a tre vie	73
Ibridi a quattro vie	5
Varietà a libera impollinazione	1



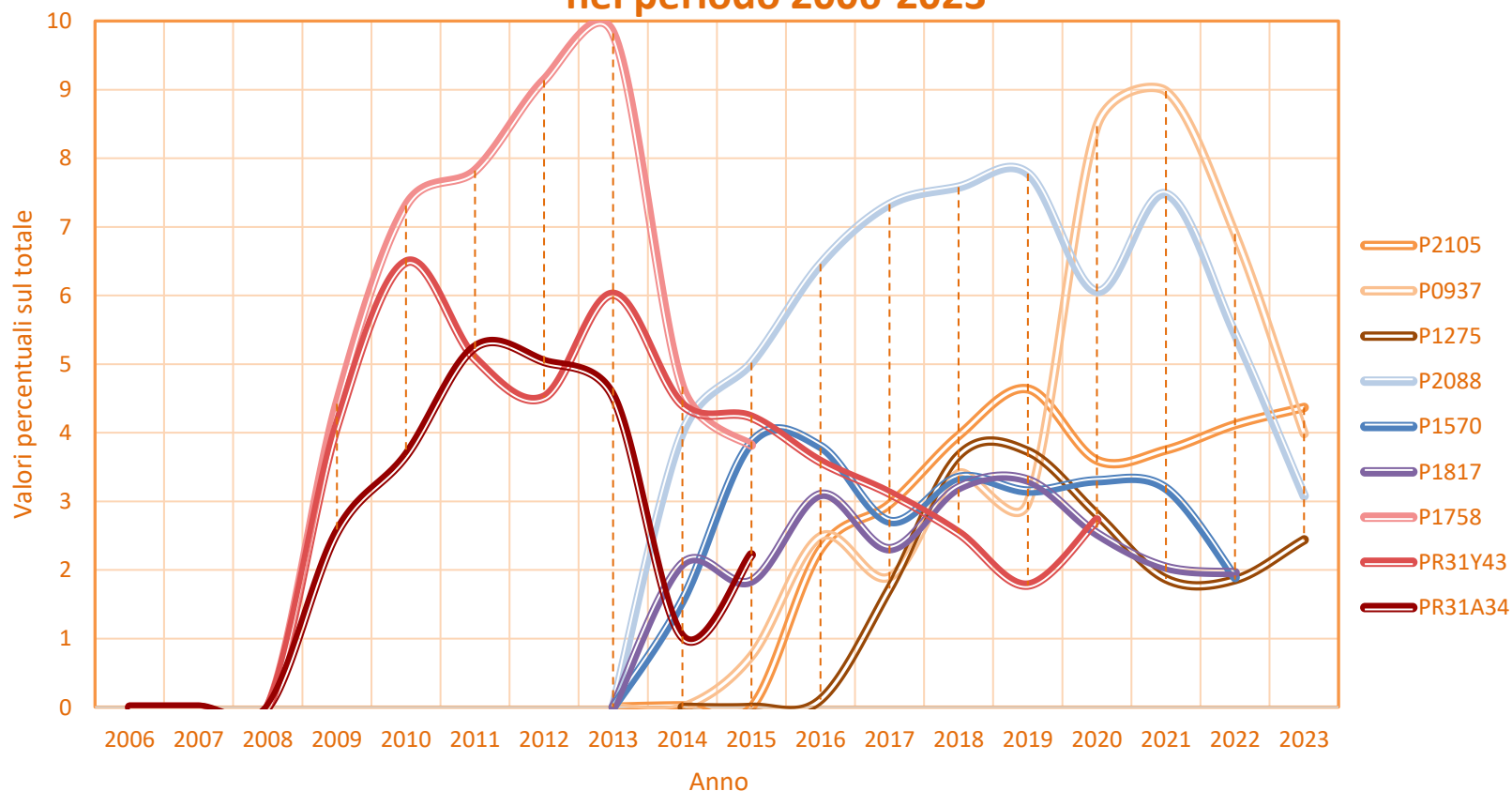
- prove in parcella per un confronto morfofisiologico con il campione di controllo maschiofertile conservato nella collezione di riferimento CREA-DC
- analisi elettroforetica
- analisi PCR per verificare il tipo di maschiosterilità presente



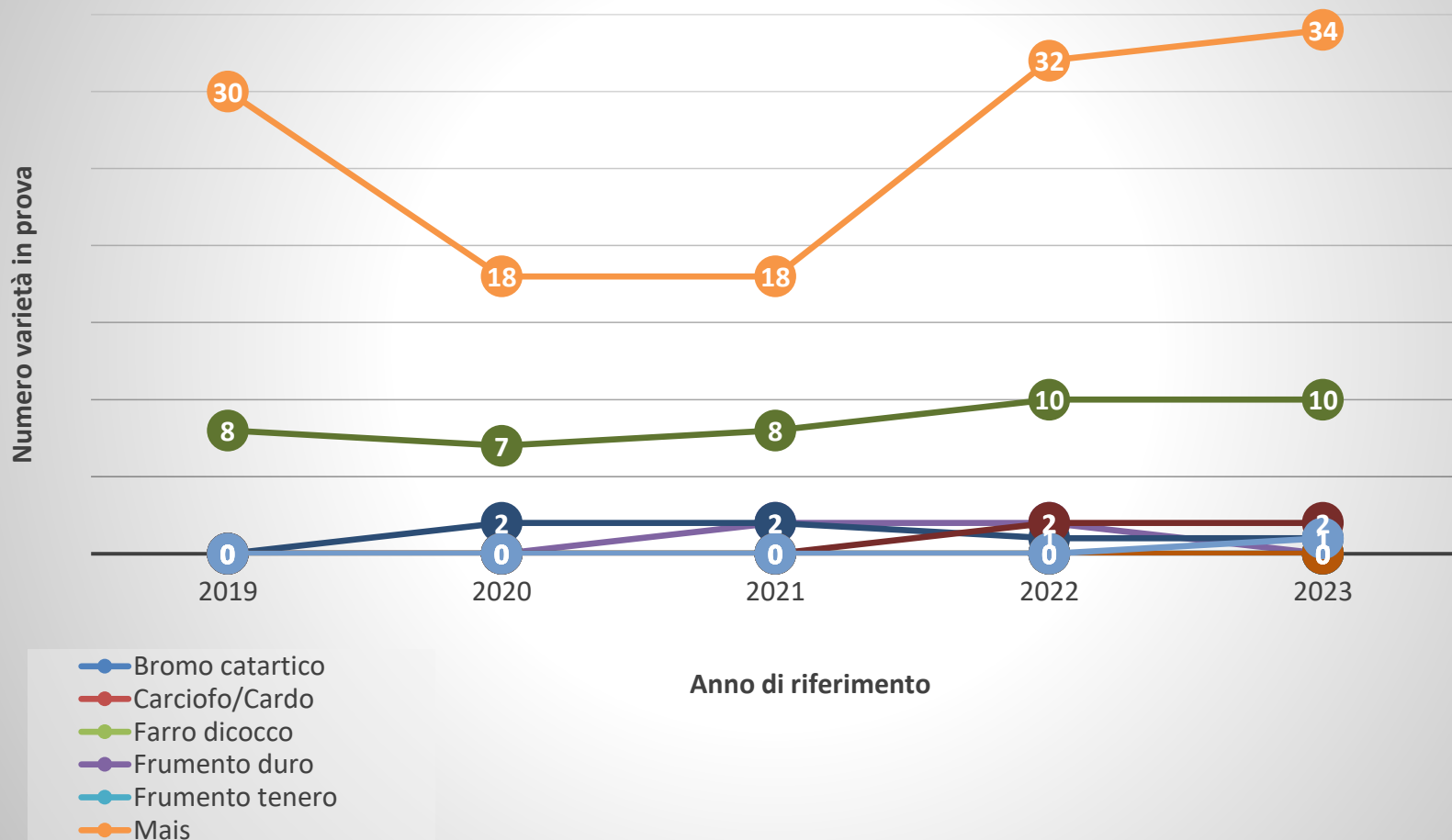
STERILE

	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023
STERILE	25	12	8	19	8	2	1	8	12	4	10	4

Dinamica delle quantità certificate per le prime 10 varietà di mais nel periodo 2006-2023

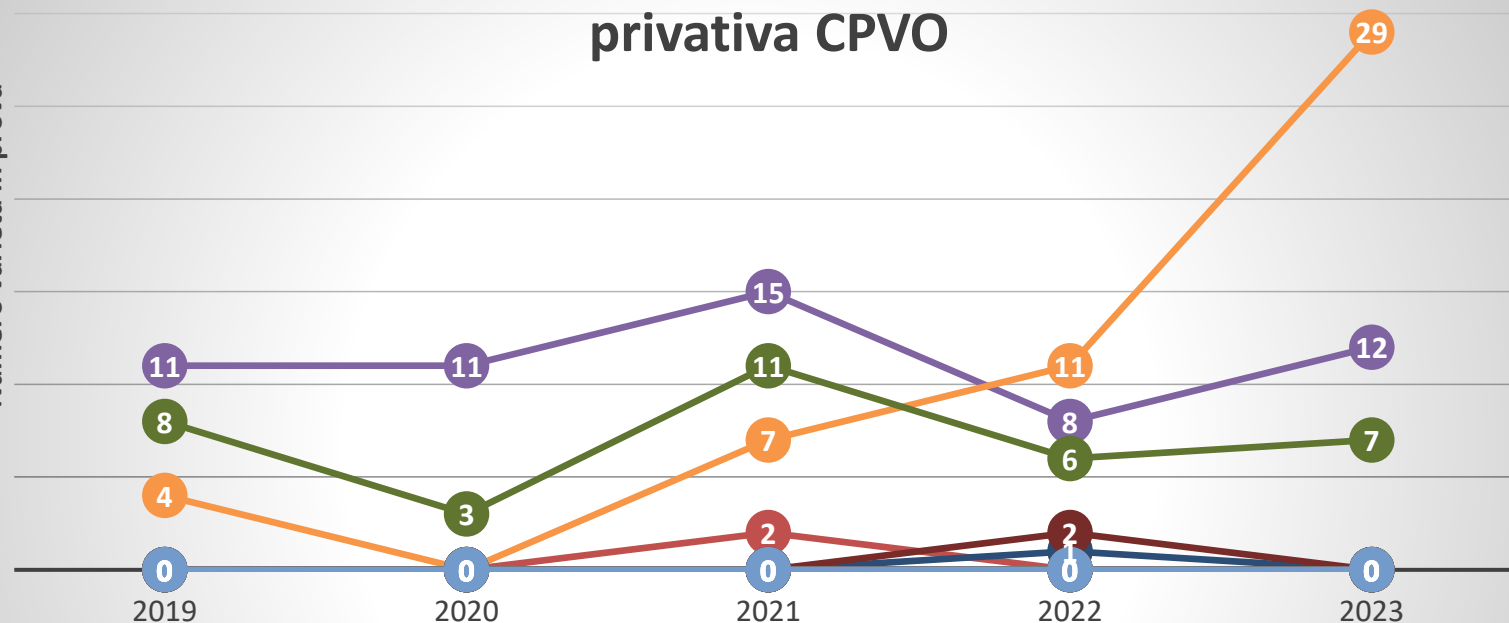


Andamento nel tempo delle prove effettuate per il rilascio di privativa da parte del CPVO



Andamento nel tempo dei rilasci di take over per privativa CPVO

Numero varietà in prova



Anno di riferimento

- Bromo catartico
- Carciofo/Cardo
- Farro dicocco
- Frumento duro
- Frumento tenero
- Mais
- Melone
- Pomodoro
- Riso

- ❑ **Direttiva di esecuzione (UE) 2022/1647 della Commissione del 23 settembre 2022 che modifica la direttiva 2003/90/CE per quanto riguarda una deroga per le varietà biologiche delle specie di piante agricole adatte alla produzione biologica (Recepita)**

- **Incontro tra MASAF e CREA-DC per definire le basi e i presupposti da seguire per lo svolgimento delle prove DUS e VCU per l'iscrizione di varietà biologiche al Registro nazionale (giugno 2023)**
- **Identificati nuovi caratteri per la valutazione delle varietà biologiche nella prova VCU**
- **Recepita con DM 28 giugno 2023 (G.U. 28-07-2023)**

- ✓ prove di resistenza/tolleranza nei confronti di patogeni specifici (trasmessi via suolo e tramite seme) mediante: test in pieno campo con inoculo del patogeno/condizioni controllate (laboratorio/analisi molecolari)
- ✓ valutazione della competizione e tolleranza alle infestanti mediante lo studio della parte epigea della pianta: analisi dello sviluppo giovanile rapido (“early vigor”)/misura della biomassa/portamento della pianta
- ✓ misura dell'efficienza nell'utilizzo dell'azoto (Nitrogen use efficiency - NUE - $N\text{-resa} / N\text{-estratto (kg/ha)} = \text{Resa in granella} \times 0,86 \times (\text{Contenuto proteine granella \% s.s.} / 5,7)$)
- ✓ valutazione resistenza agli agenti abiotici: alla siccità e/o al freddo mediante esperimenti *ad hoc* o mediante studio interazione GxE attraverso le nuove tecnologie di apprendimento automatico (Machine learning - AMBARTI)

Proposta di REGOLAMENTO DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO 2023/0227 (COD), relativo alla produzione e alla commercializzazione di materiale riproduttivo vegetale nell'Unione

modifica i regolamenti (UE) 2016/2031, (UE) 2017/625 e (UE) 2018/848 del Parlamento europeo e del Consiglio, e che abroga le direttive 66/401/CEE, 66/402/CEE, 68/193/CEE, 2002/53/CE, 2002/54/CE, 2002/55/CE, 2002/56/CE, 2002/57/CE, 2008/72/CE e 2008/90/CE del Consiglio (regolamento sul materiale riproduttivo vegetale)

- ❖ **Si inserisce nell'ambito delle politiche generali del Green Deal europeo e delle relative**
- ❖ **Affronta le sfide poste dai cambiamenti climatici,**
- ❖ **Promuove la protezione dell'agrobiodiversità**
- ❖ **Sostiene qualità e sostenibilità del materiale riproduttivo vegetale;**
- ❖ **Agevola il progresso tecnico, quali l'uso di tecniche biomolecolari.**

SEZIONE 2

REQUISITI PER LA REGISTRAZIONE DELLE VARIETÀ

Articolo 47

Requisiti per l'iscrizione nei registri nazionali delle varietà

- **NGT (Nuove tecniche genomiche) di categoria 1**
- **NGT di categoria 2**

Articolo 52

Valore agronomico e di utilizzazione sostenibile

- resa, compresa la stabilità della resa e la resa in condizioni a basso impiego di fattori di produzione;
- tolleranza/resistenza agli stress biotici, comprese malattie delle piante causate da nematodi, funghi, batteri, virus, insetti e altri organismi nocivi;
- tolleranza/resistenza agli stress abiotici, compreso l'adattamento alle condizioni dei cambiamenti climatici;
- utilizzo più efficiente delle risorse naturali, quali l'acqua e i nutrienti;
- minore necessità di fattori di produzione esterni, quali i prodotti fitosanitari e i fertilizzanti;
- caratteristiche che migliorano la sostenibilità dell'immagazzinamento, della trasformazione e della distribuzione;
- qualità o caratteristiche nutrizionali.

Articolo 59

Esame tecnico della varietà

- L'esame tecnico è effettuato mediante coltivazione della varietà, tenendo conto dell'utilizzazione prevista e delle condizioni di coltivazione della varietà. Altri mezzi, compreso l'uso di tecniche biomolecolari, possono essere utilizzati come strumento supplementare,

Articolo 60

Audit presso i locali dell'autorità competente

- L'autorità competente del rispettivo Stato membro può effettuare l'esame tecnico per quanto concerne il rispetto dei requisiti in materia di distinzione, omogeneità e stabilità di cui agli articoli da 48 a 50 soltanto dopo che i locali e le modalità di lavoro dedicati a tale attività siano stati ritenuti idonei a effettuare tale esame in seguito ad un audit svolto dall'Ufficio comunitario delle varietà vegetali o dalla Commissione (CPVO).

Articolo 61

Autorizzazione del richiedente a effettuare un esame tecnico del valore agronomico e di utilizzazione sostenibile

In deroga all'articolo 59, paragrafo 2, l'esame tecnico per stabilire se la varietà presenta un valore agronomico e di utilizzazione sostenibile, conformemente all'articolo 52, o parte di essa, può essere svolto dal richiedente se:

- a) il richiedente è stato autorizzato dall'autorità competente del rispettivo Stato membro;**
- b) l'esame è svolto sotto sorveglianza ufficiale e sotto la guida dell'autorità competente interessata;**
- c) l'esame viene svolto presso locali dedicati a tale fine.**

Metodo

- **Rolled Towel Assay:** valutazione della % di germinabilità e dello sviluppo delle plantule in semi di mais inoculati con sospensione di conidi fungini ($50 \mu\text{l}^{-1} \times 10^6$ conidi/ml) posti a germinare 7 giorni a 28°C al buio e 95% umidità mediante una scala a 5 punti.

Materiale

- Ibridi e linee di mais iscritte al registro nazionale (2000-2022) presenti nella collezione del registro (consenso costitutore) e linee pubbliche. Sono state saggiate circa 140 varietà tra linee e ibridi.
- Sospensione conidica di *Aspergillus flavus*. Patogeno fungino isolato da seme di mais.

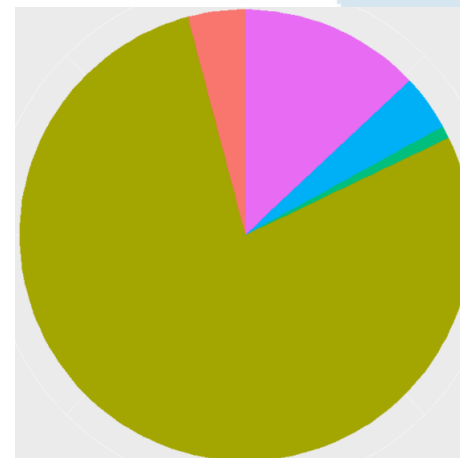
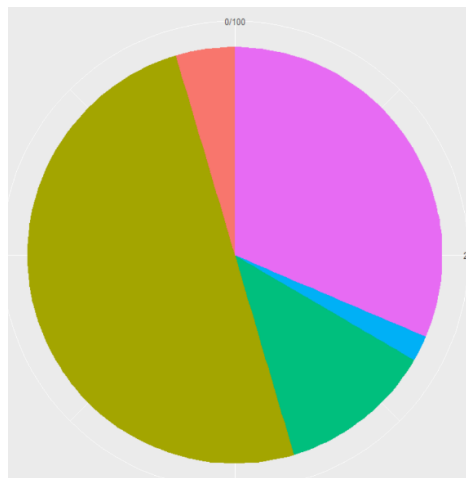


- 1. seme germinato, plantula sana, no colonizzazione
- 2. seme germinato, lieve colonizzazione vicino al pedicello
- 3. seme germinato con colonizzazione diffusa su tutto il seme e coleoptile parzialmente marrone
- 4. seme germinato, sviluppo plantula ridotto e completa colonizzazione del seme
- 5. seme non germinato

2001

2010

group



1



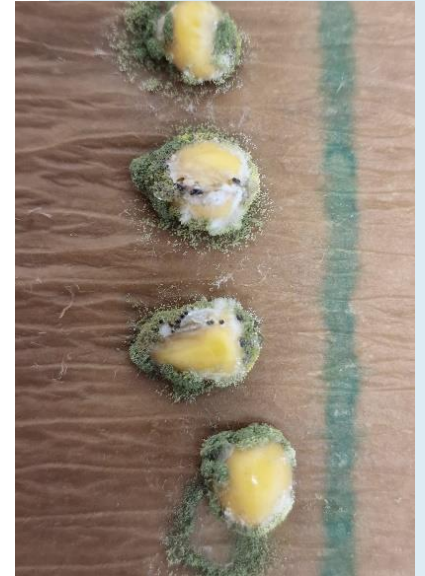
2

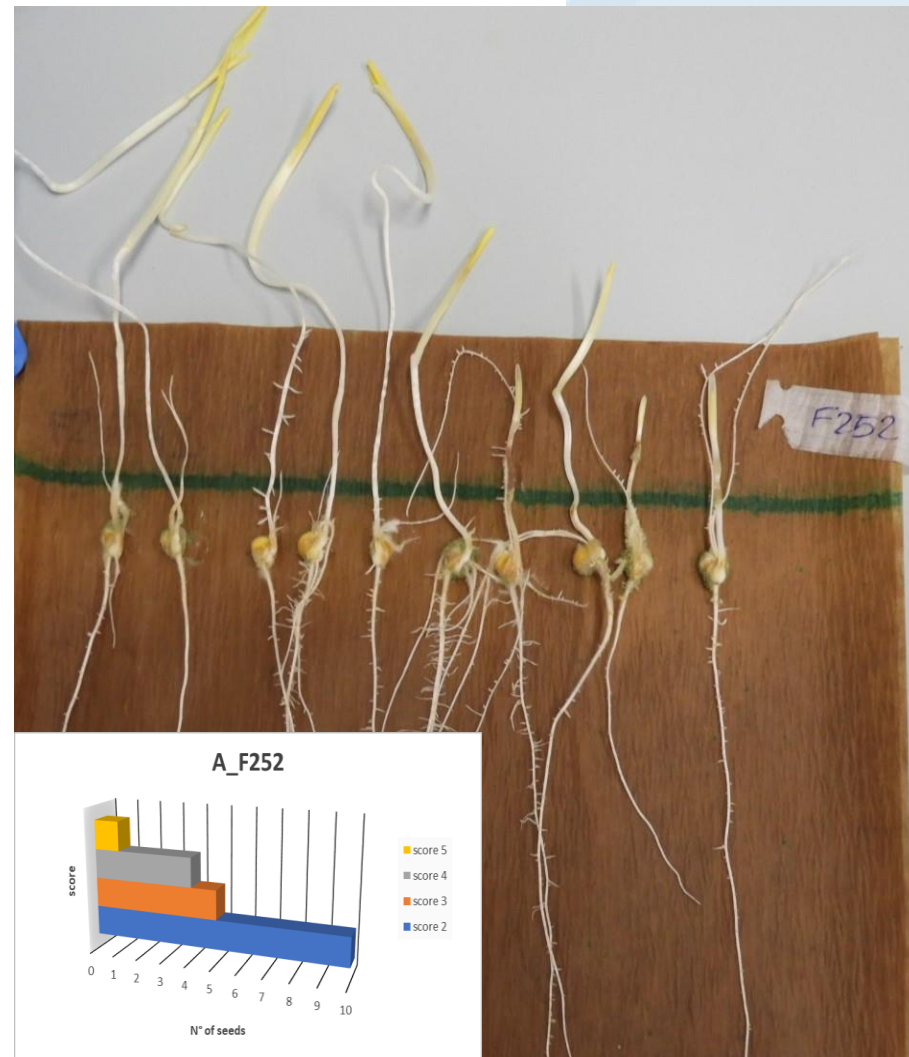
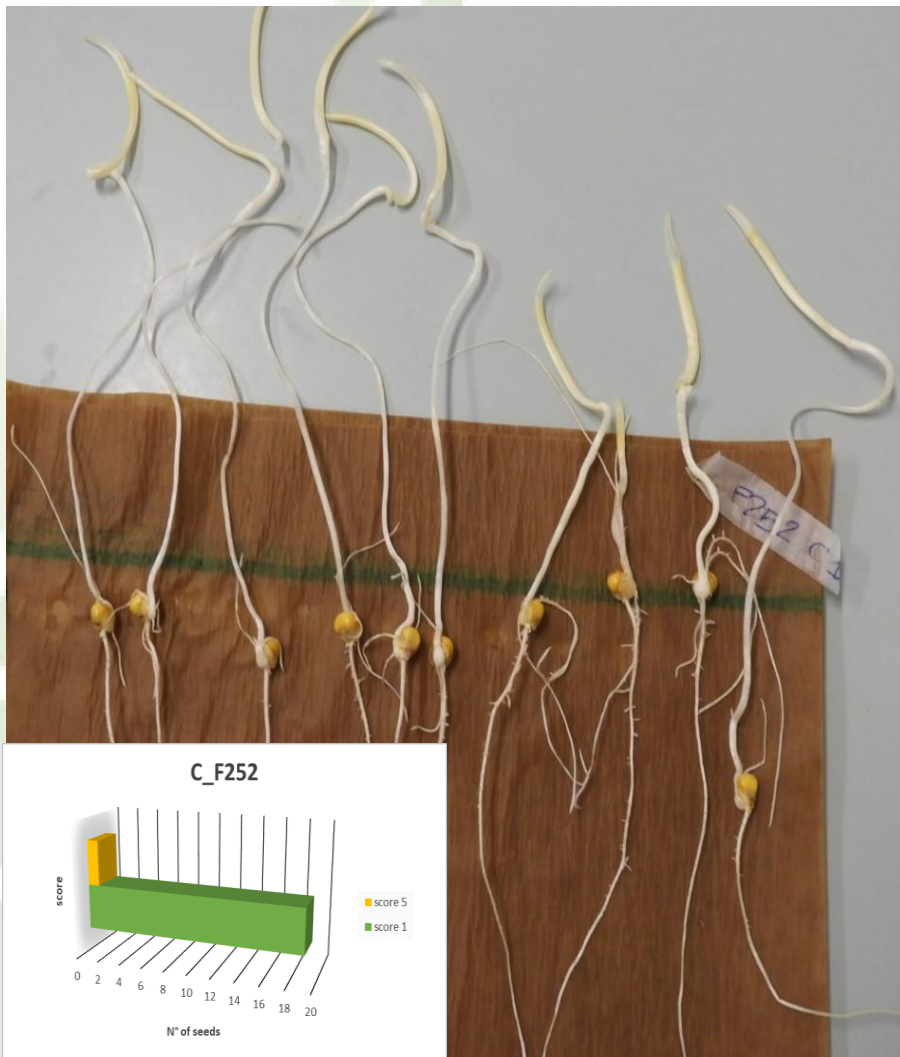


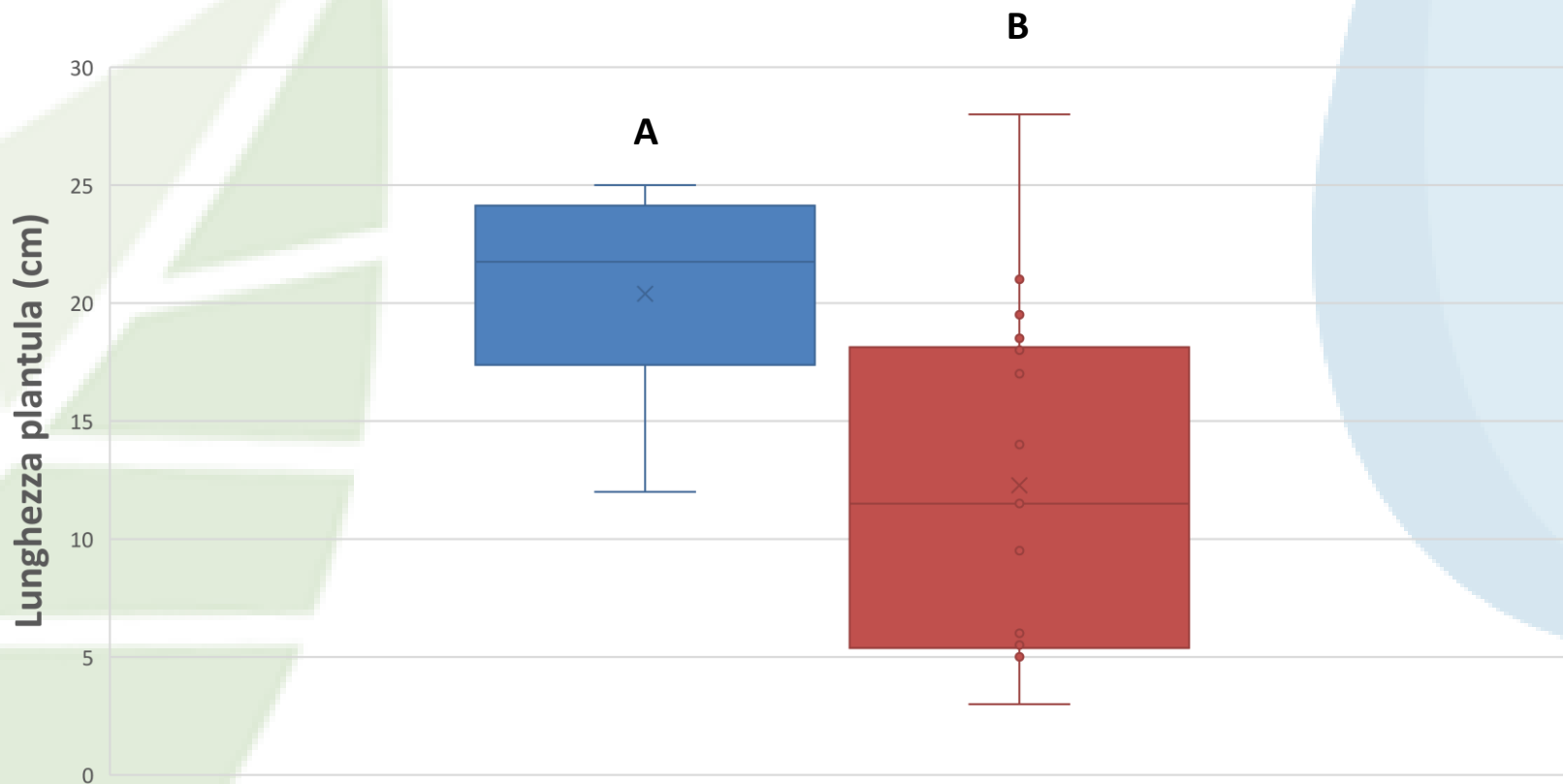
3 e 4



5

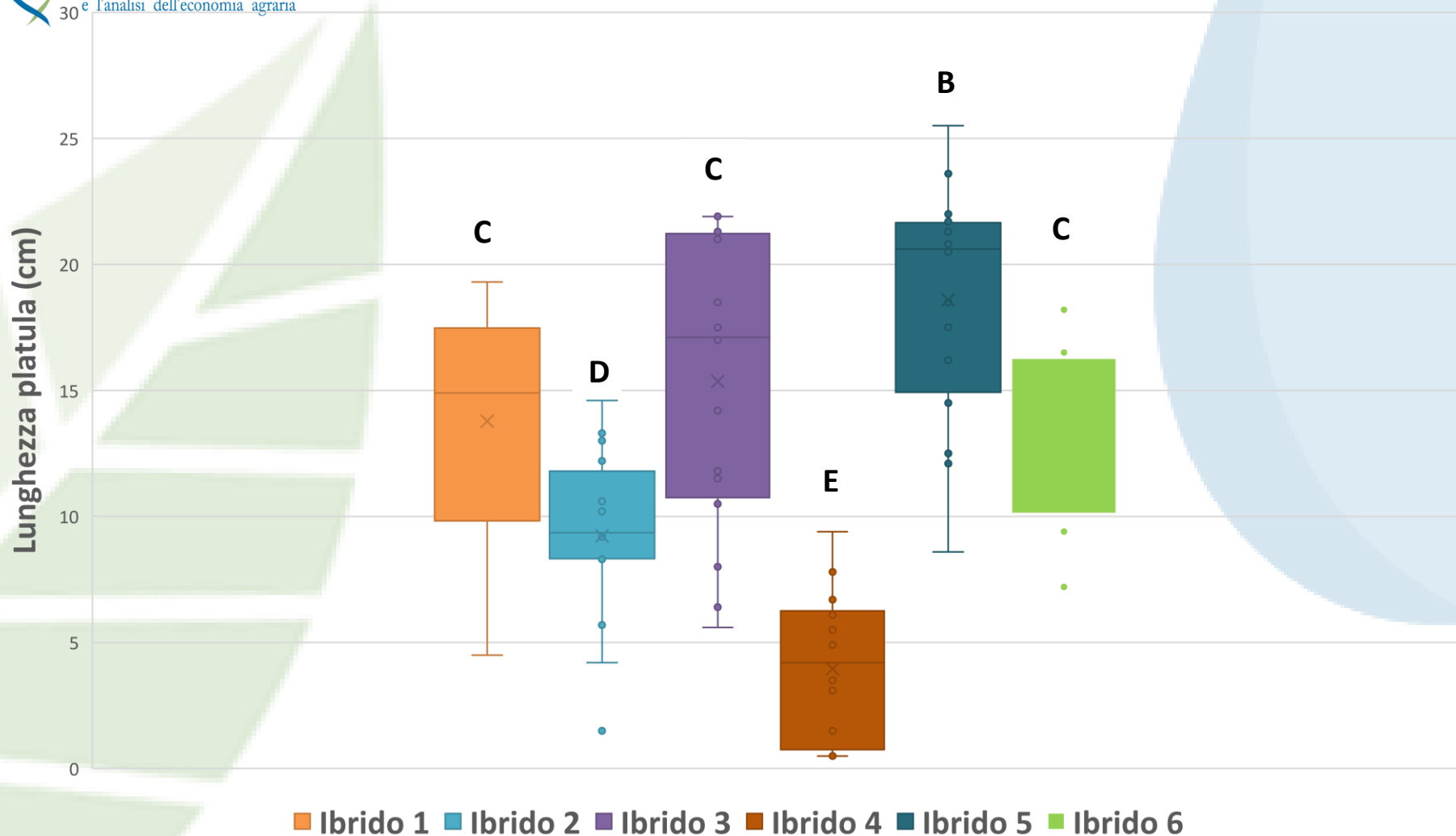






Test di normalità (Test di Kolmogorov-Smirnov).

ANOVA - $F = 17.22$; GDL = 2 p-value = 0.0002 ***. E' stato utilizzato post-hoc di Fisher.



Test di normalità (Test di Kolmogorov-Smirnov).

ANOVA - $F = 24.87$; GDL = 5 p-value < 0.0001 ***. E' stato utilizzato post-hoc di Fisher.

Identificazione di 6 classi di sensibilità/tolleranza ad *A. flavus* in ibridi di mais

A = molto tollerante

B = Tollerante

C = medio tollerante

D = medio sensibile

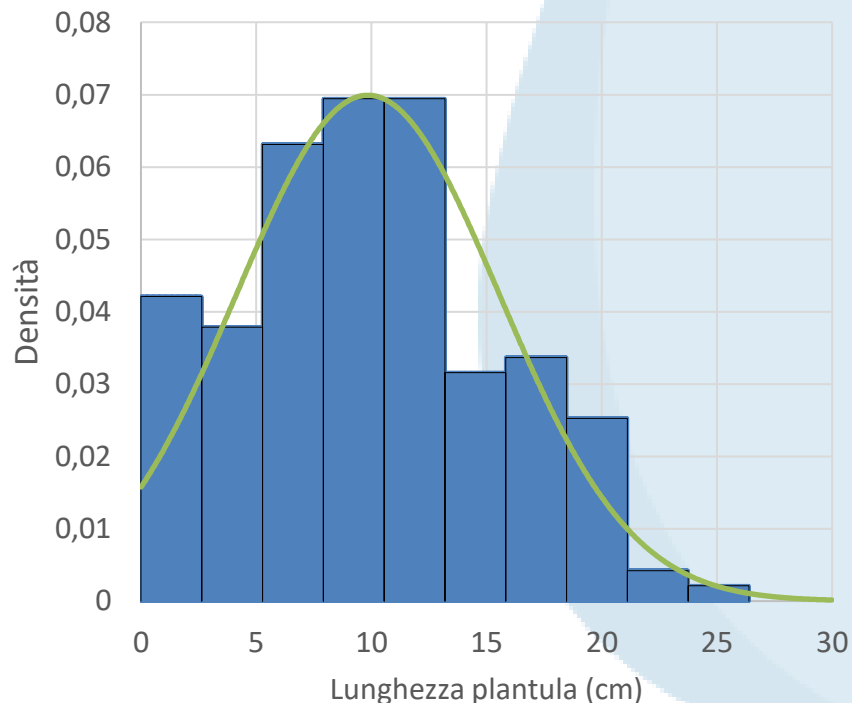
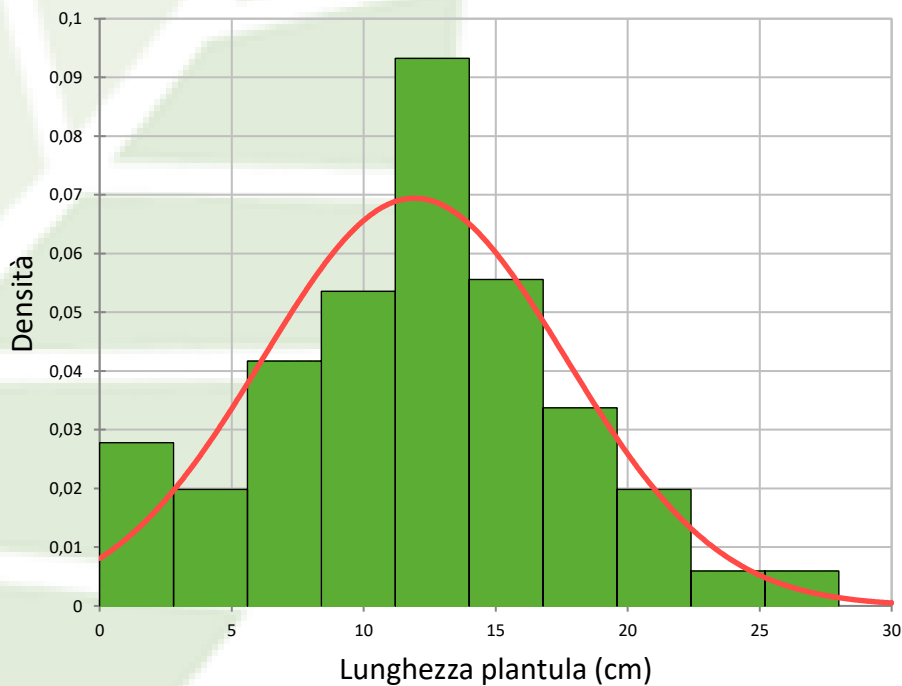
E = sensibile

F = molto sensibile

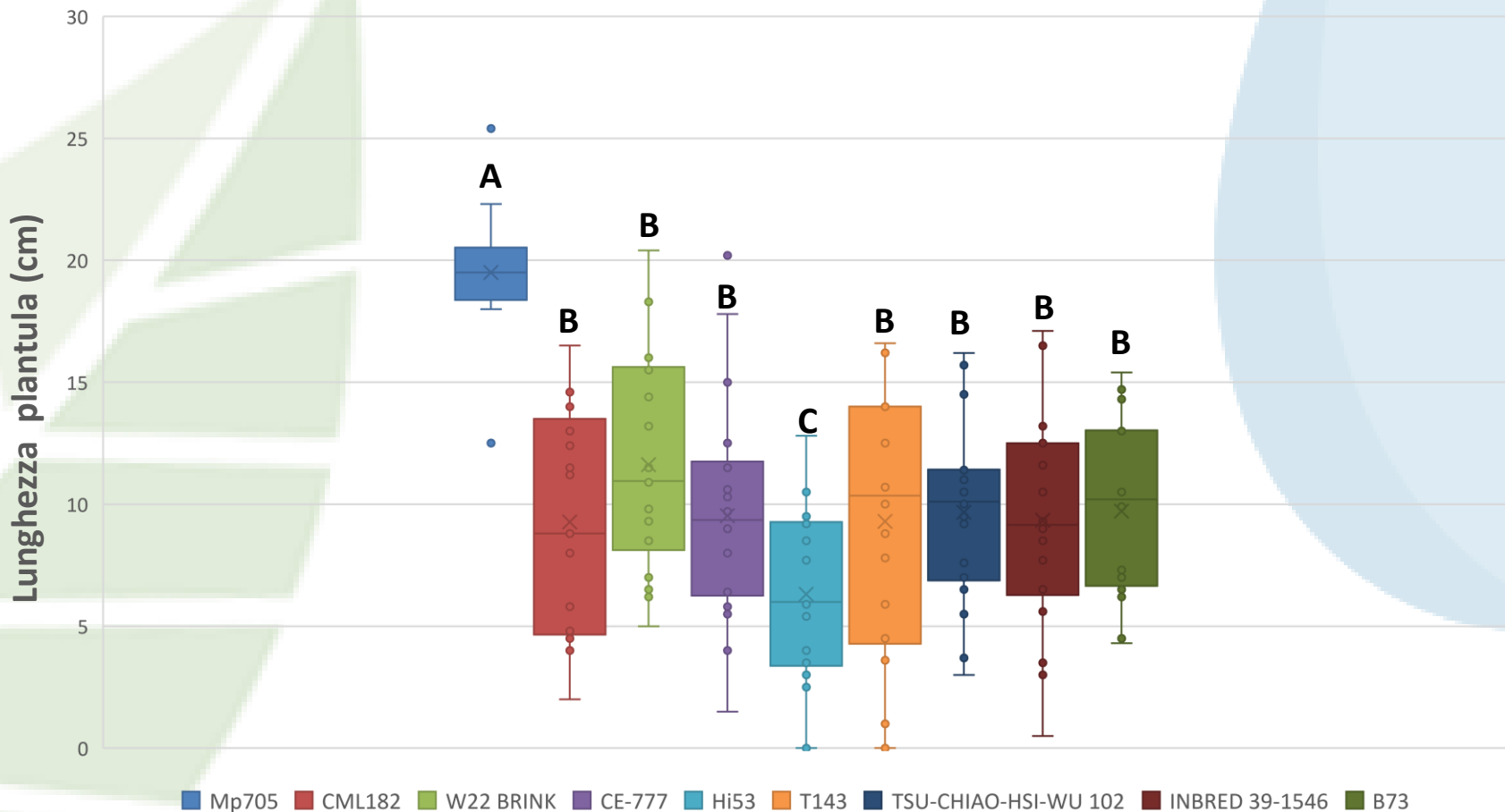
I dati sperimentali ottenuti utilizzando materiale prodotto in diverse anni confermano l'effetto dell'ambiente di crescita della pianta sull'espressione del carattere di resistenza.

Distribuzione lunghezza plantula in semi di linee di mais: controllo ■ vs *A. flavus* ■

Variabile	Osservazioni	Minimo	Massimo	Media	Deviazione std.
Lunghezza plantula	180	0,000	27,000	11,924	5,764



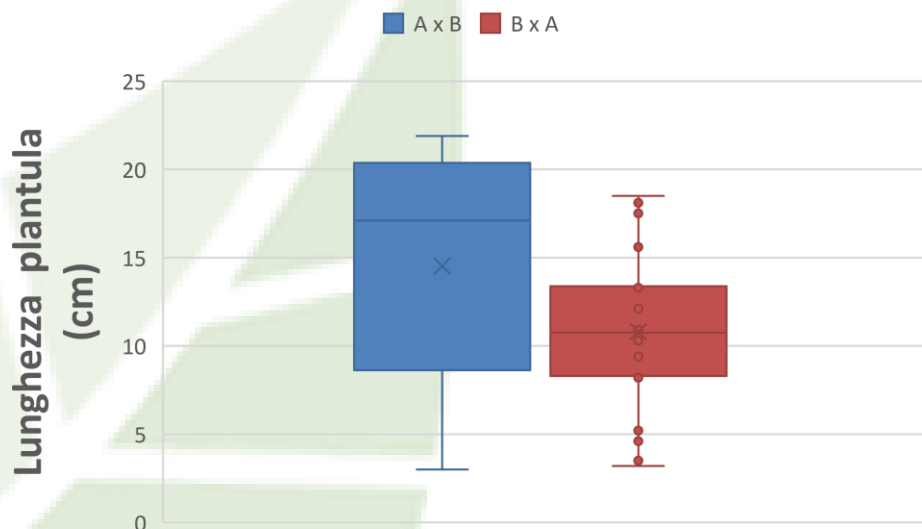
Variabile	Osservazioni	Minimo	Massimo	Media	Deviazione std.
Lunghezza plantula	180	0,000	25,400	9,851	5,722



Test di normalità (Test di Shapiro-Wilk).

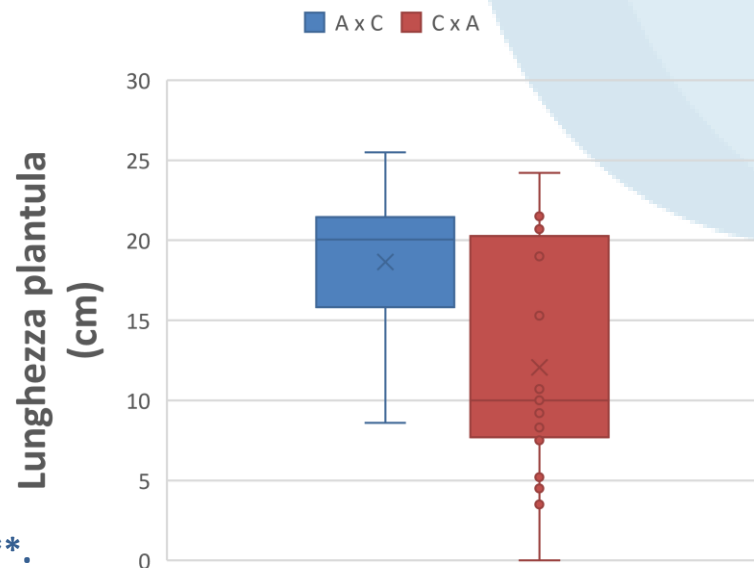
ANOVA - $F = 13.35$, GDL = 8 p-value <0.0001 ***. E' stato utilizzato post-hoc di Fisher.

Effetto linea femminile nella sensibilità/tolleranza ad *A. flavus* in ibridi di mais



Test di Kolmogorov-Smirnov (log10).
ANOVA - $F = 15.67$, GDL = 1 p-value = 0.0003 ***.
E' stato utilizzato post-hoc di Fisher.

Test di normalità (Test di Shapiro-Wilk).
ANOVA - $F = 4.58$, GDL = 1 p-value = 0.039 *. E'
stato utilizzato post-hoc di Fisher.





Anna Giulini

annapiamaria.giulini@crea.gov.it

Mattia Zuffada

Matteo Cremonesi

Luca Antonietti

Elena Novarina

Simone Deias

Tommaso Bardelli

Isabella Mazzoleni

Yuki Michelangelo Zerlottin

Mauro Dal Prà

Romana Bravi

Pier Giacomo Bianchi

Grazie per l'attenzione