

PhD Cycle: XXXIII  
Supervisor: Roberto Pilu  
Co-supervisor: Fabrizio Adani

Project title: Clonal selection of *A. donax* L. for applications on field scale, tissue culture, metabolites production and phytoremediation.

#### Abstract

The selection of interesting phenotypes and ecotypes often represents a first step in domestication processes and in many genetic improvement programs. *A. donax* L. was globally spread by humans in thousands years of vegetative propagation, through many traditional uses and, most recently, in energy and applications. Considering the species assessed low genetic variability, investigating the occurring phenotypical variations plays an essential role to later value its genetic resources, in order to improve main desirable traits: biomass production, propagation efficiency and production of metabolites of interest. In this project, the collection of over one hundred clones at UNIMI “Angelo Menozzi” Experimental Farm, Landriano (PV), is evaluated on field-scale applications, propagation performances and anthocyanins accumulation. New experimental fields are also established at Cavernago (BG) and SIN Brescia Caffaro (BS), to respectively address phenotyping and phytoremediation trials. Tissue culture activities are developed at CREA - Horticulture and Floriculture Research Center, Sanremo (IM). This project has different goals and corresponding activities to pursue *A. donax* L. improvement: i) biomass production and propagation efficiency; ii) anthocyanins accumulation; iii) phytoremediation application.

- i) Hydroponic propagation, tissue culture and clonal selection in multiplication trials; effect of cytokinins on shoot culture and field performances.
- ii) *In vitro* clone selection for anthocyanins production and regeneration capabilities; phenotypical evaluation of occurring variations; chemical mutagenesis (colchicine); characterization of anthocyanins *A. donax* L.; molecular identification of putative transcription factor for anthocyanins biosynthesis.
- iii) Selection strategies of *A. donax* L. and comparison with *P. virgatum* L. and *P. australis* in three year phytoremediation trial.

Il primo passo nei processi di domesticazione e in molti programmi di miglioramento genetico è spesso la selezione di fenotipi ed ecotipi interessanti. *A. donax* L. è stato diffuso in tutto il mondo dagli esseri umani, in migliaia di anni, attraverso molti utilizzi tradizionali e, più recentemente, in applicazioni energetiche e industriali. Considerando la verificata bassa variabilità genetica della specie, investigare le variazioni fenotipiche presenti gioca un ruolo essenziale per valorizzare successivamente le sue risorse genetiche, col fine di migliorare i principali tratti desiderati: produzione di biomassa, efficienza di propagazione e produzione di metaboliti di interesse. In questo progetto, la collezione di più di cento cloni presso L'Azienda Agricola Sperimentali/Didattica UNIMI “Angelo Menozzi”, Landriano (PV), è valutata su applicazioni in scala di campo, prestazioni propagative e accumulo di antocianine. Vengono inoltre istituiti nuovi campi sperimentali a Cavernago (BG) e SIN Brescia Caffaro (BS, per orientarsi, rispettivamente, alla fenotipizzazione e fitorimedio. Le attività di micropropagazione sono sviluppate presso il CREA - Centro di Ricerca per l'Orticoltura e Floricoltura, Sanremo (IM). Questo progetto ha diversi obiettivi e attività correlate per perseguire il miglioramento di *A. donax* L.: i) produzione di biomassa ed efficienza propagativa; ii) accumulo di antocianine; iii) applicazione nel fitorimedio.

- i) Propagazione idroponica, micropropagazione e selezione clonale in prove di moltiplicazione; effetti delle citochinine su culture di germogli e prestazioni in campo.
- ii) Selezione tra cloni *in vitro* per produzione di antocianine e capacità di rigenerazione; valutazione fenotipica delle variazioni presenti; mutagenesi chimica (colchicina); caratterizzazione delle antocianine in *A. donax* L.; identificazione molecolare di un putativo fattore di trascrizione per la biosintesi delle antocianine.
- iii) Strategie di selezione per *A. donax* L. e confronto con *P. virgatum* L. e *P. australis* in una prova triennale di fitorimedio.