

# RGV Notiziario Risorse Genetiche Vegetali

Ministero delle Politiche Agricole, Alimentari e Forestali

C.R.A. Centro di Ricerca per la  
Frutticoltura, Roma

Notiziario trimestrale tecnico scientifico

NUMERO SPECIALE

Anno VIII n. 1/2 - luglio 2009

A cura di  
Petra Engel

**Il progetto sulle risorse genetiche vegetali** che il Ministero delle Politiche Agricole, Alimentari e Forestali ha finanziato per attivare concretamente il Trattato Internazionale FAO sulle RGV, sottoscritto dall'Italia nel 2004, ha il grande merito di aver il carattere della continuità (cosa rara nel settore della ricerca pubblica attuale) che consente di coordinare le numerose iniziative in atto sull'argomento, portate avanti dalle diverse strutture del CRA, dall'Istituto di Genetica Vegetale del CNR e dai privati della Rete Semi Rurali.

A differenza di tutti i paesi maggiormente sviluppati con i quali il nostro Paese si confronta, in Italia manca una struttura nazionale espressamente dedicata alla conservazione delle risorse genetiche di interesse agricolo, se si fa eccezione dell'Istituto di genetica Vegetale del CNR di Bari, fondato con lungimiranza da Scarascia Mugnozza poco più di 30 anni fa, che, comunque, ha concentrato la propria attività su un certo numero di specie, ma certamente non esaurisce la lunga lista delle produzioni di interesse agricolo che, peraltro, sono sotto la responsabilità del MiPAAF.

Si sperava e si pensava che la costituzione del CRA avrebbe dato il giusto rilievo e messo ordine in questa materia così importante e strategica per l'agricoltura e l'economia del Paese, ma così non è stato.

Chissà che il nostro progetto non sia il piccolo seme dal quale possa crescere la "pianta" che ancora manca.

*Carlo Fideghelli*  
Coordinatore



Il CRA-FLC di Lodi (direzione), sede della riunione 2009 dei partecipanti al progetto RGV/FAO



## **Indice**

Inventario Nazionale delle Risorse genetiche vegetali conservate <i>ex situ</i> in Italia CRA-FRU, Roma .....	pag. 4
--	--------

### **Risorse genetiche dei cereali**

Interventi per valorizzare le risorse genetiche del mais CRA-MAC, Bergamo.....	pag. 6
Valorizzazione delle risorse genetiche di avena CRA-MAC, Bergamo e CRA-QCE, Roma.....	pag. 8
Conservazione e caratterizzazione di una collezione di farro CRA-QCE, Roma.....	pag. 9
Valorizzazione delle risorse genetiche di frumento tenero e monococco CRA-SCV, Sant'Angelo Lodigiano.....	pag. 10
Raccolta, moltiplicazione e conservazione di germoplasma di frumento duro CRA-ACM, Catania.....	pag. 12
Mantenimento, caratterizzazione e valorizzazione di frumenti tetraploidi CRA-CER, Foggia.....	pag. 13
Conservazione e valorizzazione di risorse genetiche nel genere <i>Hordeum</i> CRA-GPG, Fiorenzuola d'Arda.....	pag. 14
Esplorazione e valorizzazione delle risorse genetiche costituite con la CRA-Rice Germplasm Bank CRA-RIS, Vercelli.....	pag. 15

### **Risorse genetiche delle specie di uso foraggero**

Conservazione, caratterizzazione, valutazione e valorizzazione di risorse genetiche di colture per l'alimentazione zootecnica CRA-FLC, Lodi e CRA-AAM, Sanluri.....	pag. 17
---	---------

### **Risorse genetiche delle specie di uso industriale**

Raccolta, conservazione, caratterizzazione e valorizzazione di germoplasma di specie industriali CRA-CIN, Bologna e Rovigo.....	pag. 20
Conservazione, caratterizzazione, valorizzazione e documentazione della biodiversità di gelso CRA-API, Padova.....	pag. 29

### **Risorse genetiche di ortaggi e specie officinali**

Caratterizzazione e recupero di diversi ecotipi di ortaggi, in particolare di pomodoro e di peperoncino CRA-ORT, Pontecagnano.....	pag. 31
Reperimento, conservazione, caratterizzazione e valorizzazione di specie orticole CRA-ORL, Montanaso Lombardo.....	pag. 33
Valorizzazione delle risorse genetiche orticole attraverso la loro diffusione in coltura CRA-ORA, Monsampolo del Tronto.....	pag. 36
Recupero, mantenimento e caratterizzazione di specie aromatiche e medicinali CRA-MPF, Villazzano (TN).....	pag. 43

### **Risorse genetiche delle specie ornamentali**

Conservazione e valorizzazione di germoplasma ornamentale CRA-VIV, Pescia.....	pag. 45
Caratterizzazione molecolare in <i>Nicotiana</i> spp. e costituzione di ibridi ornamentali a partire da alcune <i>Nicotiane</i> CRA-CAT, Scafati.....	pag. 46

### **Risorse genetiche delle specie arboree da frutto**

Attività di reperimento e valorizzazione di germoplasma frutticolo CRA-FRU, Roma.....	pag. 48
Crioconservazione dei fruttiferi presso il Centro Nazionale di Germoplasma Frutticolo, Roma CRA-FRU, Roma.....	pag. 49



Fenoli, antociani e capacità antiossidante in frutti di Drupacee CRA-FRU, Roma.....	pag. 51
Caratterizzazione varietale di germoplasma frutticolo mediante marcatori molecolari CRA-FRU, Roma.....	pag. 54
Raccolta, valutazione, conservazione e caratterizzazione di accessioni locali di specie frutticole presenti nella Regione Campania CRA-FRC, Caserta.....	pag. 58
Conservazione, caratterizzazione e valorizzazione del vecchio germoplasma frutticolo e di fragola, con particolare attenzione a quello romagnolo CRA-FRF, Forlì.....	pag. 60
Raccolta, caratterizzazione e valorizzazione delle risorse genetiche agrumicole CRA-ACM, Acireale.....	pag. 63
Conservazione, caratterizzazione e valorizzazione di cultivar autoctone di mandorlo di origine pugliese CRA-SCA, Bari.....	pag. 65
Reperimento, caratterizzazione, conservazione e valorizzazione del germoplasma olivicolo CRA-OLI, Rende.....	pag. 67
Conservazione, documentazione e valorizzazione di accessioni olivicole autoctone nella Regione Abruzzo CRA-OLI, Città Sant'Angelo (PE).....	pag. 72
Salvaguardia, caratterizzazione e valorizzazione della biodiversità del genere <i>Vitis</i> CRA-VIT, Conegliano (TV).....	pag. 76

**Risorse genetiche delle specie forestali e da legno**

Risorse genetiche forestali – Monitoraggio e gestione in vista degli effetti del cambiamento climatico CRA-SEL, Arezzo.....	pag. 78
Caratterizzazione, valorizzazione e utilizzo di risorse genetiche di piante erbacee CNR-IGV, Bari.....	pag. 82
Conservazione, caratterizzazione, uso e valorizzazione delle risorse genetiche vegetali per l'alimentazione e l'agricoltura Rete Semi Rurali.....	pag. 85
Appuntamenti.....	pag. 88

## L'INVENTARIO NAZIONALE SULLE RGV CONSERVATE *EX SITU* IN ITALIA – CONSUNTIVO AL 3° ANNO

CRA-FRU Centro di Ricerca per la Frutticoltura, Roma

Petra Engel

Fin dall'inizio del P.F. "RGV/ Implementazione del Trattato Internazionale FAO", una delle linee strategiche perseguite dal Coordinamento Scientifico è stata la realizzazione di un catalogo interattivo sul germoplasma vegetale conservato *ex situ* in Italia ([www.rgv-politicheagricole-cra.it](http://www.rgv-politicheagricole-cra.it)).

Questo "Inventario Nazionale" è stato messo in rete nell'agosto del 2006 e si intende in primo luogo come piattaforma per la documentazione coordinata e omogenea delle ricche e numerose collezioni di germoplasma vegetale presenti sul territorio italiano.

La sua attivazione è inoltre essenziale ai fini dell'implementazione nazionale del Sistema Multilaterale (SML) di Accesso e Ripartizione dei Benefici, uno dei pilastri del Trattato Internazionale FAO che mira alla sicurezza alimentare e all'utilizzo sostenibile delle risorse genetiche vegetali a livello mondiale. Infatti, lo SML si basa sulla disponibilità a livello internazionale delle informazioni sulle accessioni conservate da soggetti pubblici per raggiungere l'obiettivo di facilitare l'accesso al materiale ai fini di promuoverne l'utilizzo nella ricerca e nel miglioramento genetico.

Alla data di rilascio, l'Inventario conteneva informazioni su circa 21.000 accessioni, conservate soprattutto presso le ex-IRSA, oggi strutture di ricerca del CRA, nonché sulle più significative collezioni di germoplasma frutticolo presenti presso le Università e alcune aziende sperimentali.

Negli ultimi tre anni il database è cresciuto notevolmente - di circa 8.000 accessioni - soprattutto grazie all'aggiornamento effettuato dalle UU.OO. coinvolte nel Progetto, e accoglie ad oggi informazioni di monitoraggio su 28.299 accessioni appartenenti a 496 specie conservate presso 44 Istituzioni.

La tabella 1 riporta le categorie delle specie documentate e la loro attuale consistenza numerica nel catalogo, specificando, inoltre, le specie che sono incluse nell'Annex I del Trattato, che costituisce il nucleo centrale dello SML.

**Tab. 1 Accessioni attualmente documentate nell'Inventario Nazionale**

Gruppo di specie	numero accessioni	principali specie (*di cui incluse nell'Annex I)
<b>Cereali</b>	9.472	<i>Avena*</i> , <i>Hordeum*</i> , <i>Oryza*</i> , <i>Triticum*</i> , <i>Zea*</i>
<b>Frutta e Frutta secca</b>	13.044	<i>Actinidia</i> , <i>Castanea</i> , <i>Citrus*</i> , <i>Corylus</i> , <i>Ficus</i> , <i>Fragaria*</i> , Frutta piccola, <i>Juglans</i> , <i>Malus*</i> , <i>Morus</i> , <i>Olea</i> , <i>Pistacia</i> , <i>Prunus</i> spp (mandorlo, ciliegio, pesco + nettarina, susino), <i>Pyrus</i> , <i>Punica</i> , <i>Vitis</i>
<b>Ortaggi</b>	409	<i>Beta*</i> , <i>Pisum*</i> , <i>Solanum</i> spp (melanzana*, pomodoro, peperone, patata*),
<b>Specie Foraggere</b>	2.168	<i>Agrostis*</i> , <i>Dactylis*</i> , <i>Festuca*</i> , <i>Hedysarum*</i> , <i>Lolium*</i> , <i>Lupinus*</i> , <i>Poa*</i> , <i>Medicago*</i> , <i>Trifolium*</i>
<b>Specie industriali</b>	2.148	<i>Cannabis</i> , <i>Linum</i> , <i>Morus</i> , <i>Nicotiana</i>
<b>Specie medicinali ed aromatiche</b>	139	<i>Achillea</i> , <i>Chamomila</i> , <i>Gentiana</i> , <i>Hypericum</i> , <i>Ocimum</i> , <i>Salvia</i> , <i>Thymus</i>
<b>Specie ornamentali</b>	166	<i>Euphorbia</i> , <i>Hebe</i> , <i>Limonium</i> , <i>Passiflora</i> , <i>Viburnum</i>
<b>Specie forestali</b>	705	<i>Abies</i> , <i>Pinus</i> , <i>Prunus</i>

I singoli elementi della documentazione -i descrittori- corrispondono a quelli concordati a livello internazionale; le informazioni generali, uguali per tutte le accessioni di tutte le specie (i cosiddetti "passport data") sono state elaborate congiuntamente dalla FAO e dall'International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI, oggi Bioversity International). Le informazioni specie-specifiche, che riportano invece informazioni di caratterizzazione morfologica e di valutazione agronomica delle accessioni, derivano per la maggior parte dal lavoro svolto nell'ambito dell'"European Cooperative Programme on Plant Genetic Resources" (ECPGR). In questo modo, sono facilitati sia la ricerca di informazioni a livello internazionale sia il trasferimento dei dati dalla documentazione nazionale a quella internazionale (EURISCO, WIEWS, GIGA).



### Numero Speciale "Progetto RGV/FAO" 1-2/2009

Attualmente, il catalogo contiene, oltre ai descrittori "passport", i descrittori specifici per la quasi totalità delle specie frutticole. Per le altre specie, invece, sono finora soltanto disponibili i descrittori "passport", mentre è in fase finale la preparazione per l'inserimento di quelli specifici, forniti dagli esperti italiani in materia. Questi descrittori saranno inclusi nel database nel corso delle modificazioni previste per il secondo triennio del Progetto.

Durante i primi tre anni di "fase sperimentale" dell'Inventario, è stata confermata l'importanza di una condivisione con il mondo scientifico delle informazioni legate al germoplasma conservato. Infatti, sono state effettuate numerose ricerche, sia in Italia sia all'estero, sulle accessioni documentate nell'Inventario, che hanno prodotto a volte come risultato uno scambio del materiale stesso.

Tuttavia, sono stati riscontrati anche alcuni aspetti ancora problematici legati al database, che è ancora carente in particolare riguardo alla facilità di utilizzo da parte dei singoli curatori dei dati, un fattore che in passato ha impedito una crescita più rapida del catalogo.

Per il secondo triennio del Progetto è pertanto prevista un'ulteriore evoluzione dell'Inventario - soprattutto di carattere tecnico ma anche scientifico - per facilitare l'implementazione del Trattato FAO rendendo al contempo più efficiente sia l'inserimento dei dati da parte dei singoli curatori sia lo scambio delle informazioni col mondo scientifico e dando infine impulso all'inclusione di materiale conservato presso collezioni non ancora considerate nell'Inventario. Uno studio recente, effettuato dal CRA-FRU nel corso dell'elaborazione del secondo Rapporto Nazionale sullo Stato delle RGV in Italia, ha rivelato che circa 110.000 accessioni vegetali sono attualmente conservate *ex situ* in strutture pubbliche italiane; questa cifra rende l'idea dell'enorme potenziale ancora inespresso dell'Inventario Nazionale.

Inoltre, durante la Terza Sessione dell'Organo Direttivo del Trattato FAO, che si è riunito dal 1 al 5 giugno scorso in Tunisia, l'Italia ha presentato in plenaria uno *statement* che annuncia l'inserimento nel Sistema Multilaterale del Trattato di più di 22.000 accessioni custodite nel settore pubblico. Si tratta di materiale genetico (vecchie e nuove cultivar, *landraces*, linee di *breeding*, materiale selvatico) appartenente a 22 specie incluse nell'Allegato I del Trattato e conservate presso le strutture del CRA (vedi tabella 2).

Con questo annuncio altamente rilevante a livello politico e strategico, l'Italia conferma la responsabilità già assunta nell'ambito globale per promuovere l'implementazione degli obiettivi del Trattato. La documentazione comprensiva del germoplasma conservato riceve quindi un'ulteriore impulso tramite la richiesta di predisposizione e aggiornamento regolare e ad alta qualità dell'Inventario Nazionale.

Tenendo conto di queste considerazioni, i principali miglioramenti del catalogo previsti sono i seguenti:

- inclusione dei descrittori specie-specifici ancora mancanti;
- inclusione di campi riguardanti l'inserimento delle accessioni nello SML del Trattato FAO e nel sistema di gestione del germoplasma a livello europeo (AEGIS);
- estensione ad altre collezioni italiane di germoplasma vegetale;
- ampliamento delle opzioni di ricerca (combinazioni di parole chiave);
- implementazione della versione inglese;
- implementazione dei riferimenti alla legislazione nazionale, regionale e internazionale relative all'implementazione del Trattato Internazionale FAO e alla salvaguardia della biodiversità.

Il database sarà inoltre trasferito sul dominio del CRA, dove sarà creato uno spazio appositamente riservato alle Risorse Genetiche Vegetali e alle attività legate alla loro gestione e valorizzazione.

**Tab. 2: Specie incluse nell'Annex I del Trattato e conservate presso le strutture CRA (> 22.000 accessioni citate nello Statement)**

Cereali (17.121 accessioni)	Ortaggi (1480 accessioni)	Frutta (1398 accessioni)	Specie foraggere (2763 accessioni)
<i>Avena</i> (917)	<i>Asparagus</i> (17)	<i>Citrus</i> (310)	<i>Agrostis</i> (25)
<i>Hordeum</i> (2020)	<i>Beta</i> (210)	<i>Fragaria</i> (130)	<i>Dactylis</i> (11)
<i>Oryza</i> (868)	<i>Cicer</i> (6)	<i>Malus</i> (958)	<i>Festuca</i> 182)
<i>Triticum</i> (8396)	<i>Phaseolus</i> (339)		<i>Hedysarum</i> 35)
<i>Zea</i> (4920)	<i>Pisum</i> (672)		<i>Lolium</i> (120)
	<i>Solanum tuberosa</i> (222)		<i>Lupinus</i> (179)
	<i>S. melongena</i> (13)		<i>Medicago</i> (263)
	<i>Vicia</i> (42)		<i>Poa</i> (71)
			<i>Trifolium</i> (1878)

## INTERVENTI PER VALORIZZARE LE RISORSE GENETICHE DEL MAIS

### CRA-MAC Unità di Ricerca per la Maiscoltura, Bergamo

Rita Redaelli, Gianfranco Mazzinelli, Nicola Berardo, Sabrina Locatelli, Mario Motto, Paolo Valoti, Alberto Verderio

#### Obiettivi

Gli obiettivi specifici di questa scheda finalizzata a realizzare interventi per valorizzare le risorse genetiche del mais ricoprono tre tematiche:

- Riproduzione e conservazione della biodiversità;
- Caratterizzazione agronomica e qualitativa di germoplasma italiano di mais, mediante la raccolta di caratteri morfologici, valutazione dell'attitudine combinatoria in prove agronomiche, e descrizione della composizione chimica e del valore nutrizionale della granella;
- Costituzione di un sistema informatico per la raccolta di dati varietali.

#### Attività e risultati 2008

##### Riproduzione e conservazione della biodiversità

Per il mantenimento della vitalità della collezione, nell'anno 2008 sono state moltiplicate in campo 80 linee contenenti mutazioni a carico del seme. L'attività 2009 prevede la moltiplicazione di 100 linee con mutazioni.

##### Caratterizzazione agronomica e qualitativa di germoplasma italiano di mais

Per questa parte dell'attività sono stati presi in considerazione due gruppi di popolazioni:

**603 popolazioni**, raccolte e catalogate con la sigla Lo, tra cui 110 popolazioni al secondo ciclo di selezione e 56 popolazioni di provenienza estera.

I caratteri morfologici raccolti sono stati i seguenti:

- GDD maschile e femminile;
- Altezza pianta (score 3-9);
- Struttura pianta (score 3-9): canopy, portamento foglie, stabilità apparato radicale, punto di inserzione della spiga, presenza di carattere barren o polispighia, caratteristiche pennacchio.

Le distribuzioni dei valori di altezza pianta e dei GDD maschile e femminile nelle popolazioni riprodotte in campo è rappresentata dai grafici in Fig. 1 e Fig. 2, rispettivamente.

Dalle osservazioni raccolte sul materiale, sono state selezionate 51 popolazioni appartenenti ad alcuni dei tipi tradizionali di mais presenti in Italia: tipi 'Nostrano', 'Marano', 'Scagliolo', 'Cinquantino', 'Sacra Famiglia', 'Bianco perla'. Le popolazioni selezionate sono state valutate per le caratteristiche della spiga: lunghezza e forma della spiga, tipologia e colore della granella, dimensione del seme.

L'attività programmata per il 2009 prevede la realizzazione di incroci con la linea *tester* 'Lo1189' per la valutazione dell'attitudine combinatoria.

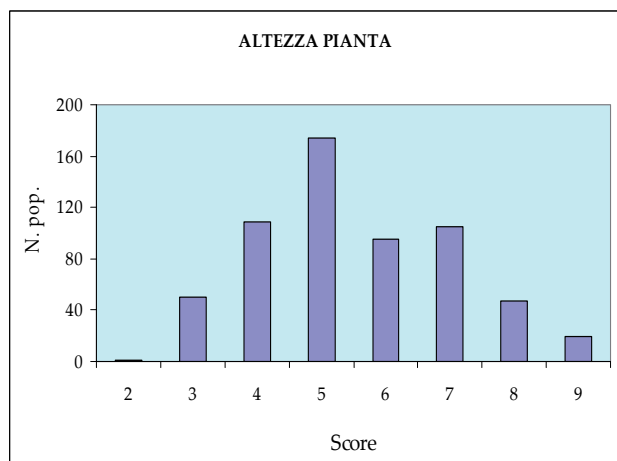


Fig. 1. Distribuzione dei valori di altezza pianta (score 3-9) in 603 popolazioni di mais

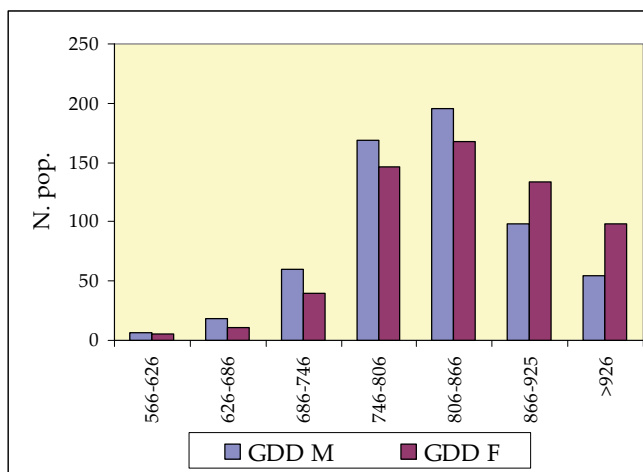


Fig. 2. Distribuzione di valori di GDD maschile e femminile in 603 popolazioni di mais.

**100 popolazioni** (30 linee estere e 70 linee inbred italiane) selezionate per realizzare incroci con le linee *tester* 'Lo1301' e 'Lo1260'. Degli incroci realizzati, 70 combinazioni hanno dato seme sufficiente per una prova agronomica replicata. L'attività del 2009 prevede la realizzazione degli incroci mancanti.

- Descrizione della composizione chimica e del valore nutrizionale della granella

Nel 2008 sono state completate le analisi mediante tecnica NIRS di 1245 popolazioni di mais, e sono state sviluppate le curve di calibrazione specifiche per alcuni parametri chimici e tecnologici della granella: proteine (CP), lipidi (CL), amido (ST), area di flottazione (FA). I risultati sono riportati in Tabella 1.

**Tab. 1. Parametri statistici delle curve di calibrazione sviluppate per CP, CL, ST, FA.**

traits	N	mean	SD	SEC	R <sup>2</sup>	SECV	r <sup>2</sup>	BIAS	RPD
<b>Grain</b>									
CP	335	10.67	1.59	0.41	0.93	0.48	0.91	-0.29	3.31
CL	549	5.72	1.67	0.67	0.84	0.79	0.78	-0.48	2.11
ST	127	66.92	2.94	1.06	0.87	1.06	0.87	-0.64	2.77
FA	370	3125.66	392.47	147.68	0.86	174.94	0.80	-104.46	2.24
<b>Flour</b>									
CP	259	10.42	1.47	0.43	0.91	0.51	0.89	-0.31	2.88
CL	182	4.95	0.89	0.35	0.84	0.40	0.80	-0.24	2.23
ST	164	67.57	2.60	1.49	0.67	1.52	0.66	-0.91	1.71

Lo sviluppo delle curve di calibrazione ha consentito di valutare la composizione chimica in un ampio germoplasma italiano e straniero (996 popolazioni); i valori medi sono riportati in Tabella 2.

**Tab. 2. Valori medi, minimo, massimo e LSD per alcuni parametri chimici e tecnologici (CP, CL, ST, FA) in due gruppi di popolazioni, italiane e straniere.**

	CP	CL	ST	FA
<i>Italy (n=547)</i>				
mean	11.48	5.00	65.68	3188.48
min	7.91	2.58	61.18	1933.14
max	15.42	7.74	69.67	4286.67
LSD <sub>≤ 0.05</sub>	1.20	1.24	2.06	394.72
<i>other countries (n= 449)</i>				
mean	11.36	5.10	65.88	3289.75
min	7.39	2.27	61.30	2094.92
max	15.12	7.67	70.07	4633.50
LSD <sub>≤ 0.05</sub>	1.09	1.22	1.98	414.61

La caratterizzazione del germoplasma a livello nutrizionale comprende anche la determinazione del contenuto in molecole antiossidanti mediante HPLC; i composti analizzati sono: luteina, zeaxantina, criptoxantina, carotene e carotenoidi totali. Oltre un centinaio di popolazioni tradizionali sono già state analizzate per la loro composizione in antiossidanti.

- Costituzione di un sistema informatico per la raccolta di dati varietali

Realizzazione di un Database ACCESS per la gestione delle informazioni relative alle singole accessioni.

Nel database vengono raccolti i dati disponibili (passport data, parametri morfologici, ecc) per i vari materiali presenti nel germoplasma: varietà italiane ed estere, breeding lines e popolazioni sintetiche.

Si prevede di importare in seguito anche i dati di caratterizzazione chimica della granella.



**Pubblicazioni:**

BERARDO N., MAZZINELLI G., VALOTI P., LAGANA' P., REDAELLI R. 2009. *Characterization of maize germplasm for the chemical composition of the grain.* J. Agric. Food Chem. 5

## VALORIZZAZIONE DELLE RISORSE GENETICHE DI AVENA (*AVENA SATIVA L.*) - ATTIVITÀ SVOLTA E RISULTATI RAGGIUNTI NEL 2008

<sup>1</sup>CRA-MAC Unità di Ricerca per la Maiscoltura, Bergamo

<sup>2</sup>CRA-QCE Unità di Ricerca per la Valorizzazione qualitativa dei Cereali, Roma

Daniela Sgrulletta<sup>1</sup>, Rita Redaelli<sup>2</sup>, Ester De Stefanis<sup>1</sup>

In seguito alla crescente domanda di avena per la produzione di alimenti destinati all'uomo, la necessità di avere materie prime con migliori caratteristiche nutrizionali e tecnologiche richiede l'attivazione di specifici programmi di *breeding* volti allo sviluppo di varietà di avena in grado di soddisfare le richieste delle industrie alimentari. Il  $\beta$ -glucano è un costituente della parete cellulare di avena e orzo descritto come fibra dietetica solubile con un importante ruolo fisiologico. Gli effetti fisiologici dell'avena sono stati, infatti, associati con la capacità del  $\beta$ -glucano di formare masse viscosi nel sistema digerente; numerosi studi epidemiologici hanno evidenziato che l'aumento di viscosità nel lume intestinale derivato da maggiore ingestione di alimenti ricchi in fibra solubile può così determinare sia miglioramento del metabolismo del glucosio che abbassamento dei livelli ematici di colesterolo. Negli ultimi anni la nostra attività di ricerca sull'avena è stata indirizzata allo sviluppo di nuove varietà di avena nuda destinate all'industria alimentare per ampliare l'uso dell'avena nell'alimentazione umana anche attraverso la realizzazione di nuove tipologie di alimenti a base di avena. I risultati forniscono utili indicazioni in riferimento agli obiettivi ed evidenziavano il genotipo di avena come un importante fattore di variabilità nel determinare la concentrazione in  $\beta$ -glucano della cariosside.

Nell'ambito di questo progetto l'obiettivo generale mira alla caratterizzazione e soprattutto alla valorizzazione della collezione di avena del CRA, con particolare riferimento ad alcune caratteristiche superiori del prodotto e ad aspetti relativi alla sicurezza alimentare. Seguendo questi obiettivi nel 2008 un gruppo di varietà e linee in selezione di avena, sia a seme nudo che vestito, è stato caratterizzato per il contenuto in  $\beta$ -glucano allo scopo di identificare i genotipi dotati di elevato valore nutrizionale e buona potenzialità di trasformazione industriale. In particolare, l'attività è stata dedicata all'analisi del materiale (avene vestite e avene nude) proveniente da moltiplicazione in file-spiga effettuata nel 2006-07 a Bergamo.

La tabella 1 presenta i risultati della caratterizzazione effettuata sul gruppo di avene a seme vestito (undici varietà selezionate in Italia, in Francia e in Svezia, attualmente presenti sul mercato italiano) e a seme nudo (quattordici genotipi comprendenti linee selezionate dai programmi di breeding del CRA - 'BD114', 'BD124' e 'Liria' -, le varietà italiane 'Nave', 'Irina' e 'Luna' e alcune linee e varietà selezionate in Francia, Finlandia e Inghilterra). Un'ampia variabilità è stata osservata per il contenuto in  $\beta$ -glucano, sia tra i genotipi a seme vestito (2.74 - 4.86 g kg<sup>-1</sup>) che tra quelli a seme nudo (2.90 - 5.80 g kg<sup>-1</sup>).

La ricerca ha inoltre riguardato anche progenie di avene nude (F3 - F5). I risultati di questo studio sono presentati nella Tabella 2. Il più alto contenuto in  $\beta$ -glucano si riscontra nella progenie dell'incrocio 'BD124' x 'Liria' (4.22 g kg<sup>-1</sup>) ed il più basso nella progenie dell'incrocio 'Irina' x 'Rhea' x 'Padarn 542' (2.85 g kg<sup>-1</sup>). È stato comunque evidenziato un *range* di variabilità abbastanza ampio, in particolare nella progenie degli incroci 'Bullion' x 'BD124' e 'BD124' x 'Hja72095'. I risultati hanno permesso di individuare alcune linee selezionate a seme nudo con un elevato tenore in  $\beta$ -glucano (> 5.00 g kg<sup>-1</sup>) e alto peso dei mille semi, che potrebbero essere utilizzate con successo per lo sviluppo di prodotti alimentari innovativi con elevate proprietà nutrizionali.

**Tab. 1: Contenuto in  $\beta$ -glucano (% s.s.) in due gruppi di genotipi di avena a seme vestito e nudo.**

Seme vestito		Seme nudo	
Genotipo	$\beta$ -glucan <sup>a</sup>	Genotipo	$\beta$ -glucan <sup>a</sup>
Argentina	2.74 d	BD114	3.51 f
Aveny	4.08 abc	BD124	4.30 c
BD118	3.99 bc	Bullion	4.23 c
BD134	3.90 bc	Expression	5.80 a
Bionda	3.82 bc	Grafton	4.13 cd
Donata	4.16 abc	Hendon	4.12 cd
Fulvia	4.86 a	Hja72095N	3.79 e
Genziana	3.34 cd	Irina	3.95 de
Hamel	4.53 ab	Liria	4.98 b
Primula	3.44 cd	Luna	4.36 c
TeoBD40	3.45 cd	Nave	4.22 c
		Racoon	4.82 b
		Rhea x Padarn 542	2.90 g
		13914Cn	4.93 b
<b>Media+St.Dev.</b>	<b>3.84 ± 0.59</b>	<b>Media+St.Dev.</b>	<b>4.28 ± 0.70</b>

<sup>a</sup> Test di Duncan: lettere differenti nella stessa colonna indicano che i valori sono significativamente diversi.



**Tabella 2. Contenuto in  $\beta$ -glucano (% s.s.) nella progenie di differenti incroci fra genotipi di avena a seme nudo.**

P1	P2	Media	LSD 0.05	No. camp.	Range
Bullion	BD124	3.48	0.05	13	1.06 - 5.22
BD124	Rhea x Padarn 542	3.93	0.09	9	2.78 - 4.79
BD124	Liria	4.22	0.04	6	3.53 - 4.80
BD124	Hja72095N	2.95	0.11	6	1.52 - 5.04
BD124	Irina	4.05	0.08	6	3.24 - 5.34
Irina	Rhea x Padarn 542	2.85	0.13	4	2.36 - 3.49
<b>Media generale</b>		<b>3.92</b>	<b>0.06</b>	<b>44</b>	

**Pubblicazioni:**

 REDAELLI R., SGRULLETTA D., DE STEFANIS E., CONCIATORI A. 2009.  *$\beta$ -glucan and oat-based food for a healthy nutrition*. *Tecnica Molitoria Intern.* 60(10A): 144-149

## CONSERVAZIONE E CARATTERIZZAZIONE DI UNA COLLEZIONE DI FARRO (*TRITICUM DICOCCUM* SCHUBLER) E DI SPELTA (*T. SPELTA* L.)

**CRA-QCE Unità di Ricerca per la Valorizzazione qualitativa dei Cereali, Roma**

*Daniela Sgrulletta, Esther De Stefanis*

L'attività di conservazione e caratterizzazione delle accessioni di farro in conservazione è iniziata nel 1999/2000 a partire da una ampia collezione di genotipi di *Triticum dicoccum* e *T. spelta*, derivante da scambi con altre Istituzioni, in particolare con l'Istituto del Germoplasma del CNR di Bari.

La caratterizzazione dei genotipi, effettuata in due epoche di semina, aveva inizialmente lo scopo di valutare la resistenza al freddo (semina autunnale) e il grado di alternatività del materiale in esame (semina primaverile). Nel primo anno di prova sono stati saggiati 314 genotipi di dicocco e 201 di spelta in semina autunnale; 292 genotipi di dicocco e 217 di spelta in semina primaverile. Fino al 2003/04 le prove sono state effettuate nell'altopiano di Leonessa (RI), a una altitudine di circa 1000 m s.l.m., in un ambiente marginale tipico per la coltivazione del farro. A partire dalla stagione 2004/05 il materiale è stato seminato nei campi dell'azienda Inviolatella di Roma, al fine di seguire più da vicino le prove.

Ogni anno sono state registrate le accessioni non spigate per danni da freddo tra quelle seminate in autunno e le accessioni non alternative presenti nella semina primaverile. Solo nel primo anno di prove è stata registrata una consistente selezione dei genotipi per resistenza al freddo; molto più limitata è risultata la percentuale di accessioni non alternative (tabella 1).

**Tabella 1: Leonessa (RI). Comportamento delle accessioni di *T. dicoccum* e *T. spelta* nel 1999-2000 in due epoche di semina.**

Epoca di semina	Accessioni di <i>Triticum dicoccum</i>			Accessioni di <i>Triticum spelta</i>		
	seminate	non spigate		seminate	non spigate	
	n°	n°	%	n°	n°	%
autunnale	314	113	36	201	61	30,3
primaverile	292	3	1	217	1	0,5

Nel 2007/08, presso l'azienda Inviolatella del CRA-QCE di Roma è proseguita l'attività di mantenimento e caratterizzazione del materiale disponibile effettuando le due previste epoche di semina: il 18/12/07 (semina autunnale) e il 13/2/08 (semina primaverile).

Nella semina autunnale sono state utilizzate 185 accessioni di *T. dicoccum* e 126 *T. spelta*; nella semina primaverile 284 accessioni di *T. dicoccum* e 214 di *T. spelta*. Tra i genotipi in prova, 158 accessioni di *T. dicoccum* e 112 di *T. spelta* erano comuni alle due epoche di semina. Su tutti i genotipi in campo è stata registrata la data di spigatura, le eventuali malattie presenti e, prima dalla raccolta, l'altezza media delle piante all'apice della spiga.



## Numero Speciale "Progetto RGV/FAO" 1-2/2009

Nella tabella 2 vengono riportati, per tutte le accessioni seminate di farro e spelta, i valori minimi, massimi e medi relativi alla lunghezza del ciclo (espressa come giorni dal 1° aprile) e all'altezza delle piante (misurata all'apice della spiga).

**Tabella 2: Roma 2007-08. Caratterizzazione delle accessioni di *Triticum dicoccum* e di *T. spelta* in due epoche di semina.**

Specie	Semina		accessioni n°	Ciclo (n° giorni dopo 1 aprile)			Altezza pianta		
	epoca	data		min	max	media	min	max	media
<b><i>T. dicoccum</i></b>	autunnale	18/12/07	185	24	57	42	71	131	104
	primaverile	13/02/08	284	37	77	55	80	141	104
<b><i>T. spelta</i></b>	autunnale	18/12/07	126	38	54	47	101	130	116
	primaverile	13/02/08	210	44	79	63	70	142	115

Nella tabella 3 viene riportata la sintesi delle caratteristiche rilevate per le accessioni comuni alle due epoche di semina (**158** di *T. dicoccum* e **112** di *T. spelta*).

**Tabella 3: Roma, 2007-08. Caratterizzazione di 158 accessioni di *T. dicoccum* e 112 di *T. spelta*, comuni alle due epoche di semina.**

Specie	Epoca di semina	Spigatura (n. giorni da 1 Aprile)				Altezza pianta (cm)			
		min	max	moda	media	min	max	moda	media
<b><i>T. dicoccum</i></b>	autunnale	24	57	46	<b>42</b>	71	129	100	<b>103</b>
	primaverile	37	77	53	<b>53</b>	80	137	100	<b>104</b>
<b><i>T. spelta</i></b>	autunnale	38	54	45	<b>47</b>	101	130	115	<b>116</b>
	primaverile	44	79	61	<b>63</b>	80	142	110	<b>114</b>

L'ampiezza delle curve di distribuzione della data di spigatura è risultata maggiore per le accessioni di *T. dicoccum* rispetto a quelle di *T. spelta*, in entrambe le epoche di semina. I genotipi di spelta hanno mostrato un ciclo mediamente più lungo rispetto a quelli di dicocco. Le spigature delle accessioni seminate in primavera sono avvenute mediamente 11 giorni dopo quelle delle prove autunnali per i genotipi di dicocco, 16 giorni dopo per quelli di spelta, nonostante il divario di circa 2 mesi intercorso tra le due epoche di semina. L'altezza media delle accessioni di spelta è risultata sempre superiore a quella dei genotipi di dicocco, con una differenza media di 12 cm. Per quanto riguarda le epoche di semina, l'altezza registrata nelle prove primaverili è risultata circa uguale a quella delle semine autunnali per entrambe le specie.

## VALORIZZAZIONE DELLE RISORSE GENETICHE DI FRUMENTO TENERO E MONOCOCCO

### CRA-SCV Unità di Ricerca per la Selezione dei Cereali e la Valorizzazione delle varietà vegetali, Sant'Angelo Lodigiano

Patrizia Vaccino

La collezione di frumenti conservata presso il CRA-SCV, aggiornata al 31/12/2008, comprende 4836 genotipi di *Triticum aestivum* e 1640 accessioni di frumenti diploidi (in particolare, 106 accessioni appartenenti alla specie *Triticum urartu*, 865 a *Triticum monococcum* ssp. *boeoticum*, 15 a *T.m.* ssp. *aegilopoides*, 654 a *T.m.* ssp. *monococcum*).

L'attività nell'ambito del progetto RGV-FAO si prefigge i seguenti obiettivi:

- Riproduzione della collezione di frumenti diploidi ed esaploidi e rilievo dei descrittori primari

Si è provveduto alla riproduzione di un sesto delle linee di frumento tenero e di frumenti diploidi.

Tutti i genotipi sono stati caratterizzati in campo per alcune caratteristiche morfo-fisiologiche (epoca di spigatura, portamento e altezza della pianta, suscettibilità all'allettamento, eventuali malattie).

Limitatamente al frumento tenero, è proseguita la caratterizzazione dei materiali tramite i descrittori adottati a livello internazionale, in accordo con quanto prescritto dall'IPGRI, per una definizione minima fondamentale delle accessioni di frumento: aristatura, colore della granella, colore delle glume, pelosità delle glume, densità della spiga ed altezza della pianta. Il file che contiene le informazioni è stato completato ed è pronto per essere inserito nel database.

• Caratterizzazione biochimica delle proteine di riserva della collezione dei frumenti diploidi

E' proseguita la caratterizzazione delle proteine di riserva (gliadine e glutenine ad alto e basso peso molecolare) di tutte le accessioni, attraverso l'estrazione differenziale e la separazione mediante SDS-PAGE e A-PAGE; nell'anno 2008 è stata completata la caratterizzazione delle accessioni di *T. urartu*.

Inoltre, per quanto riguarda il *T. m. ssp. monococcum*, sono stati messi in correlazione i *pattern* elettroforetici ottenuti precedentemente (nell'ambito del primo triennio del progetto) con il parametro "Volume di sedimentazione in SDS", che rappresenta un buon indicatore dell'attitudine panificatoria. Ne è risultato che 9 subunità gluteniniche e 9 gliadiniche sono correlate a una buona qualità panificatoria.



Foto 1: Volume di sedimentazione in SDS

• Valorizzazione del germoplasma mediante lo studio della componente amidacea di parte della collezione di frumento tenero

Lo scopo è l'individuazione di genotipi rispondenti al miglioramento della qualità nutrizionale (nel caso di presenza di amido con elevato contenuto in amilosio, che è normalmente più resistente alla digestione e quindi identificato come 'amido resistente') o tecnologica (nel caso di presenza di amido con ridotto o nullo contenuto in amilosio, definito parzialmente o completamente *waxy*).

E' stato avviato lo *screening* di parte della collezione di frumento tenero per il contenuto in amilosio e amilopectina, che sono i componenti fondamentali dell'amido. Finora sono state analizzate circa 100 linee: non sono state riscontrate differenze significative nel contenuto di amilosio, che si aggira in media su valori di 26-28%. In parallelo sono in corso le analisi mediante viscoamilografo (RVA) delle linee precedentemente identificate come parzialmente *waxy*.

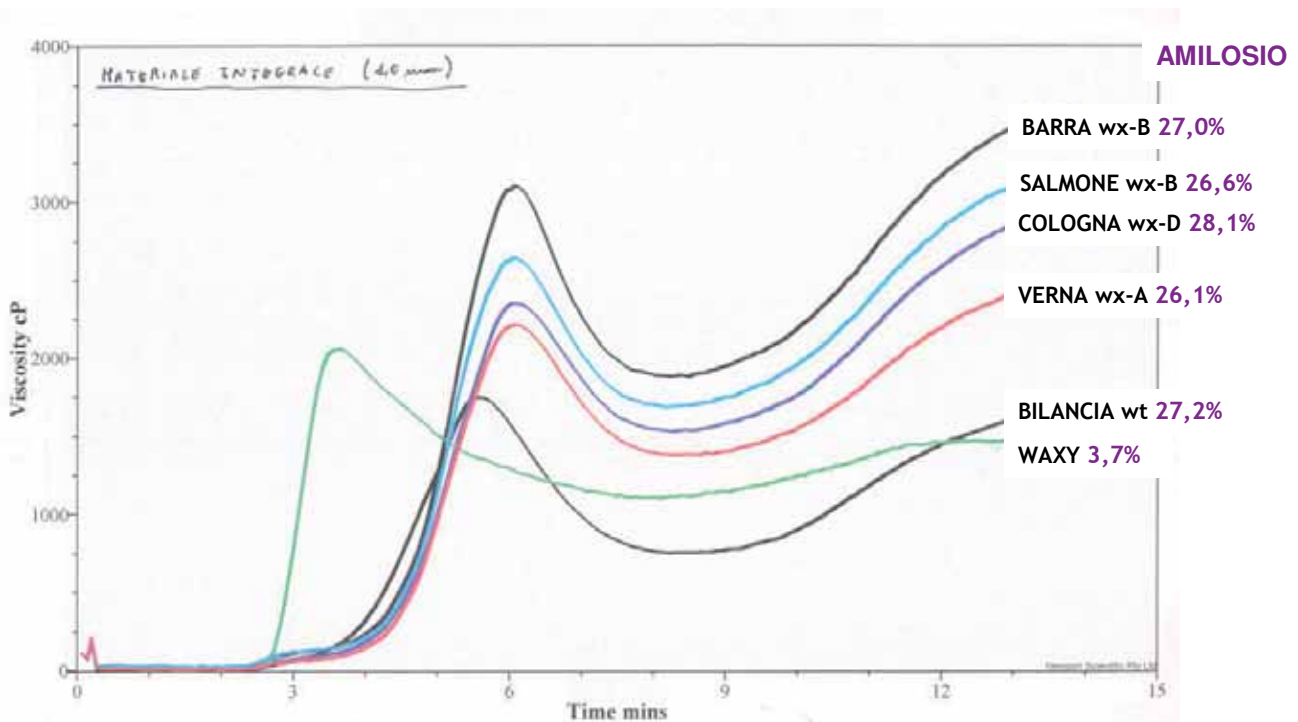


Fig.1: Contenuto in amilosio in alcune accessioni

## RACCOLTA, MOLTIPLICAZIONE E CONSERVAZIONE DI GERMOPLASMA DI FRUMENTO DURO

**CRA-ACM Centro di Ricerca per l'Agrumicoltura e le Colture Mediterranee, Acireale (CT)**

**Massimo Palumbo**

Presso il CRA-ACM è presente una collezione di frumenti duri distinti in:

- n. 129 accessioni di *landraces*, genotipi, popolazioni ecc selvatici e/o autoctoni;
- n. 935 accessioni italiane;
- n. 219 accessioni straniere.

In linea con gli obiettivi del progetto, nel corso dell'anno 2008 si è proceduto a organizzare un piano di semina inserendo 360 accessioni allo scopo di aumentare i quantitativi di seme disponibile e di ringiovanire i *gene-pools*.

I genotipi in studio sono stati caratterizzati sotto l'aspetto morfologico, mediante dei rilievi effettuati in campo con l'ausilio di schede nei quali erano indicati i descrittori specifici per il grano duro. Sulle parcelle sono stati rilevati i parametri bio-agronomici quali: altezza della pianta, forma della spiga, colore delle reste, epoca di spigatura, suscettibilità alle malattie crittogamiche, suscettibilità all'allettamento, epoca di maturazione.

Dopo la raccolta, sulla granella sono stati rilevati i caratteri merceologici: oltre al peso delle 1000 cariossidi, tramite l'apparecchio Infratec Grain Analyzer che utilizza il metodo della trasmittanza nel vicino infrarosso (NIT), sono stati determinati peso ettolitrico, contenuto proteico e contenuto in glutine.

Successivamente lo studio ha riguardato lo sfarinato ottenuto tramite macinazione della granella con mulino sperimentale Bona. Sulla semola ottenuta sono state condotte analisi qualitative come l'indice di giallo tramite il colorimetro Minolta CR-300, adottando il sistema L \*a \*b (metodo Chroma-meter Minolta) e la qualità del glutine, mediante apparato Glutomatic e il test di sedimentazione in SDS.

Su alcune accessioni sono state eseguite, inoltre, le analisi relative alla caratterizzazione biochimica, mediante elettroforesi delle proteine di riserva, attraverso la realizzazione di gel di poliaccrilamide per l'identificazione delle subunità gluteniniche ad alto e a basso peso molecolare (HMW e LMW).

### **Pubblicazioni:**

- SCIACCA F., FICHERA C., DI SILVESTRO S., CONTE E., PALUMBO M. 2008. *Genetic diversity of Italian germplasm of durum wheat as determined by AFLP in fluorescence*. *Biologia Plantarum* (accepted paper No. 8498).
- PALUMBO M., SPINA A., VIRZI' N., SCIACCA F., BLANCO C., 2008. *Caratterizzazione qualitativa, bioagronomica e molecolare di antichi ecotipi mediterranei di grano duro*. Atti del 2° Convegno Nazionale Piante Mediterranee: valorizzazione delle risorse e sviluppo sostenibile. Agrigento, 7-8 ottobre 2004: 242-249.
- PALUMBO M., BLANGIFORTI S., CAMBREA M., GALLO G., LICCIARDELLO S., SPINA A., 2008. *Sicilian durum wheat landraces for production of traditional breads*. Proceedings of the International Durum Wheat Symposium "From seed to pasta: the durum wheat chain". Bologna (Italy), June 30 - July 3 2008: 132.
- PALUMBO M., CAMBREA M., LICCIARDELLO S., SCIACCA F., SPINA A., VIRZI' N. 2008. *"Ciclope": a new durum wheat variety for Mediterranean Environments*. Proceedings of the International Durum Wheat Symposium "From seed to pasta: the durum wheat chain". Bologna (Italy), June 30 - July 3 2008: 148.
- VIRZI' N., CAMBREA M., LICCIARDELLO S., PALUMBO M., DESIDERIO E., D'EGIDIO M.G. 2008. *Agronomic and quality traits of durum wheat varieties in Mediterranean environments*. Proceedings of the International Durum Wheat Symposium "From seed to pasta: the durum wheat chain". Bologna (Italy), June 30 - July 3 2008: 150.
- PALUMBO M., SPINA A., RUSSO M., SCIACCA F., VIRZI' N. 2008. *Evaluation of durum wheat varieties for baking quality*. Proceedings of the 13th ICC Cereal and Bread Congress. Madrid 15 - 18/06/2008: 70.
- SCIACCA F., FICHERA C., SPINA A., VIRZI' N., PALUMBO M. 2008. *Biochemical and molecular characterization of durum wheat genotypes*. Proceedings of the 13th ICC Cereal and Bread Congress. Madrid 15 - 18/06/2008: 186.

## MANTENIMENTO, CARATTERIZZAZIONE E VALORIZZAZIONE DI FRUMENTI TETRAPLOIDI

CRA-CER Centro di Ricerca per la Cerealcoltura, Foggia

Pasquale De Vita, Pasquale Codianni, Anna Iannucci, Luigi Cattivelli, Orazio Li Destri Nicosia

### Frumenti tetraploidi

La collezione di frumenti appartenenti al genere *Triticum* presente presso il CRA-CER di Foggia è costituita da 1000 genotipi di frumenti tetraploidi e 200 genotipi di frumenti esaploidi e diploidi. Nel corso del 2008, così come negli anni precedenti, è stato rinnovato una parte del materiale vegetale (circa 300 genotipi di frumento duro) attraverso la riproduzione in purezza della semente ed è stata avviata l'informatizzazione dei dati di passaporto e delle caratteristiche morfo-fenologiche di tutti i materiali disponibili. A partire dallo stesso anno è stata sviluppata anche una *core collection* di 240 genotipi rappresentativi delle differenti specie di frumenti tetraploidi disponibili presso la struttura di ricerca (Tab. 1).

I materiali sono stati allevati in pieno campo e la valutazione fenologica e morfologica delle varietà è stata condotta nel corso del ciclo colturale ed è consistita nella verifica dei parametri morfo-fenologici, produttivi e qualitativi (Figura 1 e 2). Attualmente sono in corso una serie di test fisiologici (conducibilità stomatica, SPAD, riflettanza e temperatura fogliare) per la valutazione dei caratteri di resistenza agli stress abiotici dei materiali in pieno campo.

Tabella 1. Elenco dei materiali compresi nella *core collection*

specie	n.
<i>T. turgidum</i> ssp. <i>turgidum</i> var. <i>durum</i>	128
<i>T. turgidum</i> ssp. <i>turgidum</i> var. <i>turanicum</i>	20
<i>T. turgidum</i> ssp. <i>turgidum</i> var. <i>polonicum</i>	20
<i>T. turgidum</i> ssp. <i>turgidum</i> var. <i>turgidum</i>	19
<i>T. turgidum</i> ssp. <i>carthlicum</i>	12
<i>T. turgidum</i> ssp. <i>dicoccum</i>	20
<i>T. turgidum</i> ssp. <i>dicoccoides</i>	17
<i>T. aestivum</i>	3
<i>T. monococcum</i> spp. <i>monococcum</i>	1
<b>Totale</b>	<b>240</b>

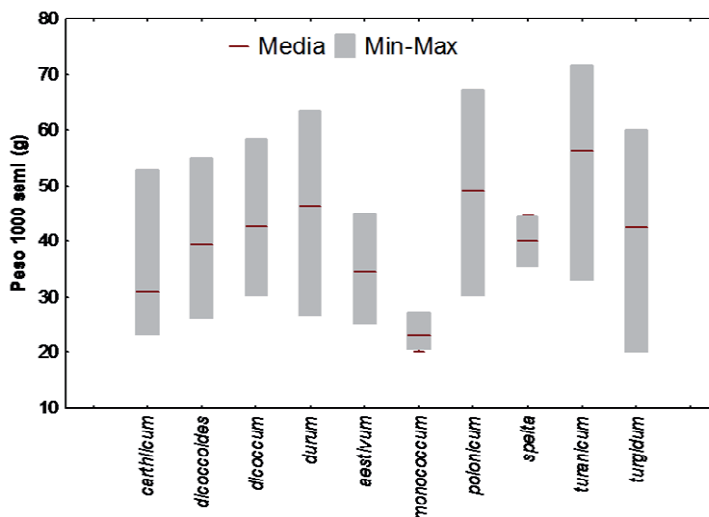


Fig. 1: Valori medi di peso 1000 semi registrato a Foggia nell'annata 2007-08

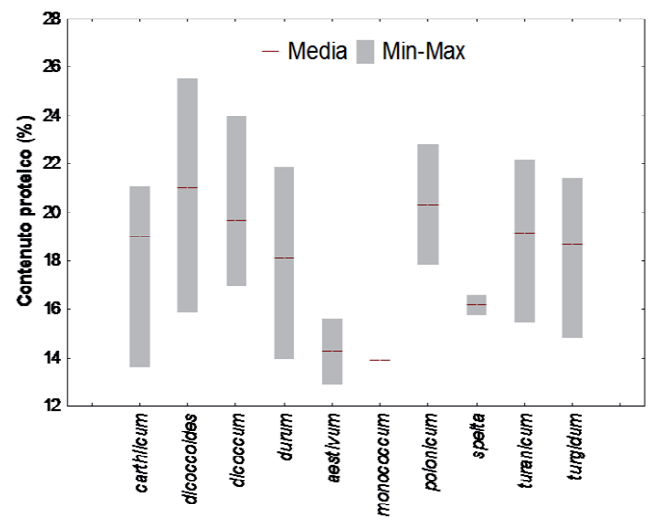


Fig. 2: Valori medi di contenuto proteico registrato a Foggia nell'annata 2007-08

### Avena da foraggio

Il programma di mantenimento e di valorizzazione delle avene da destinare alla produzione di foraggio è stato caratterizzato inizialmente dalla rigenerazione di oltre 100 accessioni di avena di varia origine e provenienza. Durante la stagione di crescita in corrispondenza della fase di spigatura di ciascuna accessione è stato determinato il contenuto di frutto-oligosaccaridi (FOS) con l'obiettivo principale di identificare genotipi di avena adatti alle condizioni climatiche meridionali in grado di esprimere anche quantitativi significativi di FOS. I primi risultati hanno evidenziato una elevata variabilità genotipica per il contenuto di questi composti bioattivi e la possibilità di sfruttare questi materiali in uno specifico programma di miglioramento genetico.

## CONSERVAZIONE E VALORIZZAZIONE DI RISORSE GENETICHE NEL GENERE *HORDEUM*

CRA-GPG Centro di Ricerca per la Genomica e la Postgenomica animale e vegetale, Fiorenzuola d'Arda (PC)

Valeria Terzi

In accordo con quanto previsto dalla scheda progettuale l'attività 2008 ha comportato il mantenimento della collezione di germoplasma di *Hordeum*, costituita attualmente da circa 2.000 genotipi di orzo, rappresentati da popolazioni, vecchie e nuove varietà di orzo coltivato, oltre a genotipi di orzi spontanei e selvatici (vedi Tabella).

**Tab. 1: Composizione della collezione di orzi presso il CRA-GPG**

Genere e specie	Descrizione	n. di accessioni
<i>Hordeum vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>	Landraces italiane ed estere	480
<i>Hordeum vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>	Vecchie e nuove varietà	800
<i>Hordeum vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>	Mutanti morfologici semplici	169
<i>Hordeum vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>	Mutanti morfologici doppi	105
<i>Hordeum vulgare</i> ssp. <i>spontaneum</i>	Orzi spontanei provenienti dal bacino del Mediterraneo	415
<i>Hordeum</i>	Orzi selvatici europei, asiatici ed americani	51

Come attività routinaria, ma indispensabile per il mantenimento della collezione, durante l'anno 2008 si è provveduto al rinnovo della semente, attraverso la semina e la raccolta di un terzo della collezione stessa, realizzata attraverso la riproduzione in purezza in filette da 1 metro lineare in triplicato. E' inoltre proseguito l'allevamento in pieno campo di diverse accessioni di *Hordeum spontaneum* provenienti dal bacino del Mediterraneo. Le 51 accessioni di orzi selvatici, annuali, biennali o perenni, appartenenti al *pool* genico terziario e in dotazione alla collezione sono state riprodotte o mantenute in allevamento in condizioni controllate di serra. La collezione di mutanti morfologici di orzo è stata interamente riprodotta. Si è inoltre provveduto alla conservazione di 6 popolazioni di mappa.

Parte della collezione di genotipi di orzo coltivato è stata caratterizzata per resistenza alle basse temperature attraverso test di campo. In parallelo, su di un subset di questi genotipi si sono utilizzati approcci di laboratorio per la valutazione dei caratteri di resistenza a stress abiotici, con particolare riferimento alla risposta alle basse temperature. In particolare, si è utilizzato il sistema PAM 2000 per misurare parametri fotosintetici, legati a cambiamenti nella fluorescenza della clorofilla, che possono essere modulati in risposta a stress abiotici.

Il carattere di resistenza/suscettibilità a *Pyrenophora graminea* è stato valutato su di un set di genotipi attraverso test in condizioni controllate di infezione (*sandwich test*) con due isolati del fungo caratterizzati da alta aggressività.

Si è iniziata la raccolta e caratterizzazione di materiali genetici di orzo pigmentato, potenzialmente ricchi in molecole antiossidanti, quali tocololi.

## ESPLORAZIONE E VALORIZZAZIONE DELLE RISORSE GENETICHE COSTITUITE CON LA CRA-RGB (CRA-RICE GERMPLASM BANK)

CRA-RIS Unità di Ricerca per la Riscoltura, Vercelli

Elisabetta Lupotto, Stefano Cavigiolo, Diego Greppi

Durante l'anno 2008, la collezione di accessioni raccolte e catalogate dal CRA-RIS di Vercelli, ha raggiunto la dimensione di 868 unità. La collezione è costantemente impiegata in diversi programmi di ricerca, nonché nei programmi di miglioramento genetico. Per questo motivo le accessioni sono costantemente rigenerate e fenotipizzate con lo scopo prioritario di catalogarne le potenzialità relative a tratti genetici diversi, importanti per la ricerca. Inoltre, proprio per i motivi suddetti, il materiale è oggetto di intenso scambio con altre istituzioni di ricerca internazionali (europee ed extra-europee). Questa attività ha consentito la partecipazione attiva del CRA-RIS in programmi di ricerca che implicano valutazione di germoplasma di riso italiano in altri ambienti (ad es. in Cina e in Egitto), e contemporaneamente ha permesso l'introduzione di accessioni estere che – se non autorizzate entro progetti comuni di ricerca – non sarebbe stato possibile introdurre. E' questo il caso delle varietà recentemente costituite in Cina, appartenenti alla classe delle "supervarietà" o "New Plant Type", varietà convenzionali (non OGM) derivate da una costituzione mirata tramite marcatori fenotipici e molecolari per caratteristiche élite.

Alla collezione di accessioni, nell'anno 2008 si è aggiunta una serie di risorse genetiche costituite dal CRA-RIS nell'ambito di progetti a finanziamento UE e nazionale (progetti MIPAAF). Proprio in funzione dei progetti internazionali (CEDROME, INCO-CT2005-015468 ed EURIGEN, 049 AGRI GEN RES), la collezione è in crescita intensa e quindi destinata in breve ad assumere dimensioni maggiori. Nell'anno 2008 inoltre, è stata allestita una grande cella di conservazione del germoplasma nella forma "dinamica", dove cioè le accessioni, che sono oggetto di impiego nei vari programmi di ricerca, vengono conservate con metodo *short term*, cioè oggetto di rigenerazione, moltiplicazione e fenotipizzazione ogni 5-6 anni, salvo richieste di seme addizionali. L'attività di collezione per la banca del germoplasma di riso, a livello nazionale è assistita dalla collaborazione con i due Enti nazionali responsabili per il settore: Ente Nazionale Risi, con la struttura del centro Ricerche sul Riso di Castello D'Agogna (PV) e ENSE (Ente Nazionale Sementi Elette) di Milano.

Attualmente quindi la collezione di germoplasma di riso è costituita da un totale di 868 accessioni così distribuite: Un totale di 472 accessioni (varietà registrate) composte da 224 genotipi italiani e 248 genotipi esteri. Le 224 varietà italiane comprendono varietà antiche rappresentative del germoplasma storico del riso italiano, varietà tradizionali coltivate, varietà moderne e di recentissima costituzione. Ogni anno vengono incluse nella collezione le varietà di nuova costituzione che entrano sul mercato. I 248 genotipi esteri includono varietà note come risorsa genetica specifica di caratteristiche élite. Tra queste, per esempio, 6 varietà cinesi appartenenti alle "supervarietà" e alle nuove varietà derivate dai programmi di *breeding* con risi di tipo *upland*, per la coltura del riso in terreno aerobico a ridotto regime idrico; una dozzina di varietà americane caratterizzate dalla presenza di geni *Pi* (geni di resistenza ad ampio spettro a *Magnaporthe oryzae*, agente eziologico del brusone); molte varietà americane ed europee di tipo *semidwarf* (gene *sd-1*), portatori del carattere "taglia bassa" e molto produttive.

A queste accessioni sono aggiunte 60 linee ISC finite (in completa omozigosi) portate a compimento per la realizzazione di *target* specifici (qualitativi, di resistenza, di portamento della pianta, di tipologia del granello etc.), ma che non sono (o non sono ancora) state scelte per registrazione come nuova varietà. Queste linee possono entrare in programmi di incrocio e selezione per un carattere specifico, e quindi risultare rilevanti come risorsa genetica.

La collezione include – con l'anno 2008 – anche una serie di 336 linee diploaploidi ottenute con la tecnica di coltura di antere da ibridi F1 tra genotipi italiani e accessioni *drought tolerant*, capaci cioè di crescere e produrre in terreno aerobico a ridotto regime idrico. I materiali sono stati costituiti da CRA-RIS nell'ambito del progetto UE CEDROME già citato.



Foto 1: Banca di germoplasma del CRA-RIS

Le 336 DT-DHL sono moltiplicate, fenotipizzate e dal 2009 in prova per coltura in asciutta in Italia, Egitto e Cina.

Da ultimo – ma non conteggiate nel totale della collezione – è in corso la costituzione di due ulteriori risorse genetiche: una popolazione di TILLING della varietà italiana 'Volano', e due *mapping populations* derivate da incrocio tra due genotipi italiani altamente suscettibili al brusone ('Maratelli' e 'Vialone nano') e il genotipo italiano 'Gigante Vercelli', una varietà storica completamente resistente, per la identificazione e la mappatura del gene di resistenza italiano. La TILLING population di 'Volano' (costituita nel progetto VALORYZA a finanziamento MIPAAF), consta nella costituzione finale di circa 2400 linee oggetto di analisi per la attività di *allele mining* ed associazione variante allelica-fenotipo.

Considerando la completezza delle 472 accessioni attualmente fenotipizzate, la collezione è stata oggetto di esplorazione per tratti di particolare rilevanza, soprattutto per la qualità, per la resistenza a stress biotici e abiotici, e per l'altezza della pianta.

- Esplorazione delle caratteristiche legate alla qualità del granello

Le caratteristiche qualitative del granello del riso, oltre alla appartenenza a una delle quattro classi merceologiche: LungoB, LungoA, Medio e Tondo), sono principalmente determinate dal rapporto tra le due frazioni amiloso ed amilopectina. Risi ad elevato tenore di amiloso, con granello cristallino, sono particolarmente apprezzati dall'industria (*parboiling*, precotti etc.); altri risi detti *waxy* sono invece caratterizzati dalla presenza pressoché totale della frazione amilopectina, e hanno impieghi completamente differenti. Tra questi estremi esiste una grande varietà di combinazioni che caratterizzano le varie accessioni. La collezione presenta la maggior parte delle accessioni con un contenuto medio in amiloso (60% circa), ma una buona presenza è data da risi ad alto e molto alto tenore in amiloso (35% circa). La stessa collezione, saggiata con l'alkali test per la tenuta alla cottura, mostra una ampia appartenenza alle varie classi di valutazione, ma circa il 30% della accessioni cade nelle prime tre classi di valutazione, quindi con buona tenuta.



Foto 2: Chicchi di riso a pericarpio rosso

- Esplorazione delle caratteristiche legate alla resistenza allo stress idrico

Sebbene la collezione conti soprattutto varietà selezionate per coltura convenzionale in sommersione, la valutazione della *performance* in terreno aerobico a ridotto regime idrico ha evidenziato la presenza di una buona percentuale di accessioni potenzialmente adatte per coltura in asciutta (20% circa) e di una frazione (5% circa) con caratteristiche ottimali tanto da poter essere considerate già per sé varietà potenzialmente utili per questo sistema colturale. I risultati sono particolarmente rilevanti nell'ottica sia di un impiego diretto di tali varietà, sia come parentali per incroci e selezione o per ottenimenti di linee DT-DHL direttamente. Un *panel* di circa 15 varietà è inoltre stato oggetto di uno studio mirato alla caratterizzazione del processo di micorrizzazione delle radici in terreno aerobico, ad opera dei funghi AM (arbuscolari micorrizici) notoriamente benefici nella fisiologia della pianta, presenti in riso solo nella condizione di coltura aerobica. Lo studio è mirato alla identificazione di genotipi particolarmente ricettivi alla micorrizzazione e alla analisi della risultanza della simbiosi in termini di rendimento produttivo della pianta. Lo studio è condotto in collaborazione con l'Università di Torino e il CNR (gruppo di ricerca di P. Bonfante).

- Esplorazione delle caratteristiche legate alla resistenza al brusone

Il germoplasma di riso italiano è tradizionalmente caratterizzato da media ed elevata suscettibilità al brusone. La identificazione di risorse genetiche opportune per la introduzione di geni di resistenza ad ampio spettro nel rinnovo varietale italiano è di importanza prioritaria. Per questo motivo il settore specifico è oggetto di indagine approfondita e diverse linee di ricerca sono in corso al CRA su questo tema. La collezione CRA-RGB presenta come atteso una maggioranza di accessioni con grado medio-alto di suscettibilità alla malattia. Tuttavia, un discreto numero di accessioni è stato raccolto, con grado basso-molto basso di suscettibilità (25% circa) alla malattia, e di questa frazione la maggior parte è geneticamente caratterizzata per la presenza di geni *Pi* specifici.





- Esplorazione della biodiversità genetica

Infine, la maggior parte della collezione è stata oggetto di esplorazione genomica effettuata mediante l'impiego di 24 marcatori microsatelliti (SSR) distribuiti sui 12 cromosomi del riso, in modo da ottenere una visione globale della struttura genetica della collezione in termini di diversità genetica. Il lavoro di analisi della collezione è stato condotto in stretta collaborazione tra CRA-RIS di Vercelli e il gruppo di ricerca sulla genomica del riso coordinato da P. Piffanelli, del Parco Tecnologico Padano di Lodi. Il lavoro di fenotipizzazione associato alla genotipizzazione ha permesso pertanto una identificazione accurata della struttura genetica della collezione, soprattutto in funzione del tratto di resistenza al brusone (Favre-Rampant *et al.* in press).

## **CONSERVAZIONE, CARATTERIZZAZIONE, VALUTAZIONE E VALORIZZAZIONE DI RISORSE GENETICHE DI COLTURE PER L'ALIMENTAZIONE ZOOTECNICA**

<sup>1</sup>CRA-FLC Centro di Ricerca per le Produzioni Foraggere e Lattiero-Casearie, Lodi;  
<sup>2</sup>CRA-AAM Unità di Ricerca per i Sistemi Agropastorali in Ambiente Mediterraneo, Sanluri

Paolo Annicchiarico<sup>1</sup>, Luciano Pecetti<sup>1</sup>, Massimo Romani<sup>1</sup>, Sandro Proietti<sup>1</sup>, Antonio Carroni<sup>2</sup>, Patrizia Manunza<sup>2</sup>

Le attività sono sinteticamente descritte di seguito. Alcune di esse sono state svolte in collaborazione con l'Università della Tuscia e quella di Palermo, che hanno contribuito con fondi propri.

- Collezione, ringiovanimento e conservazione a lungo termine di germoplasma

Sono state moltiplicate 150 accessioni di trifoglio sotterraneo a Sanluri. La conservazione a lungo termine nella banca del germoplasma di Lodi si è estesa fino a comprendere circa il 60% delle accessioni. Nel complesso, la collezione comprende ora oltre 3500 accessioni, di cui quasi il 70% sono italiane e il 62% sono ecotipi aziendali o popolazioni naturali autoctoni. Quasi il 20% delle accessioni, spesso identificate con criteri da *core collection*, è disponibile per lo scambio.

- Caratterizzazione e valutazione di ecotipi e popolazioni naturali di trifoglio violetto

Si è conclusa questa attività, condotta in collaborazione con l'Università della Tuscia su un campione di germoplasma rappresentativo delle diverse tipologie di trifoglio violetto disponibili in Italia.

Il confronto tra i dati di produzione in foraggio di Lodi e quelli di Viterbo ha evidenziato ampi effetti di interazione popolazione x areale di coltivazione, data la risposta relativamente migliore di alcuni ecotipi ('Piemontese' e 'Cremonese') a Lodi e di alcune popolazioni naturali originarie dell'Italia centrale e della Sardegna a Viterbo. In entrambe le località è emersa la straordinaria persistenza, anche rispetto alle varietà di controllo, di alcune popolazioni naturali caratterizzate da una morfologia piuttosto prostrata. Queste popolazioni sono di notevole interesse quali risorse genetiche per la costituzione di varietà che superino il ciclo biennale tipico delle varietà coltivate e che siano pertanto adatte alla costituzione di prati o prato-pascoli di media durata.

E' emersa una stretta relazione tra similarità morfofisiologica delle accessioni e l'affinità per tipo di germoplasma (ecotipo o popolazione naturale) e/o l'origine geografica. La similarità su base molecolare dei materiali, condotta dall'Università della Tuscia, si è invece dimostrata meno legata al tipo di germoplasma o alla sua origine.

La valorizzazione di queste risorse genetiche ha implicato la selezione, in collaborazione con l'Università della Tuscia, di genotipi appartenenti alle tre popolazioni naturali caratterizzate dalla migliore persistenza, in vista della costituzione di una popolazione sintetica sperimentale dotata di persistenza superiore a quella tipica dei materiali italiani coltivati.

- Caratterizzazione morfofisiologica e valutazione in diversi areali di popolazioni di sulla

Sebbene trascurata dal miglioramento genetico, la sulla è la seconda leguminosa prativa per area coltivata in Italia. Il progetto ha finanziato il primo anno di attività, condotta a Lodi per valutare la resistenza al freddo e l'adattamento all'areale climatico subcontinentale e a Sanluri (Sardegna) e dall'Università di Palermo per la caratterizzazione e la valutazione dell'adattamento agli ambienti a clima mediterraneo. Sono state studiate 13 popolazioni rappresentative delle principali provenienze italiane (Sardegna, Sicilia, Toscana, Marche, Abruzzo).



I risultati della sopravvivenza invernale e della resa in foraggio del primo anno a Lodi hanno evidenziato la stretta relazione positiva tra le due variabili, nonché l'adattamento tendenzialmente migliore delle popolazioni dell'Italia centrale e lo scarso adattamento della maggior parte delle popolazioni siciliane all'ambiente climatico subcontinentale. E' però presente anche variabilità tra popolazioni di una stessa area geografica. Le migliori popolazioni naturali hanno mostrato un adattamento simile o anche leggermente superiore a quello delle migliori varietà di controllo.

• Valutazione in diversi areali climatici di ecotipi aziendali italiani ed esteri di lupino bianco

Il lupino bianco, caratterizzato da un tenore proteico della granella prossimo al 40%, è di particolare interesse come coltura proteica da granella per le filiere agrozootecniche *GM-free* in sostituzione della soia. Otto ecotipi italiani e 13 esteri, selezionati dalla precedente valutazione di una collezione mondiale di germoplasma, sono stati valutati nell'areale climatico subcontinentale (Lodi) e in quello mediterraneo (Sanluri). Si riportano in Tabella 1 i risultati dei migliori otto ecotipi a confronto con la migliore varietà di controllo (l'italiana 'Multitalia').

**Tab. 1. Resa in granella (t/ha) e mortalità finale (%) di ecotipi e varietà di lupino bianco in due località**

Accessione	Origine	Resa		Mortalità	
		Lodi	Sanluri	Lodi	Sanluri
ITA57 (Sulmona, AQ)	Italia	6.21 <sup>a</sup>	3.62 <sup>a</sup>	43.6 <sup>a</sup>	7.7 <sup>a</sup>
Soletto (LE)	Italia	5.83 <sup>a</sup>	3.68 <sup>a</sup>	51.4	7.7 <sup>a</sup>
GR56	Grecia	5.71 <sup>a</sup>	3.30 <sup>a</sup>	46.0 <sup>a</sup>	11.2 <sup>a</sup>
E132	Portogallo	5.30 <sup>a</sup>	3.70 <sup>a</sup>	57.7	8.2 <sup>a</sup>
S.Croce Magliano (CB)	Italia	6.15 <sup>a</sup>	2.84	26.6 <sup>a</sup>	12.1 <sup>a</sup>
E2	Spagna	5.49 <sup>a</sup>	3.41 <sup>a</sup>	56.5	5.6 <sup>a</sup>
LA653	Canarie	4.60 <sup>a</sup>	4.13 <sup>a</sup>	70.9	14.7
LA646	Canarie	4.94 <sup>a</sup>	3.76 <sup>a</sup>	51.3	16.2
Multitalia	Italia (Varietà)	3.87	3.23 <sup>a</sup>	63.5	14.2

<sup>a</sup> Medie con lettera 'a' non differiscono dalla media più elevata per la resa, e dalla media più bassa per la mortalità, a P < 0.05.

Sebbene diversi ecotipi italiani si siano dimostrati tra le accessioni più produttive, non mancano gli ecotipi esteri con caratteristiche agronomiche comparabili. Alcune accessioni hanno evidenziato un adattamento specifico a uno dei due areali di valutazione, ad esempio 'S. Croce di Magliano', specificamente adatta all'areale subcontinentale per la sua eccezionale resistenza al freddo (tale ecotipo aveva anche mostrato tolleranza a livelli medio-elevati di calcare attivo in uno studio precedente). L'insieme delle indicazioni ottenute dal lavoro di valutazione sarà utilizzato per identificare un numero limitato di accessioni (verosimilmente due italiane e due estere) che fungano da genotipi parentali in incroci con nuove linee o varietà a seme dolce.

• Valorizzazione di nuovo germoplasma di lupino bianco a seme dolce

Il principale obiettivo di questo lavoro è l'identificazione di nuovo germoplasma a seme dolce di lupino bianco con un valore agronomico superiore alle varietà attualmente in coltivazione, da proporre per l'iscrizione al Registro Varietale. 36 linee selezionate presso il CRA-FLC sono state valutate a Lodi e a Sanluri insieme a tre varietà di controllo. L'attività ha evidenziato la presenza di marcati effetti di interazione genotipo x areale climatico. Quattro linee con adattamento ampio o specifico sono state promosse alla fase finale di valutazione (che sarà svolta in 5-6 località, in collaborazione con istituzioni cooperanti).

• Valutazione del gene del nanismo in lupino bianco per ambienti mediterranei

Questa attività ha l'obiettivo di indirizzare la futura attività di valorizzazione del germoplasma di lupino bianco, valutando l'utilità del gene del nanismo (posseduto da numerose recenti varietà) per gli ambienti mediterranei (per i quali mancano indicazioni nella letteratura). Ciò è stato fatto tramite confronto tra linee isogeniche in due *background* genetici, valutando i materiali a Sanluri in due densità di semina. Nel primo anno la bassa statura ha evidenziato un leggero vantaggio per la resa in granella (non significativo a P < 0.05) e una minore produzione di biomassa.

• Valorizzazione di nuovo germoplasma di pisello per i sistemi agrozootecnici padani

Attività pregressa ha suggerito che tipologie di pisello a statura più elevata rispetto al germoplasma convenzionale possano essere di particolare interesse per i sistemi agrozootecnici perchè in grado di

produrre più biomassa se destinate alla produzione di insilato nonchè competere meglio con un cereale consociato (consentendo di ottenere un miscuglio più equilibrato) e/o con le infestanti. Precocità di maturità (in vista di una seconda coltura estiva) e tolleranza all'allettamento sono altre caratteristiche agronomiche importanti per il pisello nei sistemi padani.

Da un incrocio di una varietà *semi-leafless* (cioè con fogliole trasformate in cirri) dotata di gene del nanismo, grande precocità e tolleranza all'allettamento con una varietà anch'essa *semi-leafless* ma di tipo alto e piuttosto tardiva sono state prodotte diverse generazioni di progenie sottoposte a successivi cicli di selezione. Nell'ultimo anno sono state valutate a Lodi 72 linee F<sub>5</sub>. Parecchie linee hanno evidenziato produzioni di granella e/o di paglia (e quindi produzioni di biomassa) tendenzialmente superiori a quelle di entrambi i parentali. Il maggiore limite di tali linee sembra situarsi nella ridotta tolleranza all'allettamento associata all'alta statura, limite che diventa meno importante in presenza di consociazione con un cereale.



Foto 1: Germoplasma di lupino bianco in valutazione a Sanluri

- Selezione di germoplasma innovativo di favino

L'obiettivo complessivo del lavoro è la selezione di materiali caratterizzati da ampio adattamento agli ambienti italiani del centro-nord e da basso tenore in tannini nella granella (caratteristica geneticamente associata al fiore bianco e che rende la granella più digeribile nell'alimentazione dei monogastrici). Da un programma di incroci tra germoplasma mediterraneo (a fiore bianco o colorato) e germoplasma continentale europeo (a fiore colorato) sono state ottenute delle progenie soggette a selezione per resistenza alle basse temperature invernali, fiore bianco ed elevata produzione di granella in assenza di impollinazione incrociata (valutata in ambienti confinati), allo scopo di identificare linee parentali per la costituzione di varietà sintetiche a fiore bianco.

- Valorizzazione di risorse genetiche di erba medica

E' stata prodotta in isolamento la generazione 'Syn-2' di tre potenziali varietà selezionate a partire da germoplasma di ecotipi italiani raccolti nella Pianura Padana e caratterizzate da adattamento ampio o specifico ai due areali padani più contrastanti (areale 1 = ambienti irrigui e terreni sciolti della pianura nord-occidentale; areale 2 = ambienti asciutti e terreni argillosi della pianura sud-orientale). La successiva attività di valutazione avrà il duplice scopo di confrontare due strategie di selezione (per adattamento ampio o specifico) ed evidenziare varietà sperimentali superiori in vista della loro iscrizione al Registro Varietale.

Attività aggiuntiva ha riguardato la selezione fenotipica di una popolazione sperimentale a partire da una collezione di ecotipi aziendali egiziani. Tale attività, incentrata sul miglioramento della resistenza al freddo invernale di questo germoplasma, si situa nel contesto dello sviluppo di popolazioni eterotiche di erba medica. Queste popolazioni possono manifestare eterosi a seguito di una generazione di libera impollinazione (*free hybrids*) tra pool genetici geneticamente distanti (nel nostro caso, tra il *pool* egiziano e un *pool* élite di germoplasma locale).



Foto 2 e 3: Sopravvivenza invernale a Lodi di germoplasma egiziano (sinistra) e locale (destra) di erba medica



## RACCOLTA, CONSERVAZIONE, CARATTERIZZAZIONE E VALORIZZAZIONE DI GERMOPLASMA DI SPECIE INDUSTRIALI

CRA-CIN Centro di Ricerca per le Colture Industriali, Bologna e Rovigo

Mario Di Candilo, Gianpaolo Grassi, Giuseppe Mandolino, Bruno Parisi, Andrea Carboni

Nel 2008 il CRA-CIN, nell'ambito del progetto "Risorse Genetiche Vegetali/Implementazione del Trattato FAO", ha svolto attività finalizzate alla caratterizzazione di vecchio e nuovo germoplasma di canapa (dioica e monoica), patata e fagiolo incluso nelle collezioni conservate presso lo stesso Centro di Ricerca.

Di seguito, si illustrano sinteticamente le attività svolte e i principali risultati ottenuti, distintamente per ciascuna specie sopra citata.

### Canapa

Alla fine degli anni '50 l'Italia disponeva del più importante *pool* genico di canapa, rappresentato da:

- popolazioni eterogenee, fornite di buone capacità di adattamento anche a condizioni di stress ambientali;
- popolazioni abbastanza uniformi ottenute per selezione massale ('Carmagnola', 'Bolognese', 'Toscana', 'Ferrarese');
- varietà ottenute per selezione, secondo il metodo Breedeman: 'Fibranova', 'C.S.', 'Eletta Campana', 'T4', 'Superfibra'.

Tale germoplasma nel lungo periodo di abbandono della coltivazione è andato in buona parte perduto per mancata riproduzione e conservazione del seme in apposite banche. Si tratta di un'erosione significativa che andava assolutamente fermata per evitare di ridurre ulteriormente la variabilità genetica disponibile, fondamentale sia per un impiego diretto in coltura, sia per la costituzione di nuove varietà migliorate.

Alla luce del nuovo interesse per la canapa, nell'ambito del progetto viene condotta un'attività volta alla valutazione e alla salvaguardia del germoplasma nazionale storico ancora disponibile e di quello di recente selezione. Più in particolare, con la presente ricerca ci si prefigge di acquisire i seguenti due obiettivi:

- raccolta e caratterizzazione del germoplasma italiano e riproduzione del seme;
- ricostituzione di un ampio *pool* genico, fondamentale per l'impiego diretto in coltura e per la costituzione di nuove cultivar.
- Caratterizzazione di vecchie e nuove selezioni

Nel 2008 è stata realizzata una prova di confronto fra 14 cultivar di canapa, di cui 12 dioiche e 2 monoiche. Le prime erano costituite da tre varietà storiche ('Carmagnola', 'C.S.', 'Fibranova') e 9 selezioni di recente costituzione. Le varietà monoiche erano rappresentate da due cultivar francesi ('Felina 32' e 'Futura 75').

La prova è stata svolta ad Anzola dell'Emilia, adottando un protocollo sperimentale basato sui seguenti criteri operativi:

- schema sperimentale a blocco randomizzato, con tre ripetizioni;
- superficie parcella: 20 m<sup>2</sup>, comprendente 22 file di piante;
- semina a fine marzo, con distanze di 20 cm fra le file;
- diradamento delle piante alla differenziazione della quarta foglia vera;
- condizione della coltura in asciutta;
- raccolta alla piena fioritura delle piante.

In occasione della raccolta sono stati eseguiti i seguenti rilievi: altezza media delle piante, diametro basale degli steli, produzione di biomassa fresca, rapporto steli/biomassa, percentuali di sostanza secca degli steli e delle foglie, rese in steli secchi e in fibra, nonché il contenuto di THC delle piante.

I risultati ottenuti da questa prova sono riportati nelle tabelle 1 e 2. In sintesi, i dati rilevati indicano che:

- le varietà storiche autoctone di canapa ('Carmagnola', 'C.S.' e 'Fibranova') sono tuttora competitive sia nei riguardi delle nuove costituzioni nazionali, sia soprattutto nei confronti del germoplasma d'oltralpe che nelle nostre condizioni colturali spesso prefioriscono molto anticipatamente, con ovvie conseguenze negative sotto il profilo produttivo e qualitativo;
- le nuove costituzioni nazionali, recentemente selezionate, presentano buone potenzialità produttive in biomassa e risultano particolarmente vocate per la produzione di fibra, caratteristiche che sono risultate associate all'altezza delle piante, alla loro resistenza alla prefioritura e al contenuto in fibra degli steli. Inoltre, va anche sottolineato che tutte le nuove selezioni si contraddistinguono per bassi contenuti di THC;

- il lavoro svolto in questi ultimi anni, grazie anche al progetto "Risorse Genetiche Vegetali/ Trattato FAO", ha consentito, dopo oltre 50 anni di abbandono della coltivazione della canapa, di ricostituire un buon *pool* genico fondamentale sia per un impiego diretto in coltura, sia per attività di *breeding*;
- infine, sia le vecchie che le nuove cultivar hanno confermato la notevole valenza ambientale della coltivazione della canapa, grazie alla rusticità della pianta (non richiede trattamenti antiparassitari), al naturale soffocamento delle infestanti (non richiede il diserbo chimico) e al profondo apparato radicale della pianta in grado di assicurare un sufficiente rifornimento idrico della coltivazione in estate (non richiede l'irrigazione almeno nel nord Italia).

**Tab. 1: Caratteristiche biometriche, rapporti ponderali steli/biomassa, fibra/steli e contenuti di THC delle piante (Anzola dell'Emilia, 2008).**

Cultivar	Altezza pianta (cm)	Diametro stelo (mm)	Steli freschi (%)	Fibra (%)	THC (%)
POP 1	311.9 ab	13.5 ad	76.5 ac	25.1 ab	0.06 c
POP 2	292.6 ab	11.3 bd	81.0 ab	23.7 bc	0.08 ac
POP 3	331.6 a	16.4 a	83.3 ab	21.8 be	0.11 a
POP 4	334.8 a	14.5 ac	82.7 ab	20.1 be	0.08 ac
POP 5	313.8 ab	13.8 ad	82.4 ab	22.8 bc	0.10 ab
ISCI 51	337.0 a	15.1 ab	84.8 ab	30.2 a	0.09 ab
Bernabeo	291.4 ab	13.1 ad	81.1 ab	19.4 ce	0.00 d
Carmagnola	325.9 a	14.3 ac	83.4 ab	17.0 de	0.07 bc
C.S.	315.2 ab	14.1 ac	82.8 ab	21.0 be	0.10 ab
Fibranova	334.9 a	14.0 ad	86.3 a	24.3 bc	0.08 ac
Red Petiole	301.7 ab	13.6 ad	82.6 ab	16.5 e	0.07 bc
Verucchi	246.1 b	11.5 bd	75.4 bc	22.6 bc	0.07 bc
Felina 32	254.4 b	10.1 d	70.3 c	21.5 be	0.10 ab
Futura 75	275.2 ab	10.7 cd	78.8 ac	21.9 bd	0.06 c
<b>Media</b>	304.7	13.3	80.8	22.0	0.08
<b>cv (%)</b>	7.7	9.9	4.1	8.0	16.8

**Tab. 2: Caratteristiche produttive delle cultivar valutate (Anzola dell'Emilia 2008).**

Cultivar	Biomassa fresca (t ha <sup>-1</sup> )	Steli freschi (t ha <sup>-1</sup> )	Steli secchi (t ha <sup>-1</sup> )	Fibra (t ha <sup>-1</sup> )	Sostanza secca totale (t ha <sup>-1</sup> )
POP 1	49.1 ac	37.6 ac	11.1 bd	2.8 ac	13.9 ac
POP 2	53.4 ab	43.2 a	14.0 ac	3.3 ac	16.6 ac
POP 3	54.5 a	45.5 a	15.3 ab	3.3 ac	18.0 ac
POP 4	56.6 a	46.8 a	15.1 ab	3.0 ac	17.8 ac
POP 5	46.3 ac	38.0 ac	12.3 ad	2.8 ac	14.7 ac
ISCI 51	50.9 ac	43.2 a	14.1 ac	4.2 a	16.2 ac
Bernabeo	47.0 ac	38.1 ac	11.4 ad	2.2 bc	13.6 ac
Carmagnola	49.4 ac	41.2 ab	14.2 ac	2.4 bc	16.5 ac
C.S.	56.2 a	46.6 a	16.2 a	3.4 ab	19.2 a
Fibranova	54.3 a	46.9 a	16.0 ab	3.9 a	18.2 ab
Red Petiole	50.9 ac	42.0 ab	14.0 ac	2.3 bc	16.6 ac
Verucchi	40.1 c	30.3 bc	9.9 cd	2.2 bc	12.9 bc
Felina 32	40.8 bc	28.8 c	8.8 d	1.9 c	12.3 c
Futura 75	50.5 ac	39.8 ac	12.7 ad	2.8 ac	15.7 ac
<b>Media</b>	50.0	40.5	13.2	2.9	15.9
<b>cv (%)</b>	8.4	9.6	12.6	16.1	12.2

- Riproduzione di varietà monoiche

In tre località dislocate nel territorio dei comuni prospicienti Rovigo, Roverdicrè e Concadirame sono stati realizzati piccoli centri di moltiplicazione formati da circa un centinaio di piante.

Le varietà che sono stato oggetto di riproduzione sono le tre migliori monoiche ottenute dal lavoro di selezione che ha preso avvio nel 1995. Sono denominate 'Carma', 'Codimono' ed 'Ermes'. Ciascuna varietà è stata seminata in serra su cubetti di torba, per ottenere piantine sviluppate da trapiantare in numero definitivo nei vari centri. La semina è avvenuta a fine marzo e il trapianto delle plantule è avvenuto allo stadio di tre paia di foglie vere, eseguito entro la prima decade di maggio.

Ogni piantina è stata sorretta da tutore e le file di piante, distanti tra di loro di circa 50 cm sono state sorrette da pali portanti un paio di fili di acciaio.

Nel corso dello sviluppo delle piante sono stati raccolti i dati morfologici e registrate le fasi fenologiche di ciascuna varietà.

Alla maturazione del seme, il prodotto è stato raccolto a mano e pulito per disporre del seme pre-base da utilizzare in prove di confronto e ulteriori moltiplicazioni delle stesse varietà.

- Valutazione di nuove accessioni

Le nuove accessioni di canapa, di cui non siano disponibili notizie certe della loro origine devono essere considerate potenzialmente piante con elevato contenuto del cannabinoide psicotropo THC, perciò devono essere riprodotte in spazi chiusi, previa autorizzazione del Ministero della Salute. Per questo motivo le accessioni esaminate nel 2008 sono state allevate in vasi da 1,5 litri di volume e portate al termine del loro ciclo entro una serra chiusa e corredata da sistema di allarme.

Le accessioni prese in esame erano 23 e per ciascuna di esse sono stati seminati mediamente 5 semi. Le piantine disponibili sono state trapiantate allo stadio cotiledonare e allevate in condizioni termiche controllate (20-24 °C durante il giorno e 15°C di notte). La luce è stata quella naturale del periodo compreso tra aprile e ottobre.

Al momento della piena fioritura è stato raccolto un campione sull'apice di ogni pianta e l'estratto ottenuto, seguendo la procedura prevista dal regolamento europeo vigente per la valutazione del THC, è stato analizzato al gas cromatografo.

Nella tabella sottostante sono riportati i valori medi dei vari gruppi di piante.

**Tabella 3: Valori medi (%) dei cannabinoidi principali nelle singole famiglie**

Famiglia	CBD	THC	Tch/Cbd	CBG
141	1,14	3,53	<b>3,2</b>	1,28
142	1,10	2,82	<b>2,8</b>	1,18
143	1,26	2,58	<b>2,4</b>	1,10
144	1,15	2,24	<b>2,4</b>	0,93
145	1,45	3,28	<b>2,4</b>	1,16
147	1,82	4,10	<b>2,5</b>	1,77
149	1,43	3,41	<b>2,9</b>	1,69
150	0,73	2,37	<b>3,2</b>	1,22
151	1,03	2,30	<b>2,3</b>	0,99
153	1,26	2,52	<b>2,1</b>	0,85
154	2,07	3,01	<b>1,6</b>	1,60
155	1,52	3,98	<b>2,7</b>	1,13
156	1,69	4,14	<b>2,5</b>	1,58
157	1,01	3,91	<b>4,4</b>	1,51
158	1,56	4,04	<b>2,9</b>	1,58
160	1,41	3,49	<b>2,7</b>	1,53
162	1,16	3,23	<b>3,2</b>	1,67
162	1,01	2,89	<b>3,3</b>	1,55
164	0,95	2,79	<b>3,6</b>	1,47
165	0,62	2,25	<b>4,5</b>	1,09
166	0,95	2,24	<b>5,4</b>	0,85
168	1,56	4,12	<b>2,7</b>	1,36
1340	1,40	2,49	<b>1,8</b>	1,36

Tutte le linee valutate hanno presentato livelli di THC superiori allo 0,2% e di conseguenza sono da considerare non adatte alla coltivazione in pieno campo. In serra lo sviluppo delle piante è stato decisamente influenzato dal limitato spazio e dalle condizioni ambientali differenti da quelle del pieno campo. Tuttavia, le tipologie di forma e di ciclo di sviluppo riscontrate fanno ritenere che le accessioni valutate siano più idonee alla produzione di THC che alla produzione di fibra. Infatti i loro contenuti di composto psicoattivo sono oscillati fra 2 e 4% , con punte in alcuni casi del 5-6% (fam. 145, 155, 156 e 157).

Un indice che può essere indicativo dell'attività psicotropa delle piante è sicuramente dato dal rapporto tra il cannabinoide non psicotropo CBD e il THC. Infatti, il primo composto ha un'azione

modulante dell'attività psicoattiva del secondo. Si è potuto rilevare che questo rapporto può variare all'interno di queste popolazione tra un valore inferiore all'unità (0,6 nella linea 154) mentre in altre può raggiungere il valore di 5,4 nella linea 166. Sulla base dei valori di tale rapporto si potrebbe realizzare una selezione divergente finalizzata all'ottenimento di genotipi adatti alla produzione di fibra (a basso THC) e genotipi ad uso medico (ad alto THC).

### **Patata**

In Italia, con il termine di patata extrastagionale si usa definire una tipologia di prodotto, raccolto in periodi diversi rispetto a quelli convenzionali della patata comune. Essa, ben conosciuta dai produttori e consumatori come "patata fresca", perché di norma è consumata subito (poiché mal si presta alla lunga conservazione in frigosoccaggio), comprende due distinti segmenti di mercato: quello della patata precoce o primaticcia, con piantamento dei tuberi-seme a partire da dicembre e raccolta dagli inizi di aprile, e quella definita autunnale o più impropriamente bisestile, con piantamento estivo dei tuberi-seme (agosto-settembre) e raccolta a partire da novembre. Proprio la extrastagionalità delle semine identifica un preciso areale geografico con bacini produttivi collocati, per motivi di natura strettamente climatica, unicamente in alcune regioni del sud-Italia

(Sicilia, Puglia, Campania, Molise e Sardegna in ordine di precocità delle raccolte). L'areale di produzione italiano per tale tipologia di prodotto è molto eterogeneo non solo per le differenze climatiche che si riscontrano, ma anche per le diverse tecniche colturali utilizzate nei singoli comprensori produttivi. In tali zone, sovente, la patata non incontra le migliori condizioni di sviluppo per la forte incidenza di stress abiotici (alte temperature, scarsità delle risorse idriche, danni da freddo, forte ventosità con elevata evapotraspirazione) che penalizzano le produzioni e le rendono aleatorie. Le cultivar utilizzate, tutte di provenienza estera (Olanda, Germania, Francia), spesso mal si adattano a tali condizioni colturali; da qui la necessità di sviluppare programmi di selezione *in loco* per costituire materiali adatti alle condizioni mediterranee in cui, tipicamente, la produzione di patata extrastagionale si realizza.

• Validazione di genotipi in fase avanzata di selezione

Il CRA-CIN ha costituito cloni in avanzata fase di selezione, valutati per l'adattabilità alle produzioni extrastagionali in prove ripetute in più ambienti. In particolare, i campi sono stati allestiti in tre regioni meridionali (Campania, Puglia e Sardegna). Il protocollo sperimentale adottato, comune nei 3 ambienti di semina, ha previsto l'allestimento di parcelle distribuite secondo uno schema sperimentale a blocchi randomizzati, con tre ripetizioni. Ogni singola parcella, della dimensione di 14 m<sup>2</sup>, era costituita da quattro file lunghe 5 m e distanti 0,75 m, con una densità di investimento pari a 5.7 piante m<sup>2</sup>. I tuberi-seme utilizzati sono stati ottenuti da moltiplicazioni eseguite in Val Pusteria (zona d'elezione per la produzione di seme di patata) e successiva conservazione in frigostoccaggio. E' stata prevista una doppia raccolta, la prima a 100 giorni dalla semina (*days after planting*, 'DAP') e la seconda a maturazione fisiologica dei tuberi, allo scopo di valutare l'attitudine dei genotipi alla produzione di patata novella. Sono stati eseguiti rilievi morfologici e produttivi. Il confronto ha riguardato nuovi cloni in selezione e cultivar commerciali.



Foto 1: Germoplasma di patata

I risultati ottenuti sono riportati nelle figure 1, 2 e 3. Ad Arborea (OR) si è distinto, in particolare, il clone 'ISCI 4052' (ora 'Rubino') che ha raggiunto una produzione commerciale di tuberi di oltre 45 t/ha. Hanno seguito 'Arinda', 'ISCI 67' (ora 'Antea'), 'MN 290' (ora 'Daytona'), 'Teodora' e 'ISCI C 60', con produzioni significativamente superiori alla media di campo (18,7 t/ha). A Scafati (SA) sono stati messi a confronto 13 genotipi, di cui 6 italiani e 7 di provenienza estera ed è stata eseguita una doppia raccolta (100 DAP e fine ciclo). Nella raccolta a 100 giorni dalla semina si sono evidenziati 'Spunta', 'Pukara', 'ISCI 4052' e 'Sybilla'; tra i cloni italiani, la selezione 'ISCI 4052' ha pienamente confermato l'attitudine a produrre patata novella (35 t/ha), la stessa nella raccolta a fine ciclo è risultata ancora la più produttiva del campo (59 t/ha). A Monopoli (BA), infine, il confronto ha interessato 10 genotipi, di cui 6 costituiti in Italia; 'ISCI 4052' ha evidenziato il miglior risultato del campo con oltre 50 t/ha.

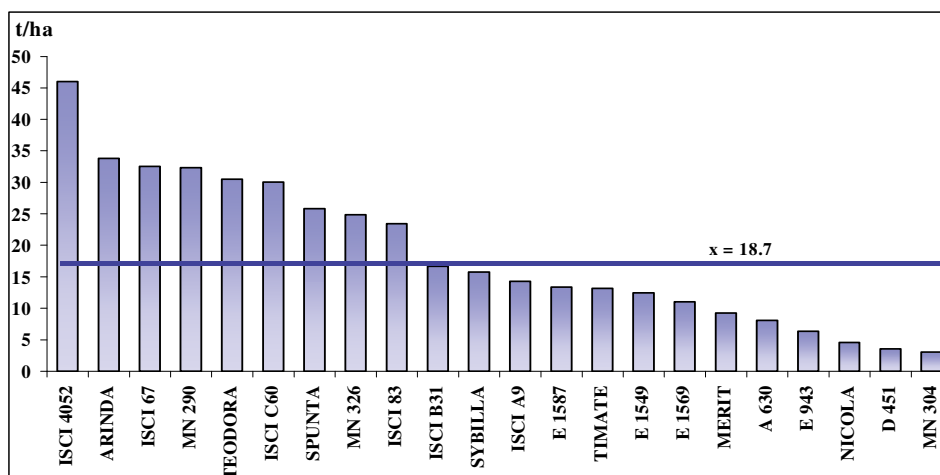


Fig. 1: Arborea (OR): Produzione commerciale, nel 2008, di alcuni cloni italiani a confronto con cv commerciali

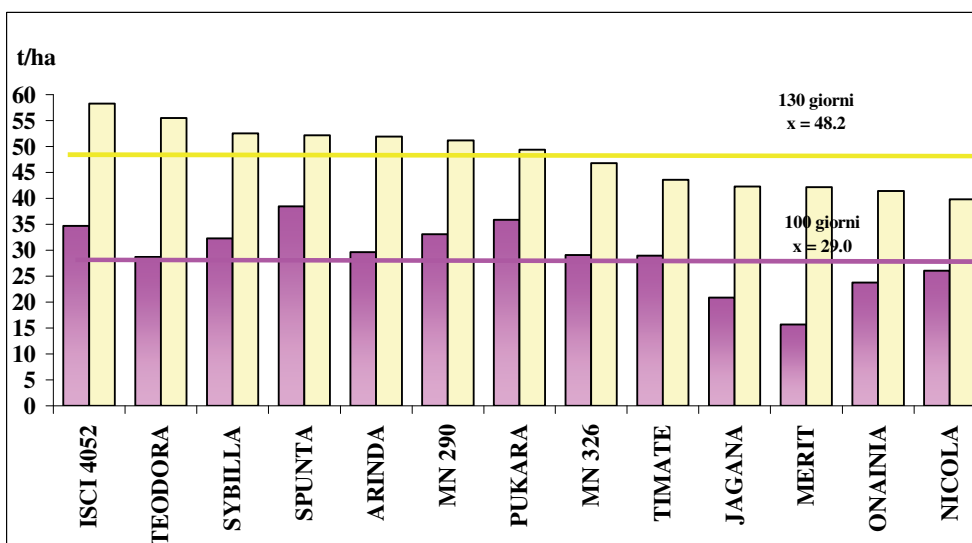


Fig. 2: Scafati (SA): Produzione commerciale, nel 2008, di alcuni cloni italiani a confronto con cv commerciali

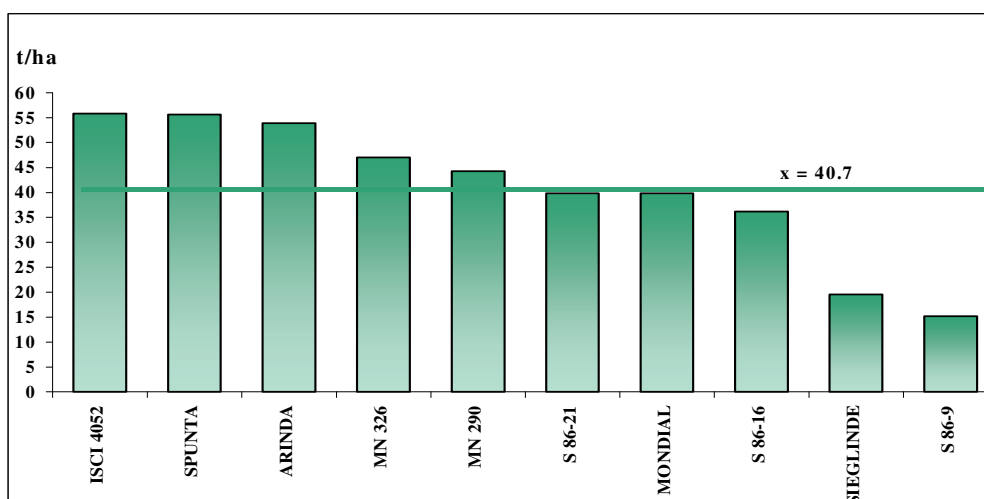


Fig. 3: Monopoli (BA): Produzione commerciale, nel 2008, di alcuni cloni italiani a confronto con cv commerciali

- Validazione agronomica di cloni con tolleranza al secco

In tabella 4 sono illustrati i risultati di una prima valutazione di nuovi cloni italiani dotati di tolleranza al secco, coltivati in condizioni di stress idrico indotto in pieno campo. Al fine di poter meglio discriminare il comportamento delle nuove selezioni sono state inserite nel confronto tre cultivar di controllo ('Désirée', 'Russet Burbank' e 'Spunta'), la seconda delle quali è notoriamente molto suscettibile a condizioni di stress da secco anche brevi e transitorie, mentre la prima e la terza sono ritenute tolleranti in studi. Da un esame attento delle evidenze sperimentali si possono fare le seguenti considerazioni:

- la cv. 'Russet Burbank', indicata in bibliografia come suscettibile allo stress da secco, si conferma tale, il suo alto contenuto di sostanza secca nei tuberi è unito alla più bassa produttività del campo proprio a dimostrazione che le prestazioni produttive non sono correlate alla sostanza secca degli organi ipogei;

- ben 16 nuovi cloni CRA-CIN, insieme a 'Spunta', mostrano un periodo di ingrossamento dei tuberi, misurato a partire dalla fenofase "differenziazione tuberi" (*tuber initiation*, TI) più breve della media di campo; ciò potrebbe essere associato alla attitudine a eludere eventuali periodi di stress idrico;

- i primi sei genotipi in ordine di produzione (5 cloni CIN e 'Spunta') assommano a tale risultato produttivo anche un breve periodo di ingrossamento dei tuberi a conferma di uno specifico adattamento fisiologico mirante a ridurre i danni potenziali da stress idrico; inoltre, gli stessi sei materiali genetici sono i migliori anche per accumulo di sostanza secca nella pianta. Ciò sembra confermare la positiva correlazione tra i parametri TDM, TBP e produzione di tuberi;



- il numero di tuberi per pianta, come è noto, non è strettamente correlato al buon esito produttivo; infatti il genotipo con il più alto numero di tuberi differenziati ('ISCI 96/10-111' con 17,9 tuberi pianta<sup>-1</sup>) ha una prestazione più bassa della stessa media di campo.

**Tab. 4: Budrio (BO), 2008. Valutazione di nuovi cloni CRA-CIN in condizioni di stress da secco indotto in pieno campo.**

Genotipo	TDM (g p <sup>-1</sup> )	Tuberi pianta <sup>-1</sup> (n°)	Produzione comm.le (t ha <sup>-1</sup> )	s.s. tuberi (%)	TBP TI <sup>-1</sup> (gg.)
Désirée	634,2 b	11,2 e	41,8 bc	22,1 ab	113 a
Russet Burbank	331,2 f	8,9 f	21,6 e	22,7 a	81 bc
Spunta	658,1 ab	13,8 c	56,8 ab	18,9 cd	78 c
ISCI 7RN/087	548,6 b	10,1 ef	38,9 c	19,1 cd	71 d
ISCI 7RN/129	658,2 ab	13,6 c	51,2 ab	19,8 bc	73 d
ISCI 7RN/157	599,4 bc	14,4 bc	45,8 b	20,1 bc	72 d
ISCI 7RN/249	589,3 c	15,9 ab	42,3 bc	21,0 b	74 cd
ISCI 7RN/308	701,1 a	15,8 ab	56,2 a	22,0 ab	78 c
ISCI 7RN/2612	631,0 b	14,4 bc	41,8 bc	20,3 bc	77 c
ISCI 96/10-14	698,3 a	12,8 cd	56,0 a	19,5 c	74 cd
ISCI 96/10-111	598,3 bc	17,9 a	36,8 cd	19,4 c	83 b
ISCI 96/13-13	600,5 bc	15,9 ab	38,1 c	18,1 de	84 b
ISCI 96/25-101	603,3 bc	16,6 ab	32,8 d	18,2 de	72 d
ISCI 96/29-5	589,6 c	14,1 bc	39,9 c	18,6 d	72 d
ISCI 96/44-125	578,3 cd	10,9 e	40,1 bc	18,0 de	86 ab
ISCI 96/51-9	651,0 ab	11,1 e	51,3 ab	17,9 e	77 c
ISCI 96/51-19	659,1 ab	12,6 cd	51,0 ab	19,0 cd	76 c
ISCI 96/55-221	578,4 cd	15,1 b	33,9 d	18,8 d	75 cd
ISCI 96/57-107	521,1 d	15,0 b	39,9 c	18,7 d	75 cd
ISCI 96/69-11	500,4 de	13,3 c	46,8 b	18,2 de	77 c
ISCI 201/94-33	487,3 e	12,2 d	47,9 b	19,3 c	72 d
ISCI 212/94-0	512,4 de	11,8 de	47,8 b	17,9 e	76 c
<b>Medie</b>	<b>584,8</b>	<b>13,5</b>	<b>44,0</b>	<b>19,4</b>	<b>78,4</b>

I valori contrassegnati dalle stesse lettere non sono statisticamente differenti per  $p \leq 0,05$  (DMR test)

I risultati delle prove di confronto in più ambienti hanno evidenziato le ottime prestazioni produttive di tre nuovi cloni ottenuti dal programma di miglioramento genetico CIN ('ISCI 4052', 'ISCI 67', 'ISCI 83'). A breve saranno avviati all'iscrizione gli altri cloni che si sono evidenziati come validi. Le acquisizioni raggiunte consentono di fare alcune considerazioni:

- i produttori di patata extrastagionale potranno contare finalmente su cultivar italiane costituite proprio per soddisfare la richiesta di nuovi materiali genetici più idonei di quelli stranieri ai comprensori di produzione del meridione;
- la validazione agronomica *in situ* dei nuovi cloni, effettuata direttamente in alcuni ambienti del Sud-Italia, ha avuto il pregio di evidenziare con immediatezza le selezioni migliori, consentendo di abbandonare prontamente quelle non meritevoli.

Il lavoro di miglioramento genetico su patata effettuato al CRA-CIN, finalizzato all'introggressione della tolleranza a stress da secco da germoplasma di origine andina, dopo una prima valutazione dei nuovi genotipi in selezione, ha già consentito di individuare alcuni cloni molto interessanti per i caratteri descritti nell'ideotipo (periodo di accrescimento dei tuberi, etc.). Alcune delle selezioni clonali valutate sembrano inoltre molto promettenti per le buone caratteristiche morfologiche dei tuberi. Saranno effettuate ulteriori valutazioni in campo, sia in ciclo precoce che autunnale, nelle principali aree produttive della patata extrastagionale del Sud-Italia; ciò consentirà di acquisire nuove informazioni utili a completare la validazione agronomica dei cloni selezionati.

### **Fagiolo**

- Obiettivi della ricerca

Lo studio proposto aveva come obiettivo una attività di valutazione varietale, da effettuarsi in regime biologico (granella fresca per l'industria della surgelazione). Si sono utilizzate alcune delle più recenti cvs nane costituite presso il CRA-CIN, a confronto con tre standard commerciali. Il protocollo operativo del confronto, ha previsto il rilievo di tutta una serie di parametri biometrici e produttivi, nonché test di idoneità alla

surgelazione sulle granelle prodotte (ad.es. tenuta delle screziature dopo *blanching*). La gestione agronomica della prova è effettuata come previsto dal Reg. UE 834/2007 (metodo di produzione biologico) in merito alla fertilizzazione, lotta alle malerbe e difesa fitosanitaria. L'individuazione di nuove cvs di fagiolo adatte alla coltivazione biologica è necessaria per poter poi trasferire al settore delle industrie del surgelato tale conoscenza allo scopo di incrementare la produzione su più vasta scala di materia prima da utilizzare in precise segmentazioni commerciali della III<sup>a</sup> gamma.

#### • Materiali e metodi

La prova di confronto varietale su fagiolo nano è stata programmata e allestita in regime di agricoltura biologica, su un terreno convertito a tale metodo produttivo come da certificazione rilasciata da apposito organismo di controllo (ICEA, Bologna).

Il terreno, nei confronti delle malerbe, è stato gestito con ripetute false semine nella stagione primaverile al fine di esaurire parzialmente la *seed-bank*. La tecnica, già ampiamente usata dall'azienda presso cui è stata allestita la prova (Azienda Sperimentale "Mario Marani", Ravenna) ha fornito ottimi risultati e il successivo controllo delle infestanti macroterme (estive) non ha creato problemi in quanto si è riusciti a gestire la fase di post-emergenza con poche sarchiature e limitati interventi manuali.

Il confronto ha previsto la semina di 36 (12 cv x 3 repliche) parcelle sperimentali di 6,4 m<sup>2</sup> ciascuna, per un totale di circa 230 m<sup>2</sup> di superficie parcellare. La semina è stata effettuata mediante seminatrice parcellare pneumatica l'1.7.2008. Il sesto di semina utilizzato è stato di 45 cm in interfila e 6 cm sulla fila, pari a una densità attesa di 37-38 piante/m<sup>2</sup>.



**Foto 2: Variabilità genetica in accessioni di fagiolo**

Sono state utilizzate 12 cvs di fagiolo borlotto nano adatte alla surgelazione industriale. Di queste 10 erano di recente costituzione:

- 8 di costituzione CRA-CIN ('Ciclope', 'Efesto', 'Fiorino', 'Gringo', 'Mirabile', 'Radames', 'Talento', 'Ulisse');
- 2 di costituzione ASGROW ('Dragone', 'Teggia').

I riferimenti commerciali utilizzati sono stati 'Taylor's' (ROYAL SLUIS) ed 'Etna' (ASGROW).

La metodologia di raccolta è stata mirata a ottimizzare la frazione cerosa e pigmentata. La situazione ottimale da riscontrare sarebbe quella di registrare una elevata percentuale di semi pigmentati allo stato ceroso a fronte, da un lato, di bassissime percentuali di semi non pigmentati ("verdi+cerosi" non pigmentati) e, dall'altro, di semi pigmentati cerosi in fase di essiccazione. Quest'ultima frazione si incrementa tanto più velocemente quanto più l'abscissione delle foglie a

maturazione procede velocemente e quindi tale caratteristica viene osservata nelle diverse condizioni di coltivazione ed entra a far parte del giudizio sulla varietà.

Durante le diverse fenofasi di sviluppo e fino alla raccolta sono stati effettuati tutti i rilievi biometrici e fitopatologici utili a caratterizzare il materiale genetico allo studio:

- |  |  |
|--|--|
| - ciclo vegetativo   | - suscettibilità alle fitopatie                                |
| - altezza della pianta   | - presenza di semi verdi, secchi, imbruniti                    |
| - altezza inserzione 1° nodo fertile                             | - lunghezza dei baccelli                                       |
| - portamento e vigoria   | - intensità e colore della screziatura dei baccelli            |
| - suscettibilità all'allettamento                                | - colore della screziatura dei semi e anticipo della comparsa  |
| - contemporaneità di maturazione baccelli/pianta                 | - forma e dimensione dei semi                                  |
| - produzione areica/ha di baccelli con semi a maturazione cerosa | - n° semi/bacello  |
|  | - persistenza delle screziature del seme dopo <i>blanching</i> |

I risultati sono riportati in tabella 5 e 6. Il campo di confronto varietale ha fornito indicazioni complessivamente interessanti. Di seguito vengono commentati i principali parametri rilevati.

#### • Risultati

##### *Ciclo di raccolta*

Le 12 varietà in prova sono giunte a maturazione nell'arco di 12 giorni, dal 29 settembre al 10 ottobre. E' stata registrata una certa variabilità nell'epoca di raccolta delle parcelle di ciascuna varietà, sia in funzione

della replica di competenza, che più in generale dell'andamento climatico. La varietà di ciclo più precoce è risultata 'Mirabile', seguita da 'Ulisse' e poi da un gruppo di 5 varietà semi-precoci: 'Taylor's', 'Dragone', 'Gringo', 'Talento' e 'Ciclope'.

'Etna' ed 'Efesto' hanno mostrato un ciclo intermedio, 'Teggia' e 'Fiorino' un ciclo medio-tardivo e infine 'Radame's un ciclo tardivo. Questa suddivisione in classi di maturità ha rispecchiato sostanzialmente i dati riscontrati in altri campi, in confronti singoli, e può assumere una certa rilevanza relativamente all'utilizzo della specie in oggetto, che per le produzioni di IIIa gamma vengono utilizzate all'interno di semine pianificate.

#### Resa

La produzione ettariale media di granella, raccolta allo stato semiceroso (50-60% di umidità), è risultata pari a 65,5 q ha<sup>-1</sup>, ben confrontabili con le rese ottenute a pieno campo nell'areale di riferimento (Romagna e Marche) in condizioni di gestione agronomica convenzionale.

L'oscillazione delle medie varietali è stata relativamente contenuta, da un minimo di 57,4 q ha<sup>-1</sup> a un massimo di 72,7 q ha<sup>-1</sup>. Relativamente alle rese la migliore *performance* è stata ottenuta da 'Fiorino' con 72,7 q seguita da 'Teggia' con 71,1 q; subito dopo si è collocata la varietà 'Etna' con 69,3 q. Quest'ultima cv era assunta come riferimento del campo in quanto rappresenta attualmente il genotipo *leader* sul mercato sementiero.

**Tabella 5 - Fagiolo borlotto nano: rilievi di produzione e merceologici effettuati nell'ambito della prova di confronto varietale svolta a Ravenna nel corso del 2008.**

Varietà	Baccelli/pianta (n.)	Peso delle valve sgusciate (q/ha)	Produzione di granella cerosa (q/ha)	Resa allo sgrano (%)	Semi verdi (%)	Semi non pigmentati (%)	Semi pigmentati (%)	Semi pigmentati sovramaturi (%)	Semi imbruniti (%)
Etna	4,9	44,1	69,3	38,9	2	10	59	29	5
Teggia	5,6	34,8	71,1	32,9	1	0	59	40	7
Dragone	4,7	54,2	68,4	44,2	8	5	68	20	1
Ulisse	4,9	36,7	64,8	36,1	0	3	60	36	4
Gringo	5,5	39,3	61,5	39,0	3	6	58	33	4
Mirabile	4,8	31,0	57,4	35,0	2	0	67	31	1
Talento	4,8	42,3	58,2	42,1	6	7	50	37	2
Fiorino	5,0	51,5	72,7	41,5	6	7	66	22	5
Radames	5,7	46,4	66,6	41,0	5	6	53	36	6
Ciclope	6,5	46,5	63,3	42,4	9	13	52	27	4
Efesto	5,5	46,6	68,5	40,5	7	8	58	27	6
Taylor's	4,7	40,4	64,2	38,6	1	8	48	43	4
Media	5,2	42,8	65,5	39,5	4	6	58	32	4

#### Concentrazione di maturazione della granella cerosa

La situazione ottimale sarebbe quella di registrare alla raccolta una elevata percentuale di semi allo stato ceroso e pigmentati a fronte di basse percentuali di semi non pigmentati (verdi + cerosi non pigmentati) e cerosi in fase di essiccazione. Quest'ultima frazione può incrementarsi più o meno velocemente a seconda che la defogliazione proceda in modo più o meno veloce.

La granella ottenuta mediamente era composta dal 10% di semi non pigmentati (verdi+non pigmentati), dal 58% di semi cerosi pigmentati e dal 32% di semi in fase di maturazione.

Di seguito vengono riportate le percentuali di semi cerosi pigmentati riscontrate per le diverse cultivar unitamente a giudizi sulla intensità delle screziature dei semi stessi e sul ritmo di defogliazione della pianta.

- 'Etna' (59%) che è dunque risultata perfettamente in media, con screziatura (rossa) medio scarsa ma defogliazione lenta;
- 'Teggia' (59%) concentrazione media, grazie ad una elevata intensità delle screziature (vinate) e a una defogliazione lenta;
- 'Dragone' (68%) con concentrazione superiore alla media, associata a una elevata intensità delle screziature (viola) ma ad una velocità di defogliazione elevata;
- 'Ulisse' (60%) con concentrazione media, elevata intensità delle screziature (rosse) ed una defogliazione normale;

- 'Gringo' (58%) con concentrazione media, intensità delle screziature (rosse) pressoché media e velocità di defogliazione normale;
- 'Mirabile' (67%) con concentrazione superiore alla media, associata a una elevata intensità delle screziature (vinate) e a una elevata velocità di defogliazione;
- 'Talento' (50%) con concentrazione inferiore alla media, associata a una intensità delle screziature (rosse) pressoché media e a una normale velocità di defogliazione;
- 'Fiorino' (68%) con concentrazione superiore alla media, associata a una buona intensità delle screziature (rosse) e a una defogliazione molto lenta, aspetto quest'ultimo di elevato interesse agronomico;
- 'Radames' (53%) con concentrazione inferiore alla media, associata a una intensità delle screziature (rosse) leggermente inferiore alla media e ad una normale velocità di defogliazione;
- 'Ciclope' (52%) con concentrazione inferiore alla media, associata a una intensità delle screziature (rosse) leggermente inferiore alla media e a una normale velocità di defogliazione;
- 'Efesto' (58%) con concentrazione media, intensità delle screziature (rosse) elevata e velocità di defogliazione elevata.
- 'Taylor's' (48%) con concentrazione inferiore alla media, associata a una intensità delle screziature (rosse) leggermente inferiore alla media e a una normale velocità di defogliazione.

### Caratteristiche della pianta

Per una disamina dei caratteri si rimanda alle descrizioni fornite in tabella 6. Qui si segnalano quelle varietà che hanno mostrato allo stesso tempo buona contemporaneità di maturazione fra le piante, buona tolleranza all'allettamento e buon portamento (fenotipo eretto). In particolare si sono distinte: 'Etna', 'Talento', 'Fiorino' e 'Taylor's' seguite da 'Dragone', 'Ciclope' ed 'Efesto'.

**Tabella 6 - Fagiolo borlotto nano: rilievi morfologici e biometrici effettuati nell'ambito della prova di confronto varietale svolta a Ravenna.**

Varietà	Pianta					Baccello						Granella					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Etna	4,0	4,3	4,2	4,5	5,0	3,7	rosso	3,8	3,0	6,7	5,0	bianco	rosso	3,0	7,0	2,0	ovale
Teggia	3,2	4,8	2,3	2,7	5,0	4,2	rosso	4,7	1,7	6,0	4,4	bianco-crema	rosso-vinato	4,3	3,0	7,0	ovale
Dragone	3,3	4,0	3,5	4,0	3,0	4,8	rosso	4,5	2,7	7,3	4,8	bianco	vinato	4,8	3,0	9,0	allungata
Ulisse	2,8	4,2	4,0	3,7	4,0	3,5	rosso	3,2	2,0	6,0	3,9	bianco	rosso	4,7	6,0	9,0	ovale
Gringo	3,2	4,7	2,7	2,7	4,0	3,7	rosso	3,5	2,7	6,7	4,7	bianco-verde	rosso	3,7	6,0	5,0	ovale
Mirabile	4,0	4,0	2,5	2,0	4,0	3,3	rosso	4,0	2,0	6,3	4,3	bianco	vinato	5,0	2,0	9,0	allungata
Talento	4,2	4,0	4,2	4,0	4,0	3,0	rosso	3,7	3,0	6,7	4,9	bianco	rosso	3,7	5,0	8,0	ovale
Fiorino	3,7	4,5	4,0	4,0	5,0	4,0	rosso	4,2	2,3	6,7	4,3	bianco-crema	rosso	3,5	7,0	4,0	ovale
Radames	3,5	5,0	3,0	3,7	5,0	3,7	rosso	4,0	2,3	6,7	5,1	bianco	rosso	3,3	10,0	1,0	ovale-allungata
Ciclope	3,0	4,2	3,7	3,5	4,0	3,3	rosso	3,3	3,0	7,3	5,0	bianco	rosso	3,2	8,0	2,0	ovale
Efesto	3,2	4,2	3,5	4,0	3,0	2,7	rosso	5,0	2,7	5,7	4,2	bianco	rosso	4,2	8,0	5,0	ovale-allungata
Taylor's	3,5	3,7	4,0	4,0	4,0	3,0	rosso	3,2	2,3	6,3	4,3	bianco-crema	rosso	3,5	10,0	2,0	ovale
Media	3,5	4,3	3,5	3,6	4,0	3,6	-	3,9	2,5	6,5	4,6	-	-	3,9	6,2	5,2	-

### LEGENDA

#### Pianta

1. Contemporaneità di maturazione (1=min; 5=max)
2. Vigoria (1=min; 5=max)
3. Tolleranza all'allettamento (1=min; 5=max)
4. Portamento (1=prostrato, 5=eretto)
5. Tolleranza alla abscissione fogliare anticipata (1=min; 5=max)

#### Baccello

6. Intensità di screziatura del baccello (1=min; 5=max)
7. Colore della screziatura
8. Dimensione della granella (1=min; 5=max)
- 9., 10., 11. Numero minimo, massimo e medio di semi/baccello

#### Granella

12. Colore di fondo
13. Colore della screziatura
14. Intensità della screziatura (1=min; 5=max)
15. Tolleranza all'inscurimento del fondo dopo cottura (1=min, 10=max)
16. Persistenza delle screziature dopo cottura (1=min; 10=max)
17. Forma

### Dimensioni della granella

Alcune varietà si sono segnalate per dimensioni della granella superiori alla media: 'Teggia', 'Dragone', 'Mirabile', 'Fiorino', 'Talento', 'Radames' e, sopra tutti, 'Efesto'.

### Forma della granella

La maggior parte delle varietà presenta forma ovoidale della granella, mentre 'Dragone' e 'Mirabile' hanno forma allungata-reniforme. 'Radames' ed 'Efesto' presentano forma intermedia (ovale-allungata).

### Intensità delle screziature

Si sono segnalate in positivo per questo carattere: 'Teggia', 'Dragone', 'Ulisse', 'Mirabile', 'Efesto', 'Talento', 'Radames'.

- Considerazioni finali

Tutti i materiali genetici in prova hanno mostrato caratteristiche pregevoli per il settore della surgelazione industriale; alcuni poi sembrano molto interessanti anche per il settore degli appetizzati in quanto durante la cottura producono liquido di governo chiaro ('Gringo'), nonché per il mercato fresco poiché alcune cv ('Radames', 'Ciclope', 'Dragone') presentano baccelli a elevata screziatura e di adeguata lunghezza.

Con riferimento al settore della surgelazione, per questa destinazione nella tipologia a granella ovoidale, con screziature rosse, si è confermata la varietà test 'Etna' mentre tra i nuovi materiali genetici in prova ha molto ben figurato 'Fiorino' che è sembrata essere competitiva col test per molteplici caratteristiche e che sembra ben prestarsi per la coltivazione biologica.

Inoltre si è segnalata 'Ulisse', per la intensità delle screziature della granella, molto persistenti anche dopo scottatura, caratteristica assai ricercata per utilizzi da surgelato.

Nella tipologia a granella allungata con screziature viola si sono invece segnalate le varietà 'Teggia', 'Dragone' e 'Mirabile'.

#### **Publicazioni:**

APPENDINO, G., GIBBONS S., GIANA A., PAGANI A., GRASSI G., STAVRI M., SMITH E. and RAHMANN M. M. 2008. *Antibacterial Cannabinoids from Cannabis sativa: A Structure-Activity Study*. J. Nat. Prod. 71; 1427-1430.

PACIFICO D., MISELLI F., CARBONI A. and MANDOLINO G. 2008. *Time course of cannabinoid accumulation and chemotype development during the growth of Cannabis sativa L.* Euphytica 160: 231-240.

RUSSO E.B., JIANG J.-E., LI X., SUTTON A., CARBONI A., DEL BIANCO F., MANDOLINO G., POTTER D.J., ZHAO Y.-X., BERA S., ZHANG Y.-B., LU E.-G., FERGUSON D.K., HUEBNER F., ZHAO L.-C., Liu C.-J., WANG Y.-F. and LI C.-S. 2008. *Phytochemical and genetic analyses of ancient cannabis from Central Asia*. J. Exp. Botany 59: 4171-4182.

## **CONSERVAZIONE, CARATTERIZZAZIONE, VALORIZZAZIONE E DOCUMENTAZIONE DELLA BIODIVERSITÀ DI RISORSE GENETICHE DI GELSO**

### **CRA-API Unità di Ricerca per l'Apicoltura e la Bachicoltura, Padova**

*Silvia Cappellozza*

L'attività svolta nel terzo anno del progetto "RGV/FAO" è stata notevolmente ridotta a causa dello slittamento della disponibilità dei fondi a fine anno, fattore problematico che non ha permesso di effettuare appieno l'attività programmata.

Si è continuato essenzialmente l'approfondimento della ricerca sui fenoli, allo scopo di differenziare la quantità estraibile dalla parte basale e apicale del germoglio, sia al fine di indirizzare una produzione industriale di gelso con scopi farmaceutici, sia al fine di capire se ci sia una relazione tra la posizione delle foglie nel ramo e l'alimentazione delle larve nelle varie età con foglie provenienti da posizioni diverse.

A tale proposito si sono prese in considerazione due varietà a maturazione diversa, 'Morettiana', leggermente più precoce, e 'Florio', leggermente più tardiva, appartenenti a *Morus alba*, e si è proceduta alla raccolta estiva e liofilizzazione.

Dalle tabelle è possibile notare che la quantità totale di fenoli contenuta in 'Florio' è maggiore di quella contenuta in 'Morettiana', fatto che riconferma la sperimentazione svolta nell'anno precedente; inoltre, la quantità di fenoli che si riscontra nella parte basale del germoglio è tendenzialmente superiore a quella che si riscontra nella parte apicale per entrambe le varietà, ma in maniera più spiccata per 'Florio'.

**Tab. 1: Raccolta foglie per fenoli delle cv 'Morettiana' e 'Florio' (inizio luglio 2008)**

Foglie gelso	Peso lordo fresco	Peso lordo
1) Florio base (FB)	276,74	104,32
2) Florio base (FB)	267,21	101,66
3) Florio apice (FA)	279,12	99,06
4) Florio apice (FA)	264,83	95,59
5) Morettiana apice (MA)	304,21	112,15
6) Morettiana apice (MA)	239,49	91,32
7) Morettiana base (MB)	260,21	98,45
8) Morettiana base (MB)	284,21	107,00



**Foto 1 : Cultivar 'Florio' (*Morus alba*) - Vegetazione primaverile.**

Purtroppo, non è stato possibile svolgere le prove con le larve di baco da seta, per constatare se a queste differenze corrispondesse una differenza di appetibilità delle foglie appartenenti alle diverse porzioni di ramo, né valutare la composizione qualitativa dei fenoli provenienti da diverse posizioni; tali prove saranno svolte nel corso del corrente anno.

**Tab. 2: Contenuto fenolico totale delle cv 'Florio' e 'Morettiana' apicale e basale**

Foglie di gelso	FENOLI TOT. mg/g di estratto	FENOLI TOT. mg/g di estratto (media dei due valori)
FA	97.95 ± 0,849	90.21 ± 8.996
FA	82.46 ± 1,520	
FB	107.22 ± 1.697	109.50 ± 6.449
FB	114.98 ± 1.294	
MA	78.91 ± 1.648	79.10 ± 0.977
MA	81.35 ± 0.077	
MB	96.44 ± 1.081	87.13 ± 10.786
MB	77.82 ± 1,133	



**Foto 2: immagine del gelseto sperimentale del CRA - Apicoltura e Bachicoltura, sede di Padova. Tunnel per anticipo produttivo**

**Pubblicazioni:**

GERMANO' M.P., D'ANGELO V., CATANIA S., MIANO T.C., PERNA V., CAPPELLOZZA L., CAPPELLOZZA S. 2008. *Proprietà antiossidanti e contenuto fenolico di estratti delle foglie di Morus alba L. e Morus bombycis Koidz. (Moraceae) sulla promozione della crescita del baco da seta.* III° Congresso Intersocietà sulle piante medicinali - Fitomed 2008, Salerno 25-27 Giugno. Poster.

GERMANO' M.P., D'ANGELO V., CATANIA S., MIANO T.C., PERNA V., FARAGO' S., CAPPELLOZZA L., CAPPELLOZZA S. 2008. *Phenolic content of different mulberry cultivars affect growth in the silkworm.* 21st International Sericultural Congress, 3-6 November, Athens, Greece

## CARATTERIZZAZIONE E RECUPERO DI DIVERSI ECOTIPI DI ORTAGGI, IN PARTICOLARE DI POMODORO E DI PEPERONCINO

### CRA-ORT, Centro di Ricerca per l'Orticoltura, Pontecagnano (SA)

Italo Giordano, Rosa Pepe, Giuseppe Rofrano, Giovanni De Vivo, Antonio Vivone, Pasquale Tedesco, Annalisa Apicella

#### Obiettivi dell'attività:

- Reperimento di accessioni di ortaggi, in particolare: pomodorini da serbo, melanzane, peperoni, peperoncini, presso agricoltori campani, in particolare delle aree interne;
- Semina, trapianto e allevamento dei tutte le accessioni indicate;
- Caratterizzazione morfo-fisiologica, produttiva e qualitativa di tutte le accessioni recuperate;
- Valutazione *ex situ*, tramite rilievi agronomici e biometrici; valutazione dei danni dovuti a fattori di natura biotica e abiotica, valutazione delle produttività, conservabilità, analisi chimiche su campioni di pomodoro.

Purtroppo, per carenza di risorse economiche, non è stato possibile fare il confronto *in situ*, né di effettuare le determinazioni chimiche; speriamo nella prossima annualità.

Nel 2008, l'attività di caratterizzazione ha riguardato i seguenti ecotipi, recuperati nel comprensorio del Parco Nazionale del Cilento nell'anno 2007:

#### Pomodoro da serbo rossi:

Piennolo Auricchio – Roccadaspide  
Rossi a punta – Auletta  
Rossi cilindrici – Auletta  
Pomodoro lampadina – Sala Consilina

#### Pomodoro da serbo gialli:

Piennolo Auletta – Auletta  
Piennolo Auricchio – Roccadaspide  
Piennolo Grippo – San Gregorio Magno

#### Pomodoro per consumo fresco:

Pomodoro insalatato – Sala Consilina  
Pomodoro Tondo – Auletta  
Scritta di Rofrano – Rofrano  
Riccia di Rofrano - Rofrano

#### Peperoncini:

Peperoncino cornetto  
Peperoncino a cuore  
Peperoncino cornetto a grappolo  
Peperoncino cornetto viola  
Peperoncino cornetto viola con fiori  
Peperoncino cornetto lungo.



Peperoncino cornetto a grappolo

Come in quasi tutti i contesti rurali, i contadini hanno preservato nel tempo questo materiale prezioso, solo per affezione e legame alla loro terra, alle tradizioni, ai sapori, senza sapere che nel tempo sono state banche vere nel conservare questi tesori. Con costanza, ogni anno, hanno scelto dal loro orto i frutti migliori, e conservato il seme investendo tempo e fatica anche se per pochi € potevano acquistare le piantine sufficienti per i loro bisogni famigliari, nei mercati domenicali.

Con il loro fare hanno di fatto messo in atto un elemento chiave della biodiversità, ossia l'agricoltore custode.

Dal canto nostro, una volta accertata l'autenticità e bontà del prodotto, abbiamo raccolto dei campioni dei prodotti. Presso il nostro Centro, abbiamo effettuato i rilievi morfo-fisiologici previsti e ne abbiamo estratto e conservato il seme per allevarlo nella stagione successiva.

In genere, gli ortaggi non hanno denominazioni specifiche, infatti i pomodori vengono contraddistinti in 3 tipologie a secondo dell'uso a cui sono destinati:

- i pomodori da serbo sia rossi sia gialli, vengono indicati come piennoli, le bacche si raccolgono a grappoli, prima della perfetta maturazione e vengono posizionate su supporti di spago o su fili di ferro a formare corone di frutti (i cosiddetti "grappoloni" o "piennoli"), del peso di 4-8 kg che si sospendono in locali

sufficientemente ventilati, in modo da consentirne la conservazione fino al periodo natalizio o, addirittura, fino alla primavera successiva, senza che si verifichi alcuna alterazione delle caratteristiche nutrizionali;

- i pomodori per il consumo fresco sono i pomodori "da insalata";
- pomodori destinati alla trasformazione sono i pomodori "per la salsa".

Per questo, la denominazione data a ogni accessione è per lo più una attribuzione nostra data in funzione del comune di provenienza, o da qualche caratteristica morfologica specifica. Di ogni accessione ne abbiamo valutato la rusticità, la resistenza agli attacchi dei patogeni e funghi e determinato alcuni parametri chimici (Tab.1). Sono in corso analisi sul contenuto di alfa-tomatina e licopene.

**Tab. 1: Alcuni parametri rilevati sulle accessioni di pomodoro**

Campione	Tesi	Residuo secco (%)	R.O. (°Brix) corr. 20 °C	PH	Acido citrico (%)	Conducibilità (mS)
1	Rossi a punta Auletta	6,30	5,7	4,44	0,81	4,41
11	Rossi cilindrici Auletta	7,93	5,4	4,46	1,67	5,44
3	Piennolo R. Auricchio	6,63	4,4	4,32	1,02	4,82
9	Sig.ra Maria (Lampadina)	8,07	6,4	4,19	1,48	5,47
7	Scritta Rofrano	7,60	4,9	4,09	1,35	5,65
6	Riccia Rofrano	7,96	6,9	4,07	1,23	6,32
2	Pomodoro Insalatario	5,67	4,7	4,45	0,95	4,29
8	Piennolo Auletta	7,52	4,4	4,21	1,44	4,47
10	Piennolo Auricchio	7,63	4,9	4,14	1,62	5,08
12	Piennolo Grippo	8,68	5,2	4,16	1,67	5,05

Nel 2008, presso l'azienda del CRA-ORT di Pontecagnano sono state allevate circa 20 piante per singola accessione, con due ripetizioni. Il materiale di partenza è rappresentato dai semi che abbiamo recuperato presso gli agricoltori. I semi sono stati conservati in congelatore, previa asciugatura all'aria e il sottovuoto. La germinabilità dei semi nel mese di aprile è stata del 100% mentre i tempi di germinazione sono maggiori confrontati con gli ibridi commerciali. La semina è stata fatta direttamente in torba, posta in contenitori di polistirolo con fiori da 90 e le pratiche colturali adottate sono state quelle tipiche della zona e della coltura.

Rispetto alle varietà commerciali hanno presentato minore esigenze irrigue e maggiore resistenza rispetto ai patogeni specifici della coltura. Durante il ciclo colturale sono stati eseguiti i rilievi relativi alle diverse fasi fenologiche, a cui sono seguiti rilievi morfologici sia sulla pianta sia sui frutti.

Per i rilievi morfologici e fisiologici abbiamo utilizzato le schede UPOV. Le analisi di laboratorio sono state effettuate presso i laboratori del Centro.

Sui pomodori, oltre ai rilievi biometrici e morfologici, abbiamo verificato la *shelf-life*: pertanto, di ogni accessione abbiamo conservato in frigo 3 kg di prodotto a una temperatura di 4 °C; 3 kg sono stati conservati all'aria in un ambiente chiuso, e 3 kg sono stati utilizzati per fare piennoli.

I piennoli gialli si conservano per circa un anno senza calo di peso evidente e conservando la loro serbevolezza, i migliori risultati è stata data dai pomodori conservati all'aria.

Nel presente progetto era anche prevista la messa in coltura di 2 tipologie di zucche, 'Teggiano' e 'Faiano'. La nostra scelta è andata a queste tipologie per un'esigenza di recupero reale, in quanto nei nostri comprensori, in passato erano molto utilizzate nell'allevamento dei maiali, dato tradizione questa che sta scomparendo, e di conseguenza anche i prodotti.

La 'Zucchetta di Teggiano' presenta peponidi di piccola pezzatura da 1 a 3 kg di peso; la buccia è di colore arancio, mentre la polpa è di un colore arancio vivo, molto compatta, lunghezza media del frutto 35 cm, forma a fiaschetto, spessore del pericarpo 3,5 cm; si conserva tal quale per più di un anno, non richiedendo nessun trattamento specifico e proprio per la peculiarità di pezzatura, viene molto apprezzata sui mercati locali.

L'ecotipo 'Zucca di Faiano', invece, è simile alla 'Zucca lunga napoletana', dalla quale si differenzia per il colore della buccia arancio chiaro, con striature leggermente più scure, spessore del pericarpo di circa 6 cm, di colore arancione, molto consistente; all'assaggio si avverte un sentore di melone, il peso si aggira sui 10-15 kg e ha una lunghezza di circa 60-70 cm; presenta una buona serbevolezza, anche se inferiore alla 'Zucca di Teggiano'.

Entrambe queste varietà locali non necessitano di particolari cure per tutto il periodo invernale e presentano una buona resistenza all'oidio.

Inoltre abbiamo messo in coltura 7 tipologie di peperoncini piccante, in quanto molti produttori di paprika dolce sono interessati alle tipologie piccanti per fare un miscuglio tra le due tipologie.





### Numero Speciale "Progetto RGV/FAO" 1-2/2009

Nel frattempo, nell'anno in corso abbiamo continuato il nostro lavoro di recupero, che ha riguardato il pomodoro, peperone, ceci, cipolla e aglio, che metteremo in allevamento nella prossima annualità del presente progetto.

Nel Centro sono in corso convenzioni con alcune Comunità Montane, le quali hanno per oggetto proprio la valorizzazione della biodiversità del loro comprensorio, in particolare:

- La Comunità Montana Vallo del Diano, con un progetto sulla valorizzazione in corso di ecotipi locali di peperone, tipo sciscillone, sciuasciamello, pupanetto, corno di capra, e diverse tipologie di fagiolo;
- La Comunità Montana Lambro e Mingardo, con il progetto di valorizzazione dell'asparago selvatico (attualmente abbiamo allestito 2 campi sperimentali di accessioni di *Asparagus acutifolius* locale).
- La Comunità Montana Tanagro, con la valorizzazione del Carciofo Bianco e vitigni autoctoni;
- La Comunità Montana Calore Salernitano: per quanto riguarda il recupero di vecchi vitigni.
- La Camera di Commercio di Salerno e Confagricoltura in riferimento alla caratterizzazione e messa in coltivazione dell'*Asparagus acutifolius* L.

#### **Conclusioni:**

Nell'ambito del presente progetto per ogni accessione abbiamo riscontrato un'enorme variabilità morfologica, per cui nell'ambito della stessa accessione, occorrerà fare un lavoro di selezione e se sono interessanti creare linee specifiche.

L'aspetto interessante di questi ecotipi è la resistenza che presentano nei riguardi della peronospora, e alle altre patologie, in quanto abbiamo ottenuti prodotto di qualità e con buone rese, mentre in zona questo anno a causa di questa patologia è stato compromesso la maggioranza del raccolto di pomodoro in pien'aria.

Gli stessi presentano una buona resistenza agli stress abiotici, e anche in presenza di eccesso di acqua i frutti presentano buona resistenza alla spaccatura. Purtroppo attualmente non abbiamo i parametri chimici e nutraceutici per valutare e confrontare le accessioni. Importante sarà verificare il contenuto di alfa-tomatina e il contenuto di licopene, zuccheri e di acidità. Attualmente possiamo dire che c'è un'alta variabilità sia nell'ambito delle singole accessioni, sia tra le accessioni, buona resistenza agli agenti biotici e abiotici, buona produttività tali da renderli idonei alla loro coltivazione.

## **REPERIMENTO, CONSERVAZIONE, CARATTERIZZAZIONE E VALORIZZAZIONE DI SPECIE ORTICOLE**

### **CRA-ORL, Unità di Ricerca per l'Orticultura, Montanaso Lombardo (LO)**

*Massimo Schiavi, Filippo Lanna, Filippo Salamone*

#### **Introduzione**

L'attività in corso prende in considerazione i seguenti obiettivi:

- reperimento e campionamento di seme rappresentativo delle accessioni nelle zone tipiche di coltivazione;
- selezione conservativa delle accessioni;
- ringiovanimento periodico delle accessioni;
- caratterizzazione morfologica e/o molecolare;
- valorizzazione attraverso prove agronomiche e qualitative;
- compilazione delle schede descrittive.

Le collezioni disponibili presso il CRA-ORL negli ultimi anni sono state notevolmente implementate sia attraverso il progetto MiPAAF "Risorse Genetiche Vegetali/ Implementazione del Trattato Internazionale FAO" sia con la realizzazione del progetto triennale MiUR-MiPAAF "Valorizzazione di Germoplasma Orticolo Italiano" concluso nel 2005. Questa attività ha permesso oltre al recupero di numerose nuove accessioni la loro caratterizzazione morfologica e molecolare e la loro valorizzazione sul territorio.

Le specie considerate sono: asparago, cipolla, fagiolo, melanzana, peperone e melone. La caratterizzazione e la valorizzazione ha riguardato in modo particolare cipolla e melone.

- 'Cipolla Rossa di Breme'

Si tratta di uno dei pochi esempi di cipolla a giorno corto autoctona dell'Italia settentrionale. Attualmente coltivata su poche migliaia di m<sup>2</sup> da parte soprattutto di agricoltori amatoriali da luogo a una sagra che si tiene annualmente nella prima settimana di giugno.

Il bulbo di forma piatta e di colore vinaceo raggiunge dimensioni ragguardevoli (400-800 g) ed è caratterizzato da bassa pungenza, caratteristica che lo rende idoneo anche al consumo crudo. La pianta è molto vigorosa, caratterizzata da foglie ricche di cera e sensibile alle principali malattie dell'apparato fogliare.

Nel 2008 con i bulbi selezionati è stato allestito un campo di produzione seme in condizioni di isolamento spaziale. Il seme prodotto sarà utilizzato nel 2009 per la caratterizzazione produttiva e biometrica.

- Cipolla 'Paglierina di Sermide'

Si tratta di una cipolla a giorno intermedio largamente coltivata sino a circa 20 anni fa e successivamente sottoposta a un rapido declino sia per la progressiva diminuzione delle superfici coltivate a cipolla sia perché soppiantata da nuovi ibridi e varietà immesse sul mercato. Attualmente è coltivata su limitate superfici e utilizzata per la produzione del "Tiroto", una gustosissima focaccia alla cipolla.

Il bulbo è di forma trottola-globosa, di colore giallo paglierino; pesa in media 150-200 g ed è caratterizzato da media pungenza.

Tra gli aspetti negativi, oltre alla disformità per i principali caratteri morfofisiologici, sono da menzionare la forte suscettibilità al marciume basale del bulbo causato da *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* e l'eccessiva dimensione dell'attaccatura delle foglie al bulbo ("bull neck") che favorisce la penetrazione di funghi (botrite) e batteri pregiudicandone la conservabilità.

Nel 2008 due popolazioni di 'Paglierina di Sermide' sono state inserite in un confronto varietale previsto in un altro progetto e valutate per produzione e caratteristiche morfologiche del bulbo (Tab. 1). Le due popolazioni sono risultate le più tardive e dotate di elevato vigore. Discreta è apparsa l'uniformità del bulbo e il grado di vestitura mentre quasi assente la presenza di bulbi doppi.

**Tab. 1: Caratteristiche della pianta e del bulbo delle due popolazioni di 'Paglierina di Sermide' e della 'Rossa di Breme' a confronto con 11 varietà di cipolla a giorno corto**

Varietà	Ciclo (gg)	Vigore P: 1-5	Uniformità Forma P: 1-5	Uniformità Pezzatura P: 1-5	Uniformità Colore P: 1-5	Vestitura P: 1-5	Bulbi doppi %	Peso Medio (g)
Ultra Express	132	3.5	4.3	3.8	4.5	4.0	17	111
Precocissima Marzatica	135	3.8	4.0	4.3	5.0	4.3	20	105
Apriliatica	142	4.0	3.5	4.5	5.0	4.0	0	152
Bianca di maggio	162	5.0	3.8	3.8	5.0	4.8	0	270
Bianca di giugno	177	4.0	3.3	3.5	3.8	3.3	7	195
Rossa di Tropea TR-1	164	4.8	4.0	3.8	4.8	3.8	0	197
Rossa di Tropea TR-2	168	4.5	4.3	4.5	4.5	4.3	0	268
Rossa di Tropea TR-3	168	4.5	3.5	4.0	5.0	3.8	0	160
Rossa di Tropea TRL	170	4.0	3.3	3.3	4.5	3.5	0	173
Rossa di Tropea TR-4	170	4.0	4.0	3.8	4.5	4.0	0	176
Rossa di Tropea TRL-1	170	4.0	4.3	4.0	4.8	4.0	0	164
Rossa di Breme BR-1	174	3.5	2.8	3.0	3.5	3.5	5	168
Paglierina interincrocio	206	4.5	3.3	3.3	4.3	3.5	0	147
Paglierina di Sermide	206	4.5	3.7	3.5	4.0	3.8	1	175

Molto elevata è risultata la produzione commerciale (Fig. 1) che è stata più che doppia della media di campo. I risultati ottenuti suggeriscono di proseguire con un ulteriore ciclo di selezione ricorrente al fine di migliorare il grado di uniformità del bulbo e ridurre la dimensione del collo che renderebbe questa cipolla più facilmente conservabile.

- 'Melone Viadanese'

È un'antica varietà che vanta una storia secolare (esistono documenti che parlano di questo melone già al tempo dei Gonzaga) di produzione legata a un territorio particolarmente vocato dal punto di vista pedologico. È stato largamente prodotto fino agli inizi degli anni '70 quando l'avvento dei primi ibridi di costituzione americana lo hanno relegato agli orti amatoriali. Dotato di pregevoli caratteristiche organolettiche presentava tuttavia difetti legati alla disformità di pezzatura, sensibilità a *Fusarium* e soprattutto tendenza alle spaccature del frutto che lo rendevano non idoneo ai trasporti e alla moderna distribuzione.

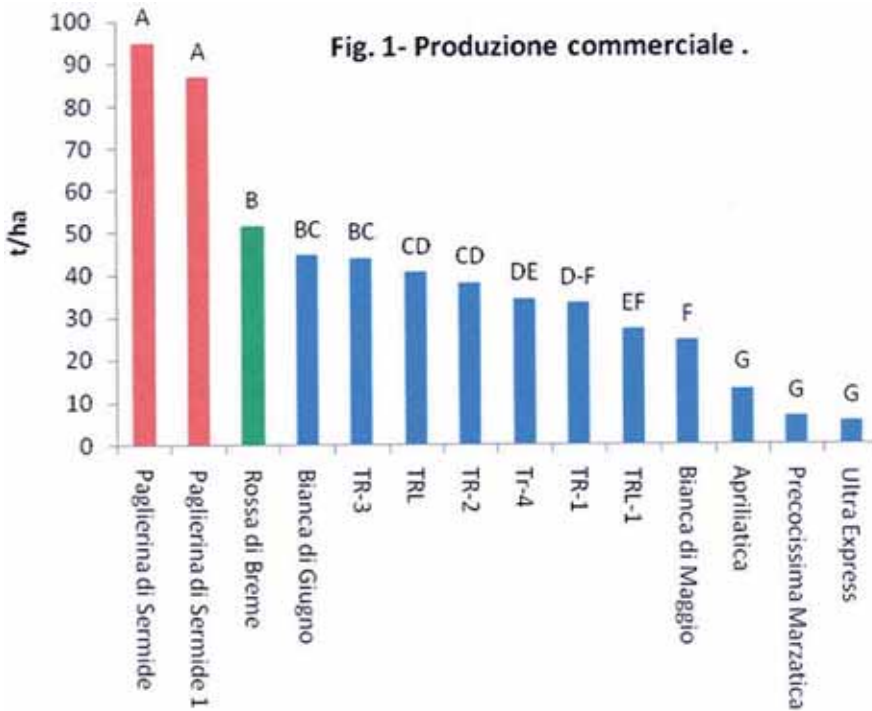
Molto difficoltoso è risultato il reperimento di seme originale di questa varietà; dopo un'accurata indagine nella zona di coltivazione e la raccolta di diversi vecchi campioni di seme risultati sfortunatamente privi di germinabilità, si è riusciti con l'aiuto dell'Amministrazione comunale di Viadana, a ottenere un lotto di circa 2 kg (~ 80.000 semi) che posto a germinare in ambiente controllato ha dato origine a n° 8 piante.

Le piante ottenute sono state coltivate in serra per la moltiplicazione del seme e parallelamente sono state eseguite le prime autofecondazioni. Col seme ottenuto è stato realizzato il primo campo di valutazione e selezione. Pur partendo da una base genetica abbastanza ristretta, notevole è risultata la variabilità

riscontrata a carico di diversi caratteri morfologici della pianta e del frutto. In particolare alcune linee presentavano buccia retata dovuta verosimilmente a contaminazioni avvenute in concomitanza di riproduzioni effettuate in presenza di altre cultivar.

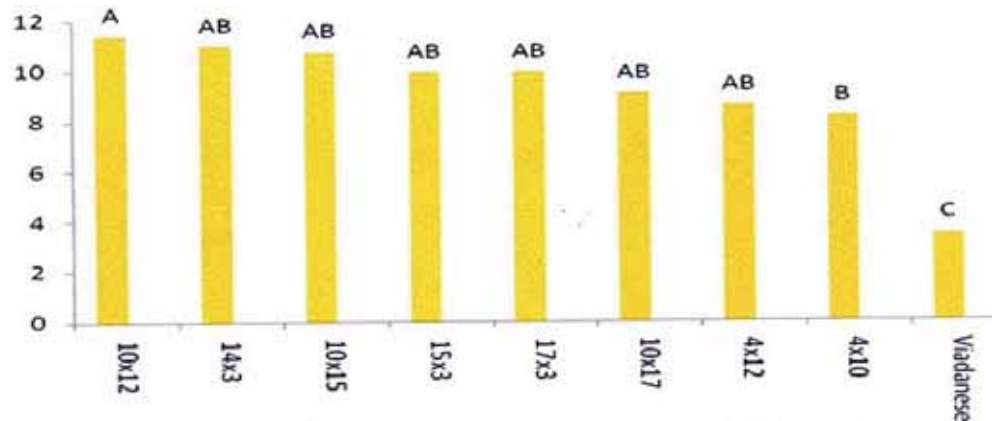
Nel 2008 otto ibridi ottenuti nel 2006 e 2007 sono stati confrontati con la popolazione originaria. La prova è stata realizzata seguendo un disegno a blocchi randomizzati con 3 ripetizioni; la parcella elementare era composta da 6 piante.

Alla raccolta sono stati rilevati il numero e il peso dei frutti per singola parcella. Inoltre per ogni singola raccolta (10 in totale) su 2 frutti per parcella sono stati rilevati:



- Indice rifratrometrico dalla polpa (° Brix);
- Diametro cavità placentare (cm);
- Spessore della polpa (cm);
- Spessore della buccia (cm);
- Colore della polpa (punteggio da 1 a 3; da 1=colore scarso a 3= colore intenso);
- Retatura della buccia (punteggio da 1 a 3; con 1= retatura assente a 3= retatura marcata).

La produzione commerciale per pianta (Fig. 2) è risultata molto elevata per tutti gli ibridi e significativamente superiore a quella fornita dalla popolazione originaria.



In Tab. 2 sono riportate le caratteristiche produttive e morfologiche rilevate alla raccolta. In particolare elevata

variabilità è stata evidenziata per il n° dei frutti con spaccature. Gli ibridi 10x12 e 15x3 sono risultati i migliori con circa 2.5 frutti spaccati/pianta rispetto ai 5.6 del Viadanese.

Riscontri positivi sono stati evidenziati per il residuo rifratrometrico per il quale 3 ibridi hanno presentato valori vicini a 13° Brix riscontrabili nei moderni ibridi commerciali.

**Tab. 2: Caratteristiche produttive e morfologiche rilevate per 8 ibridi F1 di 'Melone Viadanese' a confronto con la popolazione originale nella prova di confronto realizzata nel 2008 a Montanaso Lombardo**

Incrocio	n° frutti comm./ pianta	n° frutti spacc./ pianta	peso medio frutto (g)	° Brix	Ø cavità placenta (mm)	Spessore polpa (mm)	Spessore buccia (mm)	Colore polpa (P:1-3)	Retatura buccia (P:1-3)
Viadanese	3.5 D	5.6 AB	980	9.4	56.2	28.6	5.5	2.0	1.0
4x10	7.5 BC	5.7 AB	1080	11.0	56.7	32.6	5.0	2.4	1.1
4x12	7.2 C	6.2 A	1190	11.7	57.5	28.8	5.6	2.1	1.5
10x12	10.1 AB	2.6 C	1130	11.9	55.9	28.2	5.9	2.5	0.2
10x15	10.5 A	4.9 A-C	1020	11.9	58.3	27.6	5.2	2.4	0.9
10x17	8.2 A-C	4.0 A-C	1100	12.8	56.6	28.1	5.2	2.7	0.8
14x4	8.8 A-C	3.5 BC	1250	13.1	58.3	31.1	5.3	2.9	0.5
15x3	8.8 A-C	2.5 C	1130	11.9	61.1	26.5	5.7	2.0	0.9
17x3	9.0 A-C	3.9 A-C	1100	12.9	61.1	27.7	5.2	2.2	0.9

## VALORIZZAZIONE DELLE RISORSE GENETICHE ORTICOLE ATTRAVERSO LA LORO DIFFUSIONE IN CULTURA

**CRA – ORA, Unità di Ricerca per l'Orticoltura, Monsampolo del Tronto (AP)**

*Valentino Ferrari, Gabriele Campanelli, Nadia Ficcadenti, Enrico Piccinini, Marcello Caioni*

### Introduzione

L'obiettivo della ricerca è quello di contribuire al rilancio dell'orticoltura in aree oggi poco capaci di competere con il mercato globalizzato. La diffusione in coltura di biodiversità locali e la loro valorizzazione con interventi selettivi tesi a ridurre i difetti originari, possono costituire un efficace stimolo per produzioni di qualità, originali e tipicizzanti da trasferire in filiere corte in grado di affrontare la concorrenza della GDO.

### Pomodoro da mensa

Nell'ambito del primo progetto "RGV/FAO" (triennio 2005-2007) per il pomodoro da mensa si è provveduto a reperire germoplasma presso agricoltori soprattutto della regione Abruzzo per avviare un processo di caratterizzazione e selezione, al fine di ottenere nuove varietà a base genetica più contenuta per il conseguimento di produzioni più uniformi e omogenee per morfologia e pezzatura. Nell'ambito delle 27 accessioni reperite, tutte assimilabili alla tipologia "pera", sono state considerate meritevoli di diffusione le selezioni denominate 'Centobuchi', 'Giulianova' e 'Belisari Ernesto', di cui nel 2007 si è provveduto a effettuare una consistente moltiplicazione conservativa per ottenere cospicui lotti di seme da riconsegnare ai territori interessati a produzioni di biodiversità locali.



**Foto 1: Commercializzazione con imballaggi identificativi del prodotto**

Nell'anno 2008 attraverso l'ARSSA Abruzzo il CRA-ORA ha distribuito agli agricoltori delle province di Pescara e Teramo circa 50.000 piante afferenti alle linee 'Centobuchi', 'Giulianova' e 'Belisari Ernesto'. Questo primo intervento sul territorio ha favorito l'aggregazione degli operatori in una sorta di consorzio di tutela del pomodoro a "pera abruzzese" che ha visto il coinvolgimento del mercato ortofrutticolo di Cepagatti (PE), di 5 comuni della fascia costiera del nord e centro Abruzzo e dell'ARSSA Abruzzo che ha provveduto a

definire confezioni originali con cui identificare le produzioni e la loro provenienza. Il pomodoro abruzzese derivato da selezioni effettuate dal CRA-ORA ha ottenuto risultati commerciali altamente positivi. Sopralluoghi effettuati presso le aziende aderenti alla filiera hanno però evidenziato che alcuni allevamenti presentavano ancora un 10% di piante fuori tipo imputabili all'insufficiente grado di purezza delle linee selettive (S<sub>4</sub>) derivate dalle popolazioni di origine.

Al fine di garantire alla filiera un più sicuro successo nel 2009, nel luglio 2008 si è allestito in coltura protetta un campo di selezione e moltiplicazione della linea ritenuta fra quelle saggiate più rispondente alle esigenze di ordine agronomico e merceologico e di identificabilità della regione Abruzzo. Si è allestito in serra un allevamento di progenie S<sub>5</sub> della linea selettiva 'Giulianova' che a conclusione del ciclo (Dicembre 2008) ha consentito di individuare fenotipi molto omogenei per habitus vegetativo e per morfologia di produzione.

**TIPO: PERA GIULIANOVA (TE)**



Sviluppo: indeterminato

Vigorìa: media

Bacca:

- Forma: "a campana" con costole
- Colore immaturo: con dosse verde
- Colore maturo: rosso
- Epidermide: colorata

A conclusione del primo anno di attività è stato possibile ottenere circa 500 g di seme della linea 'Giulianova' che nel 2009 saranno destinati alla Regione Abruzzo per intensificare la coltivazione con la messa a dimora di circa 150.000 piante.

**Tab. 1: Pera Giulianova: Dati biometrici (saggio agronomico in Monsampolo del Tronto -AP)**

	Distanza (cm)	Foglie		Fiore		Antesi (gg dal trapianto) Inizio
		n°	Lungh cm	n°	diam cm	
Colletto -I palco	24.0	5.3	31.3	17.7	2.2	18.0
I-II palco	25.0	5.0	36.0	9.0	2.4	25.3
II-III palco	19.0	3.0	38.3	14.0	2.6	31.3
III-IV palco	23.0	3.0	36.0	12.0	2.3	39.3
IV-V palco	22.0	3.5	34.5	13.0		44.5

**Tab. 2: Pera Giulianova: Dati produttivi (saggio agronomico in Monsampolo del Tronto -AP)**

Palchi	Bacche			Classi di calibro (%)				
	n°	peso (g)	p. medio	47-57	57-67	67-82	82-102	> 102
I	5.7	1057.5	187.0	0.00	30.00	35.00	25.00	10.00
II	6.0	1281.7	213.6	11.54	11.54	61.54	3.85	11.54
III	4.0	857.0	214.2	0.00	20.00	50.00	30.00	0.00
IV	1.0	317.5	317.5	0.00	25.00	50.00	0.00	25.00
V	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Totali</b>	<b>16.7</b>	<b>3531.7</b>	<b>211.5</b>					

• Selezione per resistenza a patogeni

In un campo naturalmente infestato da nematodi galligeni (*Meloidogyne incognita* e *arenaria*) si è provveduto a effettuare un allevamento delle progenie S<sub>4</sub> derivate da 10 biotipi di pomodoro a pera di origine abruzzese ('Centobuchi', 'Belisari Ernesto', 'Giulianova', 'Colleranesco' selez. Spitilli, selez. De Santis, 'Loreto Aprutino', 'Sabini Dino', 'Pescara 1', 'Globoso d'Abruzzo', 'Pescara 2') per procedere alla verifica del loro grado di resistenza al parassita e alla selezione di genotipi che alla espressione di positivi caratteri legati alla produzione abbinassero anche un buon contenimento delle infestazioni radicali.

Al fine di evidenziare l'entità dell'infestazione naturale, nell'area di saggio, in periodo antecedente il trapianto, sono stati effettuati dei prelievi che, attraverso l'impiego delle normali tecniche di estrazione, hanno manifestato una presenza di larve di *Meloidogyne* spp. tale da garantire la validità della prova.



## Numero Speciale "Progetto RGV/FAO" 1-2/2009

Nel corso del ciclo vegetativo sono stati effettuati in periodi diversi, su campionamenti distruttivi, osservazioni relative allo stato sanitario degli apparati radicali allo scopo di verificare le reazioni di resistenza proprie dei tipi dichiaratamente dotati del fattore Mi. Al termine del ciclo produttivo si è proceduto all'eradicazione di tutte le piante per accertare lo stato sanitario delle radici.

La valutazione degli attacchi di nematodi è stata eseguita in base a una scala d'infestazione (proposta da Richter) variante tra zero (nessun attacco) e cinque (massimo attacco). In particolare si è considerato:

- Indice 0: galle assenti;
- Indice 1: fino a 1-2 galle per radice;
- Indice 2: tra 3 e 10 galle per radice;
- Indice 3: tra 11 e 30 galle per radice;
- Indice 4: tra 31 e 100 galle per radice;
- Indice 5: oltre 100 galle per radice.

Lo schema sperimentale adottato per la valutazione delle progenie è stato il blocco randomizzato con le seguenti caratteristiche:

- Tesi a confronto: n°10 selezioni apera più 1 testimone sensibile a Mi
- Repliche: n°4
- Parcelle per replica: n°11
- Parcella elementare: mq 40
- Sesto d'impianto: cm 50 x (cm 100 x cm 60)
- Investimento: 2,5 piante/mq
- Piante per parcella: n° 100
- Superficie per prova: mq 1720

L'esperienza ha mostrato che in tutte e 10 le popolazioni selettive l'indice di attacco è stato molto contenuto e addirittura il 30% delle piante afferenti alle tipologie 'Giulianova', 'Centobuchi', 'Loreto Aprutino' e 'Belisari Ernesto' sono risultate completamente esenti da attacchi.

I fenotipi selezionati saranno impiegati nel 2009 per la moltiplicazione delle linee di appartenenza per sviluppare ulteriori verifiche e per una seconda loro diffusione in ambienti di coltivazione infestati da nematodi galligeni.

### • Prova in biologico

#### *Valutazioni varietali*

Pomodoro da mensa a sviluppo indeterminato: 12 ibridi F<sub>1</sub> e 4 selezioni CRA-ORA (p.la elementare di 7,2 m<sup>2</sup>, 4 conocchie, 16 piante, investimento a file binate di 1,60 m tra le bine e 0,5 m X 0,6 m sulla bina pari a 2,2 piante m<sup>2</sup>).

#### *Micorrizzazione artificiale*

N° 2 selezioni CRA-ORA di 'pera d'Abruzzo' sono state sottoposte a n° 2 trattamenti: inoculato ("Micosat F" a base di funghi endomicorizzici del gen. *Glomus* di batteri della rizosfera e di funghi saprofitici) e non inoculato. La parcella elementare di 7,2 m<sup>2</sup> (12 piante su 4 conocchie) è stata ripetuta 3 volte. L'inoculazione è avvenuta in vivaio al momento della semina mescolando al terriccio il formulato commerciale in ragione di 1,5 ml/pianta.

#### *Valutazione dell'effetto della pacciamatura con mater Bi*

Sono state poste a confronto n° 2 tesi sperimentali: pacciamato e non pacciamato. La parcella elementare di 7,2 m<sup>2</sup> (12 piante su 4 conocchie) è stata ripetuta 3 volte.

#### *Qualità delle produzioni*

Sui campioni di pomodoro sono stati valutati i contenuti di: componenti volatili caratteristici, licopene, zuccheri solubili e °Brix

### **Risultati**

La resa media generale dei genotipi in prova, pari a 3.335 g/pianta corrispondenti a 73,39 t/ha, è da ritenersi buona (Tab.3). Si è distinto l'ibrido insalatario 'Kerala', 4260 g/pianta, della ditta De Ruitter che ha mostrato anche un buon livello di rusticità. Le selezioni locali del 'Pera d'Abruzzo', molto apprezzate nei mercati locali per le ottime caratteristiche organolettiche e impiegate per l'ottenimento di conserve, hanno fornito buone produzioni anche se statisticamente inferiori a quelle dei moderni ibridi. E' necessario pertanto che il mercato compensi adeguatamente questo differenziale negativo con un maggior prezzo. Da segnalare l'ottima performance dell'ibrido tondo liscio a grappolo 'Pitenza' dotato di certificazione per il biologico che ha fornito 4181 g/pianta.

Le aziende aderenti alla ricerca, Terra Nostra, Pecetti e Mecozzi hanno realizzato ottime *performance* produttive con le tipologie a Pera selezione 'Centobuchi' (3200 g/pianta presso az. Pecetti) e selez. 'Giulianova' (2691 g/pianta presso az. Terra Nostra e 4200 g/pianta presso l'azienda Mecozzi).

**Tab. 3: Risultati della prova in biologico di alcune cv di pomodoro**

Genotipi	Ditta	Resistenze dichiarate	Certif. "bio"	Tipologia	Prod. comm. (t/ha)	Scarto (t/ha)	Frutti/pianta (n°)	Peso del frutto (g)
F <sub>1</sub> Kerala	De Ruiter	ToMV; TSWV; Ff:1-5; Fol:0,1; Va; Vd; Ma; Mi; Mj	no	Insalatato	93,72 a	10,91 bc	20,00 d	212,7 b-d
F1 Pitenza	Enza Zaden	ToMV; Va; Vd; Fol:0,1	si	Tondo liscio	91,99 a	4,64 de	51,00 a	81,64 g
F1 Aurea	De Ruiter	ToMV; Va; Vd	no	Cuor di bue	87,33 ab	12,45 b	18,00 de	221,7 a-c
F1 Generoso	De Ruiter	ToMV; Ff:1-5; Fol:0,1; For; Va; Vd; Ma; Mi; Mj	no	Insalatato	81,57 a-c	2,67 de	20,00 d	183,6 cd
F1 Fado	Enza Zaden	ToMV, Ff:1-5; Va, Vd, Fol:0,1; For; Ma; Mi; Mj	si	Tondo liscio	80,71 a-c	4,53 de	30,00 c	120,8 ef
F1 Big Red	Olter		no	Tondo liscio	79,90 a-c	1,86 e	18,67 de	194,4 cd
F1 Estremo	Olter		no	Tondo liscio	79,41 a-c	5,79 c-e	26,33 c	136,0 e
F1 Ribelle	Olter		no	Ovale	77,34 a-c	6,59 Bb-e	39,33 b	87,9 fg
F1 Ingrid	De Ruiter	ToMV; TSWV; Va; Vd	no	Cuor di bue	68,57 b-d	8,53 b-d	16,67 de	187,2 cd
F1 Cuor di bue Albenga	Olter		no	Cuor di bue	66,12 b-d	8,54 b-d	15,67 d-f	191,0 cd
F1 Carson	Enza Zaden	F1; V; TMV; N; C5; Fr	si	Insalatato	64,79 cd	2,38 de	16,67 de	174,6 d
Pera Abruzzo sel. Alba Adriatica	CRA-ORA		*	Pera Abruzzo	64,63 cd	3,91 de	13,67 e-g	217,0 bc
HF1 Battito	Olter	Fol 1,2; ToMV	no	Cuor di bue	62,57 cd	22,21 a	14,67 e-g	201,1 b-d
Pera Abruzzo sel. Ruffini	CRA-ORA		*	Pera Abruzzo	61,10 cd	8,34 b-d	11,00 fg	254,9 a
Pera Abruzzo sel. Centobuchi	CRA-ORA		*	Pera Abruzzo	60,33 cd	7,35 b-e	13,67 e-g	197,8 cd
Pera Abruzzo sel. Giulianova	CRA-ORA		*	Pera Abruzzo	54,19 d	4,78 c-e	10,33 e-g	235,5 ab
<b>media</b>					<b>73,39</b>	<b>7,22</b>	<b>20,98</b>	<b>181,1</b>

\* Selezioni ottenute da popolazioni locali non ancora iscritte al Registro Nazionale delle Sementi.

A lettere diverse corrispondono valori significativamente diversi per  $P \leq 0,05$  (test di Duncan)

#### • Analisi qualitative

E' stata studiata l'influenza della coltivazione biologica e convenzionale su componenti volatili e licopene in pomodori immaturi e maturi della var. 'Giulianova'.

##### *Sostanze volatili*

Per lo studio dei componenti volatili del pomodoro sono stati presi in esame quelli responsabili dell'odore caratteristico (esanale, 2(E)-esenale e 2-isobutiltiazolo) e quelli contributori (alcoli, composti carbonilici = aldeidi + chetoni, derivati fenolici e terpeni). Nella Fig. 1 viene riportata l'influenza della coltivazione in bio e convenzionale sui componenti volatili caratteristici della var. 'Giulianova' a vari stadi di maturazione. L'analisi della figura pone in evidenza che la coltivazione bio favorisce l'incremento dell'esnale e del 2-(E)-esenale sia nei pomodori immaturi che maturi rispetto al convenzionale; mentre un andamento opposto viene osservato per il 2-isobutiltiazolo.

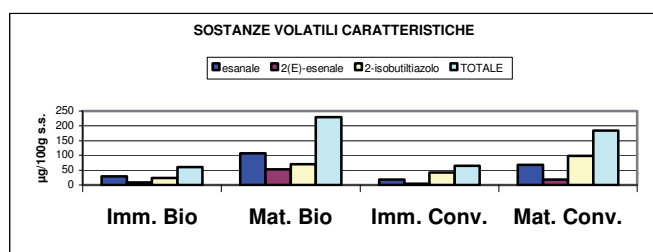
Nella Fig. 2 viene invece diagrammata l'influenza dei due tipi di coltivazione sui componenti volatili contributori nel pomodoro 'Giulianova' maturo e immaturo. Nei pomodori immaturi nessun effetto dei due tipi di coltivazione viene notato per alcoli e composti carbonilici, mentre un leggero incremento dei derivati

fenolici e dei terpeni avviene nella coltivazione convenzionale. Nei pomodori maturi osserviamo invece un aumento degli alcoli e dei derivati fenolici nella coltivazione convenzionale; mentre le concentrazioni delle altre due classi di composti sono leggermente più elevati in quella bio.

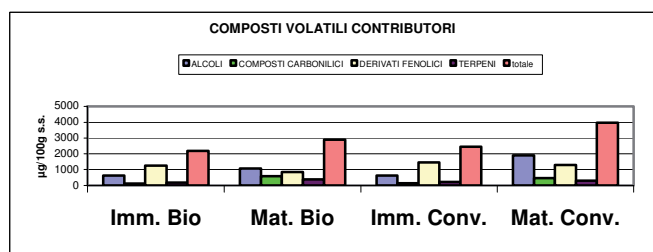
Da quanto su riportato, possiamo dedurre che la coltivazione biologica sembra aumentare l'intensità dell'odore caratteristico del pomodoro, mentre quella convenzionale l'intensità della nota contributiva.

### Licopene

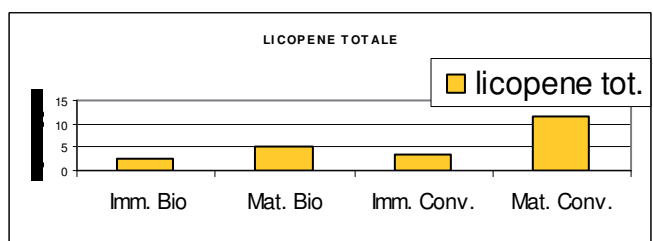
Nella fig. 3 viene riportata l'influenza dei due tipi di coltivazione sul contenuto in licopene totale. Come previsto il licopene è notevolmente più basso nei pomodori immaturi rispetto a quelli maturi per entrambe le coltivazioni. Il licopene è un composto appartenente al gruppo dei carotenoidi. Esso conferisce la colorazione rossa al pomodoro maturo ed è anche un efficace antiossidante. C'è da osservare che il licopene, nel corso della maturazione dei frutti, aumenta di circa il doppio nella selezione di Pera d'Abruzzo 'Giulianova' coltivata con la tecnica biologica e di 3.5 volte nella stessa selezione coltivata con la tecnica tecnica convenzionale.



**Fig.1** Influenza della coltivazione biologica (Bio) e convenzionale (Conv.) sui componenti volatili caratteristici sul pomodoro "Giulianova" immaturo (Imm.) e maturo (Mat.).



**Fig. 2** Influenza della coltivazione biologica (Bio) e convenzionale (Conv.) sui componenti volatili contributori sul pomodoro "Giulianova" immaturo (Imm.) e maturo (Mat.).



**Fig. 3** Influenza della coltivazione biologica (Bio) e convenzionale (Conv.) sul licopene totale nel pomodoro "Giulianova" immaturo (Imm.) e maturo (Mat.).

### Fagiolo

Le attività svolte nel 2008 hanno preso in considerazione, con il coinvolgimento diretto di operatori del comprensorio di Appignano (MC), la verifica di adattamento di un ecotipo di fagiolo di colore giallino rinvenuto dal CRA di Monsampolo in zone vicinali al medesimo Comune contraddistinto però da un habitus vegetativo molto determinato (Foto 1) e da spiccate proprietà gustative. Nella Tabella 4 sono riportate le caratteristiche biometriche di tale tipologia denominata 'Solfi'.

La sua granella (Foto 2) si contraddistingue per possedere numerosi fattori di pregio:

- epidermide molto sottile
- facilità di cottura
- buona digeribilità
- ottimo sapore

Inoltre presenta ridotte concentrazioni dei cosiddetti "fattori antinutrizionali" come lo stachioso, polisaccaride di difficile digeribilità.

Oltre all'allevamento di ampi campi destinati alla moltiplicazione conservativa finalizzata all'ottenimento di adeguate quantità di seme, presso il CRA-ORA sono stati allestiti due campi sperimentali con cui verificare l'adattamento della varietà 'Solfi' oltre che alla coltivazione in convenzionale anche in biologico. Il metodo biologico ha previsto la somministrazione di sostanza organica al terreno sotto forma di stallatico e pochi



interventi di difesa, soprattutto a base di azidaractina che è un principio attivo utile nel contenimento degli afidi e vantaggioso in quanto non danneggia quelli che possono essere gli insetti utili (coccinelle).



Foto 1: Sviluppo di una pianta del fagiolo giallo 'Solfi'



Foto 2: Dimensioni della granella del fagiolo 'Solfi'

Tab. 4: Caratteristiche biometriche del fagiolo Solfi

Altezza pianta (cm)	Altezza coltetto 1 <sup>a</sup> impalc. (cm)	Altezza inserzione 1° baccello (cm)	n° ramificazioni primarie	n° baccelli/pianta	Peso 1000 semi (g)	Prod. totale/ha (q.li)
64,1	6,7	24,1	3,8	25,7	265,4	18-30

Dalla tabella 5 è evidente che le produzioni ottenute con i due diversi metodi di coltivazione risultano molto simili, pertanto questa tipologia di fagiolo potrebbe essere ulteriormente valorizzata da un sistema produttivo a basso impatto ambientale.

Nel gennaio 2008 al Comune di Appignano di Macerata sono stati consegnati 30 kg di seme per prove di adattamento ambientale e valutazione delle caratteristiche produttive *in loco*.

I sopralluoghi effettuati hanno consentito di verificare la buona rispondenza dell'accesione alle tecniche colturali locali e un elevato indice di gradimento degustativo in occasione di una manifestazione gastronomica organizzata dall'Amministrazione Comunale di Appignano finalizzata alla promozione della biodiversità.

Ulteriori informazioni inoltre sono state fornite da uno degli agricoltori locali, il signor Ivano Mazzieri, al quale erano stati consegnati dall'Amministrazione Comunale 10 dei 30 kg resi disponibili dal CRA-ORA di Monsampolo del Tronto. Tutto il germoplasma a disposizione è stato seminato su una superficie in biologico di 1000 m<sup>2</sup>; nonostante la stagione piovosa sia stata contraddistinta da frequenti ritorni di freddo nel mese di maggio (coincidenti con la fase di allegazione) e sebbene la raccolta sia stata effettuata con una mietitrebbia da grano grossolanamente adattata, con evidente perdita di seme utile, la quantità finale disponibile è stata molto soddisfacente e pari a circa 100 kg.

Tab. 5: Parametri produttivi in fagiolo Solfi allevato con sistema convenzionale e biologico

	n° piante/m <sup>2</sup>	n° baccelli/pianta	n° semi/baccello	Produzione vendibile (g/pianta)	Resa (q.li/ ha)	Scarto (kg/ ha)	Peso 1000 semi (g)
Solfi convenzionale	38,0	8,7	2,8	5,7	21,7	35,0	236,9
Solfi biologico	31,7	10,4	3,3	8,8	27,9	29,0	255,1

## Fava

Nel 2008 il CRA-ORA ha proseguito la ricerca finalizzata al recupero di una tipologia di fava preposta alla produzione di tacconi e proveniente dal Comune di Fratte Rosa; già nel 2007 erano stati consegnati a operatori locali 5 kg di seme utile per la realizzazione di primi saggi di coltivazione negli areali d'origine.

La particolarità di questa fava è quella di produrre una farina che ben si adatta ad essere mescolata con quella più preziosa di frumento per ottenere pane e una particolare pasta alimentare chiamata "tacconi" per la forma che ricorda i tacchi di scarpa; essa produce baccelli molto corti e assurgenti che presentano al loro interno solo 3-4 grani di grosse dimensioni che si mantengono teneri e dolci anche a maturazione avanzata. I semi secchi raggiungono addirittura il peso di 3-4 grammi ciascuno.

In seguito a ripetuti cicli selettivi e a valutazioni eseguite anche in collaborazione con agricoltori e tecnici delle zone di provenienza di questa particolare accessione sono stati definiti due tipologie di piante denominate A e B:

- A, foglie tondeggianti con rapporto lunghezza/larghezza < 2;
- B, foglie ellissoidali con rapporto lunghezza/larghezza > 2.

I baccelli, inizialmente eretti, crescendo assumono posizione decombente o lievemente pendula; comunque, dalle osservazioni eseguite, non sembrano emergere sostanziali differenze produttive correlabili alla diversa tipologia delle foglie sopra descritta anche se sembrerebbe che le piante con foglioline più grosse (A) esprimano semi di peso medio superiore.

L'attività sperimentale della presente annata ha previsto l'allevamento di 8 accessioni (5 da tacconi e 3 da consumo fresco) per un totale di n° 525 piante in campo.

Nel corso della stagione sono stati eseguiti rilievi sulle diverse fasi fenologiche (emergenza, accestimento, fioritura, allegagione) oltre a regolari interventi antiparassitari finalizzati principalmente al contenimento di ruggine e afidi.

In piena fase produttiva è stata operata una valutazione e conseguente scelta dei fenotipi migliori (distinti sempre in base alla loro attitudine produttiva – tacconi e consumo fresco) al fine di ottenere progenie omogenee e superiori con le quali proseguire il lavoro di definizione dei caratteri ricercati.

Il controllo delle autofecondazioni delle singole piante è stato assicurato, relativamente ai fenotipi selezionati, da appropriati isolatori costituiti da rete in nylon a maglie fitte tali da evitare l'attività dell'entomofauna.

Di seguito si riporta l'elenco dei materiali acquisiti con stadio genetico S<sub>6</sub> da riproporre nel 2009 per la definitiva stabilizzazione dei caratteri.

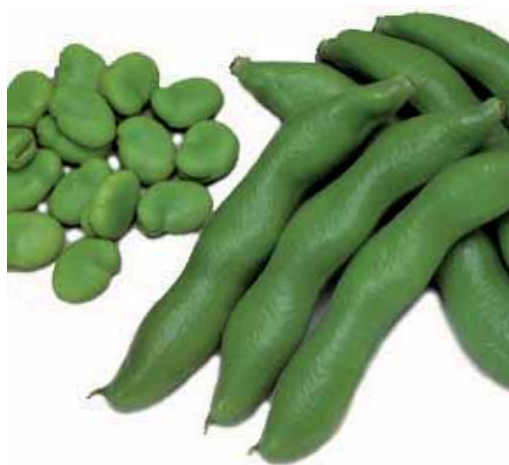


Foto 4: Baccelli e semi di fava da tacconi

Tab. 6 Elenco dei fenotipi di fave selezionati nel 2008

Parcella	Identificazione pianta	Destinazione	Produzione pianta (g)	Peso di 1 seme (g)
65	8 tipo A	<i>pastificazione</i>	240	2.7
	11 tipo A	<i>pastificazione</i>	432	2.6
66	26 tipo B	<i>pastificazione</i>	266	3.1
	30 tipo B	<i>pastificazione</i>	131	2.8
	33 tipo B	<i>pastificazione</i>	193	3.0
67	2 tipo B	<i>pastificazione</i>	273	2.8
69	9 tipo B	<i>pastificazione</i>	192	2.8
	14	<i>consumo fresco</i>	210	2.0
	22	<i>consumo fresco</i>	145	2.1
70	50	<i>consumo fresco</i>	229	2.3
	9	<i>consumo fresco</i>	157	2.4
	50	<i>consumo fresco</i>	176	1.5
71	51	<i>consumo fresco</i>	194	1.3
	69	<i>consumo fresco</i>	179	1.5
	12	<i>consumo fresco</i>	141	2.0

Nel corso del 2008 è stato inoltre allestito un campo parallelo per l'acquisizione di una cospicua quantità di seme migliorato e al termine della stagione sono stati ottenuti 30 kg di materiale S<sub>6</sub> con cui realizzare nel Comune di Fratterosa coltivazioni specializzate finalizzate ad un processo di tipizzazione delle produzioni incentrato sulla biodiversità recuperata.



Foto 5: Isolatori su fava per evitare il trasferimento incontrollato di polline da un'accessione all'altra

## RECUPERO, MANTENIMENTO E CARATTERIZZAZIONE DI SPECIE AROMATICHE E MEDICINALI

CRA-MPF Unità di Ricerca per il Monitoraggio e la Pianificazione Forestale, Villazzano (TN)

Carla Vender, Nicola Aiello, Fabrizio Scartezzi

### Introduzione

Nel 2008 l'attività relativa alle piante officinali si è incentrata sui seguenti temi:

- Mantenimento della collezione di piante officinali allevate presso la sede di Villazzano;
- Reperimento e caratterizzazione mediante i descrittori definiti nell'ambito dell'EC-PGR MAP *Working Group* (Medicinal and Aromatic Plants) di diverse popolazioni di *Gentiana lutea* dell'arco alpino;
- Collaborazione e partecipazione alle riunioni della F.I.P.P.O. (Federazione Italiana Produttori Piante Officinali), associazione che ha lo scopo di promuovere lo sviluppo del settore delle piante officinali e di ampliarne le conoscenze tecniche.

### Materiali e metodi

- Mantenimento della collezione di piante officinali

Durante il 2008 è continuata l'attività di mantenimento e di implementazione della collezione allestita presso la sede di Villazzano. Attualmente le specie allevate, fra perenni e annuali, sono circa 120. Dal 2007 è stata messa in rete la lista delle 60 specie di semi scambiabili che, a richiesta, vengono spediti gratuitamente ([www.pianteofficinali.org/main/Ricerca/isafa/Semi\\_sceambiabili.htm](http://www.pianteofficinali.org/main/Ricerca/isafa/Semi_sceambiabili.htm)).

Le richieste di seme da parte di privati cittadini durante il 2008 sono state numerose e sono state tutte soddisfatte.

- Reperimento e caratterizzazione di popolazioni di *Gentiana lutea* mediante descrittori definiti nell'ambito del MAP *Working Group*

*Gentiana lutea* è una delle 10 specie *target* identificate dal MAP WG come prioritarie. Le località visitate nel corso del 2007 erano state 14 ed erano state individuate n° 9 popolazioni localizzate di cui n° 5 in provincia di Trento (M.te Bondone, P.so Tremalzo, M.te Peller, altopiano di Brentonico, e Val San Nicolò); n° 2 in provincia di Vicenza (P.so Coe e M.ga Carriola, altopiano di Asiago) e n° 1 rispettivamente in provincia di Bolzano (M.te Roen) e di Pordenone (M.te Cavallo). In particolare in otto località è stata reperita la *G. lutea* subsp. *vardjanii* mentre a M.ga Carriola, la subsp. *symphyandra*. Nel 2008 l'attività di caratterizzazione di popolazioni di *Gentiana lutea* è partita nel mese di luglio ritornando in due delle località che l'anno precedente erano state visitate dopo il periodo della fioritura e nelle quali era stato impossibile rilevare i caratteri dei fiori (P.so Coe e M.ga Carriola). Nel mese di settembre siamo andati a reperire n° 3 popolazioni in provincia di Brescia e precisamente nei comuni di: Pisogne (M.te Guglielmo, 1668 m s.l.m); Capo di Ponte (M.ga Vericolo, 1781 m s.l.m) e Vagolino (P.so Crocedomini 1861 m s.l.m). In queste tre ultime località sono stati individuati solo pochi individui, nessuno dei quali fiorito; è stato pertanto impossibile raccogliere i semi e calcolare la produzione di semi per pianta e per capsula. Sono stati però raccolti n° 3 campioni di radici per località che sono stati analizzati per il contenuto di amarogentina. La posizione di ogni popolazione è stata monitorata con l'ausilio del GPS e sono stati inoltre rilevate le caratteristiche principali (altitudine, esposizione, tipo di vegetazione ecc.) della zona. È stato inoltre raccolto un campione di terreno da analizzare.



Foto 1: Pianta spontanea di *Gentiana lutea*



### Numero Speciale "Progetto RGV/FAO" 1-2/2009

Con il seme di *G. lutea* raccolto nel 2007 sono state ottenute delle piantine che sono state messe a dimora in un campo sperimentale situato a Garniga Terme-TN, a 810 m s.l.m. alla distanza di 30 cm, in file distanti 75 cm. Il trapianto è stato eseguito in parte in marzo e in parte in agosto, a seconda dello sviluppo raggiunto. Per ognuna delle accessioni (n° 7) di cui siamo riusciti a ottenere piante, ne sono state messe a dimora n° 30 (n° 3 file da 10 piante). Una volta che le piante avranno raggiunto uno sviluppo completo (circa 3 anni) sarà possibile confrontare meglio le loro caratteristiche fenotipiche.

- Supporto all'attività della F.I.P.P.O. (Federazione Italiana Produttori Piante Officinali)

La F.I.P.P.O. è un'associazione con una quarantina di iscritti, sparsi in tutta Italia, che si prefigge lo scopo di promuovere lo sviluppo del settore delle piante officinali e di ampliarne le conoscenze tecniche. Nel 2008 l'attività di supporto a questa associazione è consistito nella:

- partecipazione alle riunioni dell'associazione a Verona;
- pubblicazione dei n° 33-34 e 35 del Bollettino quadrimestrale da spedire ai soci;
- organizzazione del IV° Forum, incontro fra produttori e compratori, svoltosi a Verona l'8 e 9 febbraio, a cui hanno partecipato circa 80 persone fra coltivatori grandi e piccoli, rappresentanti di aziende di trasformazione, commercianti, persone interessate a iniziare una nuova attività, professori universitari ecc. provenienti da 15 Regioni.

Le relazioni tenute durante questo incontro hanno riguardato i seguenti argomenti:

- l'impiego di Agrofarmaci nella coltivazione delle Piante Officinali;
- la produzione delle sementi biologiche;
- la certificazione biologica dell'azienda;
- esperienze di coltivazione e trasformazione in Austria;
- vademecum sulla legislazione vigente nella filiera delle piante officinali).

Dal 10 al 13 di luglio la dr.ssa Carla Vender ha inoltre partecipato alla 13<sup>ma</sup> Assemblea dell'*European Herb Growers Association* (EGHA)- EUROPAM che si è svolta a Brason, Romania e a cui hanno partecipato una quarantina di persone fra delegati e persone accompagnanti provenienti da 10 paesi (Austria, Bulgaria, Danimarca, Francia, Germania, Grecia, Italia, Olanda, Romania, Svizzera (membro osservatore) e Gran Bretagna.

### **Risultati e conclusioni**

Per quanto riguarda l'attività su *G. lutea* le popolazioni alpine monitorate (anche se non in maniera completa perché mancano ancora molti rilievi sui fiori) sono salite a 12. Si conta di proseguire l'indagine nel 2009.



**Foto 2: Collezione *in vivo* di piante medicinali del CRA-MPF**

### **Pubblicazioni**

C. VENDER, N. AIELLO, S. PIOVESANA. 2009. *Survey on Yellow gentian populations of Central Alps and recording of their main morphologic and qualitative characteristics*. 4th International Symposium Breeding Research on Medicinal and Aromatic Plants (ISBMAP 2009), June 17-21 Ljubljana, Slovenia. Poster. Book of Abstracts: n. 56.

## CONSERVAZIONE E VALORIZZAZIONE DI GERMOPLASMA ORNAMENTALE

### CRA-VIV - Unità di Ricerca per il Vivaismo e la Gestione del Verde Ambientale ed Ornamentale, Pescia

Gianluca Burchi

#### Introduzione

L'Istituto Sperimentale per la Floricoltura di Sanremo, con le sedi periferiche di Pescia e Palermo, aveva avviato un'attività di conservazione di germoplasma nell'ambito del Progetto MiPAF "Risorse Genetiche Vegetali" (triennio 1999-2002). Le specie trattate furono: *Alstroemeria* L. spp., *Asparagus* L. spp., *Gypsophyla* L. spp., *Hebe*, *Veronica*, *Viburnum* L. spp., *Pyraclanta* M.J. Roem. spp., *Limonium* spp., *Lilium* L. spp., *Osteospermum* L. spp., così come riportato sul testo "Le Risorse Genetiche Vegetali presso gli I.R.S.A." Vol.II. - Erbacee. MiPAF, Roma 2001 – pag.1215-1220.

Un'attività di conservazione e valorizzazione di germoplasma relativa a *Viburnum*, *Alstroemeria*, *Hebe*, *Myrtus*, *Salvia*, *Helichrysum*, *Kalanchoe*, *Osteospermum*, *Lilium*, *Euphorbia* etc. è stata invece svolta nell'ambito del Prog. Interregionale R.G.V.-Mi.P.A.F., finanziato per un solo anno (2005-2006). Per alcune di queste specie (*Viburnum*, *Hebe* e *Passiflora* a Sanremo, *Euphorbia* a Palermo, *Limonium* a Pescia) è stata avanzata e approvata dal MiPAAF una proposta di attività per il triennio 2008-2011.

Nell'ambito del Progetto MiPAAF "RGV/Trattato Internazionale FAO", nel triennio appena trascorso (2005-2008), l'Istituto Sperimentale per la Floricoltura ha partecipato con la sola attività di conservazione e valorizzazione di diverse specie del genere *Limonium*, svolta dalla Sezione di Pescia (divenuta nel frattempo Unità di Ricerca per il Vivaismo e la Gestione del Verde Ambientale ed Ornamentale nell'ambito del CRA) in collaborazione con la Sez. M.G. di Sanremo.

Di seguito si riporta l'attività svolta nel terzo anno (2007-2008) da questa U.O. nell'ambito del Progetto MiPAAF "RGV/Trattato FAO".

#### Attività svolta e risultati ottenuti

L'attività di conservazione del genere *Limonium* iniziò in seguito al reperimento e alla successiva messa in coltivazione di diversi genotipi utilizzati in un programma di *breeding* della Sezione di Miglioramento Genetico dell'I.S.F. Sanremo nell'ambito del Progetto Finalizzato Floricoltura del Mi.P.A.F. Più di 80 diversi genotipi di *Limonium*, provenienti da tutto il mondo, furono reperiti presso Istituzioni di Ricerca e Ditte Sementiere italiane e straniere. Fu così allestita una collezione di germoplasma piuttosto ampia comprendente 21 specie botaniche e 14 varietà. Alcune di queste specie, riportate in letteratura come sinonimi ma presenti sul mercato con nomi diversi (ad es. *L. bellidifolium*, *L. otolepis* e *L. caspia*; *L. fortunei*, *L. sinensis*, *L. tetragonum* e *L. artunsi*; *L. dumosum* e *L. tataricum*) furono sottoposte ad accurati rilievi fenotipici e anche ad analisi molecolari per verificare la reale corrispondenza tra i dati dichiarati e quelli effettivi. A partire dal 2002, anche in seguito al trasferimento del responsabile dell'attività alla Sezione di Pescia, la collezione di *Limonium* fu replicata anche in questa località e ampliata con il reperimento sui litorali italiani (principalmente Sicilia e Sardegna) di diverse specie selvatiche. Nell'ambito dell'attività di questo triennio del Progetto 'RGV/FAO', nel primo anno erano stati definiti i descrittori specifici per la caratterizzazione dei genotipi della collezione (derivati fondamentalmente da quelli proposti dalla UPOV per la descrizione delle nuove varietà di *Limonium*). Nel secondo anno i suddetti descrittori erano stati rilevati su oltre 100 genotipi appartenenti a diverse specie di *Limonium*, a varietà commerciali e a ecotipi selvatici. La collezione inoltre era stata ulteriormente arricchita da un lato con il reperimento in natura di *Limonium* provenienti dall'Isola d'Elba, dall'Ungheria e dalla Danimarca, dall'altro con l'acquisto di semi di nuove accessioni (*L. minutum*, *L. bellidifolium* 'Dazzling Blue', *L. gmelinii* ssp *hungaricum*, *L. longifolium*, *L. vulgare*, *L. 'Blue Diamond'*).

L'attività svolta nel terzo anno del Progetto (2008) invece ha riguardato le seguenti tematiche:

- Ampliamento della collezione

Al fine di aggiornare la collezione, sono state effettuate nuove semine con specie botaniche acquistate presso ditte sementiere (*L. gmelinii*, *L. longifolium*, *Psylliostachys suworowii*, con 2 distinte accessioni), o reperite in natura (*L. narbonense* e *L. sinuatum* dalla Sicilia, 3 specie da determinare di provenienza greca, 2 specie da determinare provenienti dalle Puglie). Inoltre, sono stati messi in coltura 4 nuovi ibridi al fine di ottenere linee clonali da testare: due derivanti da impollinazione libera e due da progenie di *L. sinuatum* x *bonduelli*.



- Rilievi biometrici sulle nuove piante aggiunte alla collezione

Si sta procedendo alla raccolta dei rilievi biometrici. L'attività è tutt'ora in corso dal momento che molte piante, messe a dimora nel 2008, non hanno ancora raggiunto il massimo vigore vegetativo e/o la piena fioritura. Sono stati inoltre raccolti i dati biometrici (descrittori UPOV) relativi ai quattro ibridi interessati dallo *screening* con i marcatori molecolari (vedi sotto).

- Propagazione *in vitro* e semine

Sono stati portati avanti i programmi di propagazione *in vitro* degli ibridi e dei genotipi di maggior interesse commerciale (mantenimento delle colture *in vitro* già esistenti e delle nuove accessioni messe in coltura); sono state effettuate le semine di alcune nuove accessioni. Le piantine germinate sono state poste a dimora in serra; dai quattro nuovi ibridi è stato raccolto il seme ottenuto da impollinazione libera.

- Analisi molecolari (RAPDs) sul materiale in collezione

L'analisi ha interessato lo *screening* per la determinazione dei parentali di alcuni ibridi di interesse. Le specie parentali poste in esame sono state *L. gmelini*, *L. serotinum*, *L. otopetala* e *L. latifolium*. Tali specie sono state identificate come parentali putative di ibridi ottenuti a seguito di impollinazione libera, in base alle loro caratteristiche fenotipiche, o perché utilizzate in incroci interspecifici programmati. I campioni analizzati sono stati sottoposti ad amplificazione utilizzando *primer* RAPD ricavati da lavori reperiti in bibliografia. Una volta individuati i *primer* maggiormente polimorfici, sono state valutate le bande in comune fra parentali e ibridi attraverso elettroforesi in gel di agarosio. A supporto dei dati ottenuti tramite RAPD, è stata fatta una elaborazione dei dati biometrici valutando gli aspetti fenotipici delle specie parentali e degli ibridi, ed è stata inoltre effettuata, in collaborazione con il Genexpress dell'Università di Firenze, un'analisi utilizzando marcatori molecolari SSR. Le tecniche in questione sono state poi messe a confronto e sono diventate oggetto di una tesi di laurea.

- Messa a punto di tecniche di analisi molecolari più efficienti, ripetibili e maggiormente discriminanti (AFLP)

Nell'ambito del lavoro di indagine e collezione delle specie di *Limonium* presenti a Pescia, si stanno mettendo a punto tecniche di DNA *fingerprinting* utilizzando marcatori molecolari AFLP, con lo scopo di organizzare le specie in collezione in un albero filogenetico. A questo proposito sono in fase di elaborazione protocolli di restrizione/ligazione, amplificazione con *primers* AFLP (pre-amplificazione e amplificazione selettiva), corse elettroforetica su apparato verticale da sequenziamento in gel di acrilamide, colorazione con *silver staining*. Tutte le specie presenti in collezione saranno sottoposte a questo tipo di indagine.

**Pubblicazioni:**

BARTOLINI L., 2008. *Valutazione e identificazione di ibridi di Limonium spp di interesse commerciale mediante tecniche molecolari e biometriche*. Tesi di Laurea di Primo Livello. Università degli Studi di Firenze.

## CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE IN *NICOTIANA* SPP. E COSTITUZIONE DI IBRIDI ORNAMENTALI A PARTIRE DA ALCUNE *NICOTIANE*

### CRA- CAT Unità di Ricerca per le Colture alternative al Tabacco, Scafati

Ciro Sorrentino, Luisa del Piano, Massimo Abet, Maria Rosaria Sicignano, Tommaso Enotrio

Nel 2008 è proseguita l'attività di caratterizzazione per circa 200 accessioni di tabacchi allevati in campo effettuando rilievi morfologici e fotografici riferiti in particolare alle infiorescenze, al fiore, alle capsule e ai semi. Tutto ciò perché cresce l'interesse per la produzione di seme di tabacco, in quanto si sta rivalutando la possibilità di ottenere olio da semi di tabacco per destinazioni energetiche e/o industriali. Per questo scopo abbiamo effettuato un primo *screening* individuando alcune accessioni altamente produttive che potrebbero essere utilizzate in progetti di ricerca sulle bioenergie.

A tal fine, alcuni tipi di tabacco risultano più interessanti come ad es. il tipo 'Kentucky', il cui prodotto (foglia), è utilizzato per confezionare i famosi sigari toscani, prodotto tipico italiano, oggi molto richiesto. Per tali motivi, sono stati inclusi in questa analisi tutte le accessioni di tipo 'Kentucky' di recente e antica costituzione, di origine italiana e straniera.

In serra sono stati allevati gli ibridi interspecifici come piante ornamentali, per proseguire la selezione (autofecondazione, reincrocio ed androgenesi), al fine di ottenere genotipi idonei per allevamento in vaso e/o come fiori recisi.

Sono state inoltre allevate in serra alcuni gruppi di *Nicotiane* e tabacchi in quanto una parte dell'attività di ricerca è stata finalizzata al prosieguo della caratterizzazione molecolare delle specie di *Nicotiana* mediante

marcatori molecolari ISSR. Inoltre è stato intrapreso uno studio della variabilità genetica inter e intraspecifica rivelata da marcatori molecolari IRAP (Inter Retrotransposon Amplified Polymorphism) nel genere *Nicotiana*.

Sono stati condotti degli esperimenti di amplificazione utilizzando il DNA estratto da 3 specie di *Nicotiana* (*N. glauca*, *N. kawakamii* e *N. trigonopylla*) e 6 varietà di tabacco ('Samsun NN', 'Bright yellow' (T417), 'Bright PVH19', 'Bright EMH14', 'Bright FO104' e 'Bright EMH19') al fine di ottimizzare le condizioni di amplificazione per 8 primer IRAP (RTR1, RTR2 RTR7, RTR8 RTR10, LTR3, LTR5 e LTR13), ottenuti dai trasposoni Tnt1, Tnd1 e Tto1 di *N. tabacum*, precedentemente descritti in letteratura. Tali prove hanno rivelato un elevato polimorfismo tra le *Nicotiane* esaminate che presentano profili caratteristici per ciascun primer.

Successivamente il DNA genomico di 26 varietà di tabacco (9 antiche linee di tabacchi italiani, 1 linea ottenuta per androgenesi, 9 linee coltivate di tabacco tipo 'Burley' e 7 linee coltivate di tabacco tipo 'Bright') è stato estratto e amplificato utilizzando due primer IRAP (LTR3 e LTR5).

I risultati preliminari hanno evidenziato un elevato grado di similarità genetica tra le varietà di tabacco confermando quanto da noi prima ottenuto con i marcatori molecolari RAPD e ISSR.



Foto 1: Ibrido interspecifico NI 009



Foto 2: Particolare del fiore

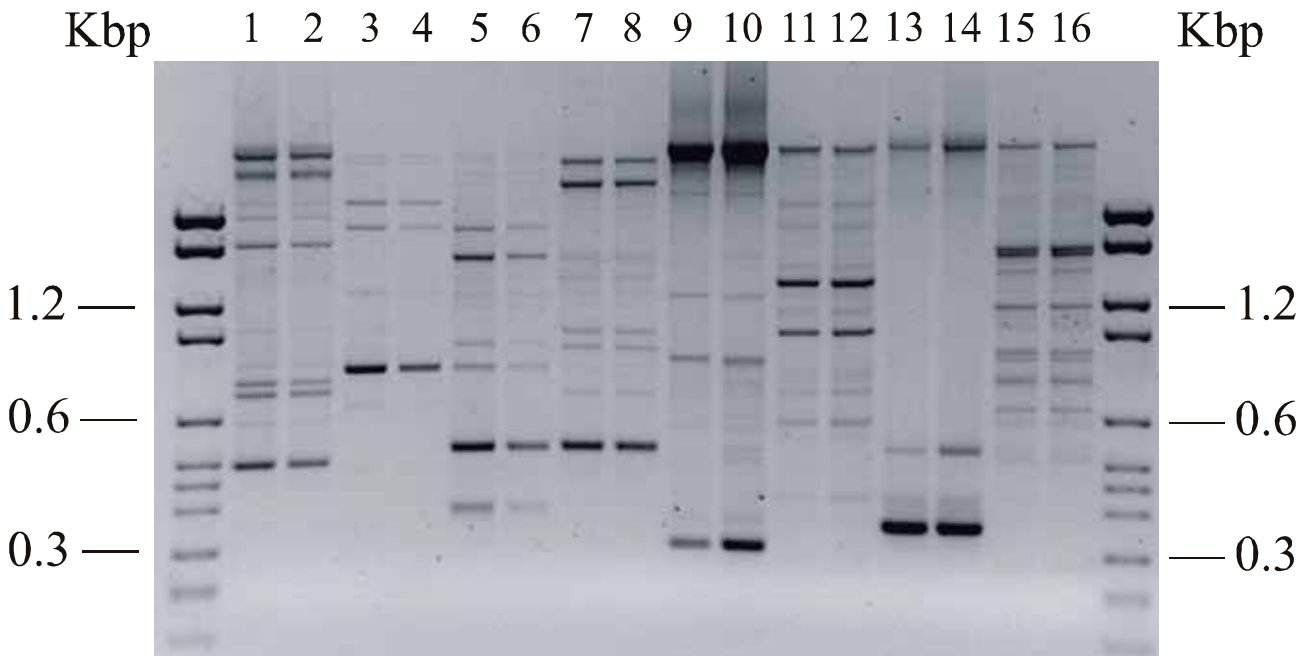


Fig. 1: Profili di amplificazione IRAP generati dal primer LTR 5 (corsie da 1 a 8) e dal primer LTR 13 (corsie da 9 a 13) con il DNA estratto da *N. glauca* (corsie 1-2 e 9-10), *N. kawakamii* (corsie 3-4 e 11-12), *N. tabacum* (corsie 5-6 e 13-14) e *N. trigonopylla* (corsie 7-8 e 15-16).

## ATTIVITÀ DI REPERIMENTO E VALORIZZAZIONE DI GERMOPLASMA FRUTTICOLO

CRA-FRU Centro di Ricerca per la Frutticoltura, Roma

Damiano Avanzato

Le accessioni introdotte nell'anno precedente sono in vaso, in attesa di trapianto. Si tratta di accessioni di noce, fico, albicocco, nettarina, susincocco e *Corylus*.

- Noce

Delle 64 accessioni, 11 hanno iniziato a fruttificare ed è questo un dato significativo dato che il noce entra in produzione dopo 3-4 anni. Il mancato trapianto ha influenzato la vitalità degli astoni, infatti 38 di essi sono morti (Nota: Il noce ha un apparato radicale che in vaso tende ad arrotolarsi con ripercussioni negative sull'efficienza idrica della pianta che può anche portare al suo deperimento). Comunque avendo fatto una duplicazione con 3-6 piante per accessione, questo ritardo non compromette il lavoro di reperimento dato che esistono almeno due piante per accessione.

Un'accessione di noce -'Shenghelia'- messa a dimora ha iniziato a fruttificare mostrando di possedere il carattere "fruttificazione laterale". L'esiguità dei frutti prodotti non ha consentito esami pomologici.

- Fico

Le 70 varietà, forme e selezioni non hanno sofferto del mancato trapianto e non si sono avute mortalità. Molte di esse hanno cominciato a fruttificare, in particolare 'Natalino', 'Cetriolo', 'Melanzana', 'Troiano', 'S. Marco 2', 'Columbro nero', 'Bianco Cilento 7', 'Calabrese nera', 'Colomba bianco', 'San Pietro', 'Cipresotto' e 'Dottato'.

- Albicocco

Prosegue l'allevamento in vaso della progenie di origine armena (60 semenzali) e iraniana (6 semenzali), tutte ancora in fase giovanile.

- Nettarina georgiana

Prosegue l'allevamento della progenie rappresentata da 23 semenzali. Nella primavera 2009 su tre semenzali è iniziata la fase riproduttiva, ma nessuna allegazione è stata osservata.

- Susincocco calabrese

L'accessione era stata originariamente moltiplicata in 10 esemplari, 4 di essi sono morti. Sebbene l'accrescimento sia normale, le piante non hanno fiorito.

- Nocciolo (*Corylus colurna*)

La progenie introdotta dal Caucaso e dai Balcani (300 semenzali) è stata sottoposta a saggi d'innesto con varietà di nocciolo senza ottenere attecchimenti. Probabilmente bisogna indagare su più epoche di innesto. Anche la risposta alla micropropagazione non è incoraggiante (vi sono difficoltà già fin dalla fase di moltiplicazione dell'espianto).

Infine, nel Centro Nazionale del Germoplasma Frutticolo, dove 3 anni fa furono introdotti dei genotipi di terebrinto portanti il carattere "monoico", su uno di essi è stato osservato -per la prima volta- un ramo portante le due infiorescenze maschili e femmine e su questa alcuni frutti sono allegati.



Foto 1: Ramo di "Shenghelia" con fruttificazione laterale



Foto 2: Ramo di terebrinto con infiorescenza maschile e femminile e frutti allegati



## CRIOCONSERVAZIONE DEI FRUTTIFERI PRESSO IL CENTRO DI RICERCA PER LA FRUTTICOLTURA DI ROMA: ATTIVITÀ 2008

CRA-FRU Centro di Ricerca per la Frutticoltura, Roma

Emilia Caboni, Andrea Frattarelli, Emiliano Condello, Maria Arias, Carmine Damiano

### Introduzione

Sono stati applicati vari metodi di crioconservazione:

- Metodo dell'incapsulazione-disidratazione: Gli espianti (apici o embrioni) sono incapsulati in alginato di sodio, disidratati osmoticamente con soluzioni concentrate di zucchero, deessicati in silica-gel in flusso d'aria fino ad un contenuto idrico del 20-30% e rapidamente immersi in azoto liquido (LN).
- Metodo della soluzione vitrificante: Gli espianti sono trattati con una soluzione crioprotettiva e immersi in azoto liquido. La soluzione vitrificante più utilizzata è la "PVS2" ("Plant vitrification Solution", costituita da 30% di glicerolo, 15% di etilen-glicole, 15% DMSO e 0.4 M di saccarosio).

Nel nostro laboratorio il metodo più correntemente utilizzato fino a ora è stato il primo, che ci ha consentito di ottenere risultati positivi in varie specie da frutto. Questo metodo, infatti, basato sulla protezione degli espianti in alginato, come sopra descritto, ne consente una migliore protezione e facilita, in alcuni casi, il superamento del trattamento di immersione in azoto liquido. Tuttavia, nell'anno 2008, oltre all'applicazione di questo metodo, ci si è orientati anche verso sistemi che si basano sull'uso della soluzione vitrificante, in quanto consentono di ridurre i tempi di manipolazione degli espianti. L'attività è stata, pertanto, anche rivolta sia all'applicazione del sistema di vitrificazione tradizionale con utilizzo della soluzione PVS2, sia all'applicazione del sistema "Droplet vitrification" in cui gli espianti sono congelati in gocce di PVS2 posizionate su strisce di alluminio. Quest'ultima tecnica è stata ottimizzata dal dr. Condello, durante una "Short Term Mission" finanziata nell'ambito del Progetto COST "Cryoplanet". Questo metodo ha il vantaggio, rispetto a quello di semplice immersione nella soluzione vitrificante, di un più rapido congelamento degli espianti, riducendo la possibilità di formazione dei cristalli d'acqua nei tessuti vegetali.

### Materiali

Colture *in vitro* utilizzate:

- Pesco (*Prunus persica* L. Batsch) cv 'Summer Grand', 'San Giorgio' e 'Babygold 6';
- Nocciolo (*Corylus avellana* L.) cv 'Tonda Romana';
- Gelso (*Morus alba* L.);
- Melo (*Malus domestica* Borkh) cv 'Pinova' e 'Jonagold'.

### Metodi

#### • Incapsulazione-disidratazione

Incapsulazione degli espianti (apici vegetativi provenienti da germogli mantenuti a 4°C per vari intervalli di tempo) in sfere di alginato di sodio; trattamento di immersione delle sfere (da 1 a 7 giorni) in terreno di coltura con alte concentrazioni di saccarosio (da 0,3M a 1,25M); disidratazione con silica gel (da 4 a 30 ore) in pesco, nocciolo e gelso.

#### • Metodo della soluzione vitrificante

Pre-condizionamento delle colture a 4°C per vari intervalli di tempo; pre-trattamento degli apici in terreno con alte concentrazioni di saccarosio (da 0,3M a 0,7M) e trattamento con PVS2 da 15 a 60 min.

#### • "Droplet vitrification"

Espianti di ambedue le cultivar di melo sono stati trattati con PVS2 da 15 a 60 min e immersi in azoto liquido in gocce di PVS2 posizionate su strisce di alluminio. Al fine di ottimizzare il protocollo, oltre alla durata del trattamento di immersione in PVS2 sono stati presi in considerazione anche altri fattori quali il tipo di espianto, il pre-trattamento a 4°C e la composizione ormonale dei terreni di crescita.

### Risultati

Gli apici vegetativi di pesco sono stati crioconservati con successo usando la tecnica dell'incapsulazione-disidratazione. I migliori risultati sono stati ottenuti con apici (3 mm) prelevati da germogli allevati *in vitro* e posti su substrati di proliferazione, precedentemente messi a punto, in capsule Petri per 24 ore e,

successivamente, immersi in un terreno liquido con macroelementi MS (MSI) senza  $\text{CaCl}_2$  arricchito di sodio alginato al 3%. Gli apici sono stati poi trasferiti in un terreno MSI addizionato con 100 mM di  $\text{CaCl}_2$  e mantenuti per 30' per formare le sfere con gli apici inclusi.

La pre-coltura degli espianti inclusi in alginato è stata effettuata con concentrazioni di saccarosio crescenti e per vari intervalli di tempo così da trovare le combinazioni migliori per la ricrescita degli apici. Il disseccamento è avvenuto in silica gel utilizzando tempi crescenti di trattamento (da 4 a 20 ore). Gli apici inclusi nelle sfere di alginato sono quindi stati trasferiti in criotubi (Nalgene) e immersi in azoto liquido.

La più elevata percentuale di sopravvivenza degli espianti di pesco è stata dell'85% con una ricrescita che varia dal 43 al 52%, in relazione alla cultivar, applicando una disidratazione di 3 giorni in 0,5M saccarosio e successivamente in gel di silice per 9 ore fino al 20,1% di acqua residua negli espianti.

Nel caso del nocciolo, i miglior risultati, sopravvivenza 53% e ricrescita del 16%, sono stati ottenuti con disidratazione di 1 giorno in 1M saccarosio e successivamente trasferimento in gel di silice per 8 ore (20,3% di acqua residua). Il protocollo necessita di una ottimizzazione per migliorare la percentuale di ricrescita degli espianti.

Nel gelso, i migliori risultati, sopravvivenza dell'80% degli espianti e ricrescita del 67%, sono stati ottenuti con disidratazione di 1 giorno in 1M saccarosio e successivamente trasferimento in gel di silice per 9 ore (20,1% di acqua residua).

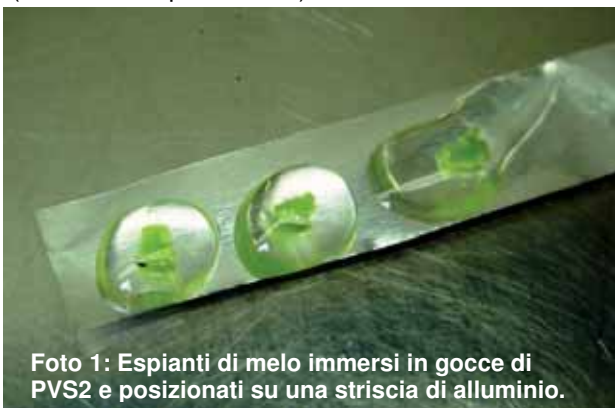


Foto 1: Espianti di melo immersi in gocce di PVS2 e posizionati su una striscia di alluminio.



Foto 2: Ricrescita di espianti di melo dopo crioconservazione in azoto liquido

Su gelso è stato anche applicato il metodo della soluzione vitrificante con una sopravvivenza dell' 80% e una ricrescita del 56% degli apici, immergendo gli apici in PVS2 per 30 minuti, risultata inferiore rispetto all'applicazione del metodo di incapsulazione-disidratazione. E' stato anche necessario un pre-condizionamento delle colture di gemogli da cui sono stati effettuati i prelievi a 4°C per 30 giorni.

L'applicazione del metodo "Droplet vitrification" in melo ha permesso di ottenere una sopravvivenza del 47% negli espianti di 'Pinova' e una ricrescita del 30%, applicando un trattamento con PVS2 di 30 min, e una sopravvivenza del 36% negli espianti di 'Jonagold' e una ricrescita del 36%, applicando un trattamento con PVS2 di 60 min. I risultati ottenuti con questo metodo sono molto interessanti in quanto sembra siano meno legati al tipo di espianto ed al genotipo utilizzato, rispetto a i protocolli basati sugli altri 2 metodi finora applicati. Il metodo è attualmente in via di applicazione anche su cultivar di pero.

E', inoltre, proseguita la raccolta del materiale per la costituzione della collezione di germoplasma di piante da frutto *in vitro*.

#### Pubblicazioni:

CABONI E., CONDELLO E., MENEGHINI M., PALOMBI M.A., FRATTARELLI A., DAMIANO C. 2008. *Progress in cryopreservation of Pyrus spp and evaluation of genetic stability of the recovered shoots*. CRYOPLANET-COST Action 871, Oulu (Finland) 20-23 febbraio 2008.

FRATTARELLI A., ARIAS M. D., DAMIANO C. 2008. *Conservazione di germoplasma di pesco con la tecnica della crioconservazione*. VI Convegno Nazionale sulla Peschicoltura Meridionale. Caserta 6-7 Marzo.

CONDELLO E., TONELLI M. G., MENEGHINI M., PALOMBI M. A., CABONI E. 2008. *Applicazione di metodi di crioconservazione a germoplasma di pero e valutazione degli effetti sulla stabilità genetica*. VIII Convegno Nazionale sulla Biodiversità. Lecce 21-23 aprile.

CONDELLO E., PALOMBI M. A., TONELLI M. G., DAMIANO C., CABONI E. *Genetic stability of wild pear (Pyrus pyraeaster Burgsd.) after cryopreservation by encapsulation dehydration*. Agricultural and Food Science, in stampa.

CONDELLO E., TONELLI M. G., MENEGHINI M., PALOMBI M. A., DAMIANO C., CABONI E. 2008. *Applicazione di metodi di crioconservazione a germoplasma di pero e valutazione degli effetti sulla stabilità genetica*. Italus Hortus, in stampa.

## FENOLI, ANTOCIANI E CAPACITÀ ANTIOSSIDANTE IN FRUTTI DI DRUPACEE

CRA-FRU Centro di Ricerca per la Frutticoltura, Roma

Anna Maria Simeone, Maria Grazia Piazza, Paolo Nota, Carlo Fideghelli

### Introduzione

Scopo del lavoro è valutare il contenuto degli antiossidanti nei frutti di pesco e nettarine, conservate presso il Centro Nazionale di Germoplasma Frutticolo di Fiorano (RM), in particolare studiare i polifenoli, gli antociani totali e la capacità antiossidante totale (CAT) e identificare le varietà che evidenzino elevate caratteristiche nutrizionali e qualitative.

### Materiali e metodi

#### • Analisi spettrofotometriche

Lo studio è stato effettuato su frutti di 32 varietà di pesco e nettarine. Sono stati prelevati i frutti in un'unica raccolta da giugno a settembre 2008; per ogni genotipo sono stati analizzati circa 30 frutti. Subito dopo la raccolta, si è proceduto alla separazione di mesocarpo ed epidermide di ogni singolo frutto e i campioni sono stati conservati a  $-80^{\circ}\text{C}$  fino alle analisi biochimiche. Le analisi biochimiche sono state effettuate sia sul mesocarpo che sull'epidermide. La ricerca delle sostanze fenoliche è stata condotta attraverso il saggio di Folin-Ciocalteu. Di ciascun campione è stata effettuata la lettura spettrofotometrica a 760 nm. Il saggio per determinare il contenuto in antociani totali è stato condotto per via spettrofotometrica misurando direttamente l'assorbanza a 520 nm. Per testare l'attività antiossidante è stato utilizzato il radicale DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) in quanto dotato di elevata reattività verso specie riducenti. La capacità antiossidante è stata misurata mediante spettrofotometro a 513 nm. La vitamina C è stata analizzata con il Titrino 785 DMP.

#### • Analisi con HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

Per la determinazione dei fenoli e degli antociani è stata utilizzata la cromatografia liquida (RP-HPLC) in fase inversa. Le analisi sono state eseguite con un cromatografo Agilent serie 1100 corredato da rilevatori UV visibile a serie di diodi. Le analisi sono state fatte su cv a polpa bianca ('Bea', 'Caldesi 2000', 'Cesarini', 'Gladys', 'Hermione', 'Honora', 'Iris Rosso', 'Isabella d'Este', 'Jone', 'Platicarpa Bianca', 'Red Haven Bianca', 'Snow Bright') e cv a polpa gialla ('Chiyumaru', 'Diamond Princess', 'Gilda Rossa', 'Jonia', 'Lolita', 'Maria Carla', 'Maebatop', 'Promesse', 'O'Henry', 'Roberta', 'Romea', 'Rome Star', 'Sun Late').

### Risultati

#### • Spettrofotometro

Considerando le varietà a polpa bianca (Tab. 1) la cv con la più elevata concentrazione di fenoli nella buccia è la pesca 'Silvette' con 392,7 mg di ac. gallico/100 g p.f. e nella polpa la nettarina 'Zephir' con 317,5 mg di ac. gallico/100 g p.f.

Per gli antociani è stata riscontrata una notevole differenza nel contenuto della buccia rispetto alla polpa; infatti, nella buccia il valore più elevato è stato riscontrato nella pesca 'White Lady' con 128,4 mg di cyanidin chloride/100 g p.f. mentre, nella polpa, il valore più elevato è stato riscontrato nella pesca 'Benedicte' con un valore pari a 7 mg di cyanidin chloride/100 g p.f.

Una notevole differenza statisticamente significativa si riscontra anche nella capacità antiossidante totale contenuta nella buccia e nella polpa delle varietà a polpa bianca con valori medi che vanno dai 60,4  $\mu\text{g}$  trolox/g p.f. della buccia ai 9,8  $\mu\text{g}$  trolox/g p.f. della polpa. Nella buccia la cv con la più elevata capacità antiossidante totale è la pesca 'Silvette' con 76,3  $\mu\text{g}$  trolox/g p.f. mentre, nella polpa, la CAT più elevata è stata riscontrata nelle cv 'Ghiaccio 3' e 'Silvette' con, rispettivamente, 13,5  $\mu\text{g}$  trolox/g p.f. e 12,7  $\mu\text{g}$  trolox/g p.f.

Considerando globalmente le cv a polpa bianca e gialla, il contenuto di fenoli totali, in queste 32 varietà, risulta più elevato nelle varietà a polpa bianca rispetto a quelle a polpa gialla; mentre non è stata riscontrata nessuna differenza statisticamente significativa tra le varietà a polpa gialla e bianca per gli antociani totali, la capacità antiossidante totale e la vitamina C. Il colore della polpa, a eccezione dei fenoli, sembra non influenzare il contenuto di degli antociani, capacità antiossidante e vitamina C.

Tab. 1 Fenoli, antociani e capacità antiossidante totale nei frutti di pesco e nettarine a polpa bianca

Cv	Fenoli (mg ac.gallico/100g pf)		Antociani (mg cloruro di cianidina/100g pf)		Capacità antiossidante ( $\mu$ g trolox/g pf)	
	buccia	polpa	buccia	polpa	buccia	polpa
Silvette (P)	<b>392,7 a</b>	227 c	12 ef	4,8 b	<b>76,3 a</b>	<b>12,7 a</b>
Zephir (N)	366,5 ab	<b>317,5 a</b>	1,5 f	1,6 e	44,7 fg	9,76 cde
Regina Bianca (P)	345,2 abc	130,5 de	52,7 d	1 fe	75,1 ab	10,2 bcd
Benedicte (P)	323,3 bcd	84,1 fg	82,8 c	<b>7 a</b>	63 cd	10,4 bc
Douceur (P)	317,3 bcd	264,5 b	1,3 f	0,4 f	51,6 ef	8,23 ghi
Snow Queen (N)	296,3 cde	84,7 fg	112,1 b	0,8 ef	66,7 abcd	10,1 bcd
Ghiaccio3 (P)	284,2 de	149,8 d	1,4 f	0,7 f	67,2 abcd	<b>13,5 a</b>
Ghiaccio1 (P)	248,1 ef	104,5 ef	1,7 f	0,6 f	69,7 abc	11,1 b
Paola Cavicchi (P)	246,9 ef	88,6 fg	73,6 c	3,8 c	37,5 g	8,27 fghi
White Lady (P)	222,7 f	79,5 fg	<b>128,4 a</b>	2,7 d	65,4 bcd	8,0 hi
Fidelia (P)	208,1 f	74,5 fg	20,7 e	3,5 dc	51 ef	7,88 h
Crizia (P)	201 fg	73,2 g	110,4 b	1 ef	61,3 cde	8,97 efgh
Yumyeyong (P)	197,4 fgh	136,7 d	4,2 f	1,6 e	66,5 abcd	9,86 cde
Ghiaccio2 (P)	153,5 ghi	80,9 fg	1,5 f	0,6 f	57,7 de	9,35 cde
Caldesi 2020 (N)	149,5 hi	81,4 fg	81,8 c	3,8 c	48 fg	9,21 defg
Stark Saturn (P)	112,3 i	72,2 g	4,3 f	0,7 f	65,9 abcd	9,3 def
<b>MEDIA</b>	<b>254,1 a</b>	<b>128,1 b</b>	<b>43,1 a</b>	<b>2,2 b</b>	<b>60,4 a</b>	<b>9,8 b</b>

Tab. 2 Fenoli, antociani e capacità antiossidante totale nei frutti di pesco e nettarine a polpa gialla

Cv	Fenoli (mg ac.gallico/100g pf)		Antociani (mg cloruro di cianidina/100g pf)		Capacità antiossidante ( $\mu$ g trolox/g pf)	
	buccia	polpa	buccia	polpa	buccia	polpa
Farlaine (N)	<b>443 a</b>	114,6 cd	4,8 f	0,8 e	<b>85,9 a</b>	<b>12,1 a</b>
Kakamas (P)	<b>417,4 a</b>	<b>243,2 a</b>	1,2 f	0,5 e	65,2 cde	<b>13,3 a</b>
Villa Ada (P)	331,7 b	133,1 c	1,3 f	0,6 e	77,6 ab	<b>12,7 a</b>
Red Top (P)	304,5 bc	84,3 ef	33,1 e	3,7 cd	51,5 fgh	7,83 ef
Symphonie (P)	289,3 cd	83,2 efg	107,9 c	0,9 e	64,1 cde	9,32 bcd
Maria Dorata (N)	267,2 cd	166,3 b	1,5 f	0,7 e	44,6 gh	9,76 bc
Glohaven (P)	265,4 cde	67,9 fg	104,2 c	0,8 e	76,9 ab	9,26 bcd
Gilda Rossa (P)	248,6 de	79,7 efg	<b>170,7 a</b>	<b>7,3 a</b>	67,7 bcd	9,1 cde
Baby Gold 9 (P)	224,3 ef	81,3 efg	2,8 f	0,8 e	71,7 bc	7,63 f
Orion (N)	204,5 fg	85,1 ef	119 c	0,9 e	68,4 bcd	9,48 bcd
Carson (P)	186,9 fgh	79,8 efg	3,2 f	0,5 e	71,6 bc	9,93 bc
Big Top (N)	166 ghi	80,4 efg	142,4 b	4,1 c	53,8 efgh	8,25 def
Cresthaven (P)	150,1 hi	79,3 efg	9,6 f	3,1 d	54,8 efg	9,28 bcd
Sunlate (P)	136,8 i	68 fg	70,6 d	3,1 cd	16,7 i	5,51 g
Eolia (P)	133 i	96,3 de	2 f	0,9 e	42,4 h	10,5 b
Royal Gem (P)	126,4 i	61,3 g	143,2 b	5,3 b	57,8 def	9,29 bcd
<b>MEDIA</b>	<b>243,4 a</b>	<b>100,2 b</b>	<b>57,3 a</b>	<b>2,1 b</b>	<b>60,7 a</b>	<b>9,6 b</b>

Tab. 3 Confronto tra cultivar a polpa bianca e gialla relativamente al contenuto di fenoli totali, antociani totali, capacità antiossidante totale e vitamina C

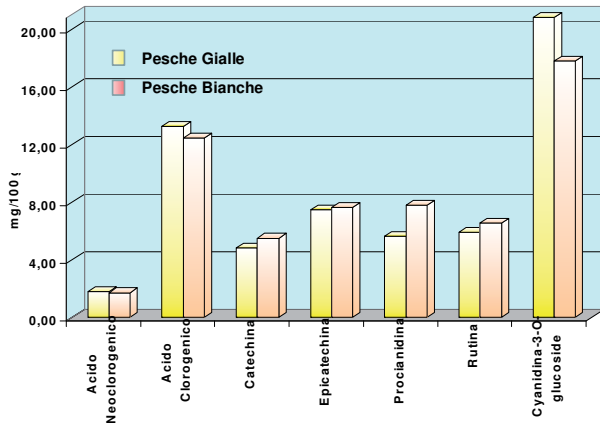
Componente antiossidante	cv polpa bianca	cv polpa gialla
Fenoli (mg ac.gallico/100g pf)	191,1 a	171,8 b
Antociani (mg cyanidin chloride/100g pf)	22,6 a	29,7 a
Capacità antiossidante ( $\mu$ g trolox/g pf)	35,1 a	35,1 a
Vitamina C (mg/L)	7,2 a	6,6 a

- HPLC

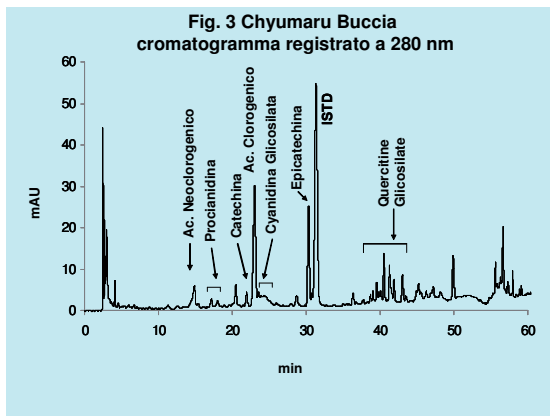
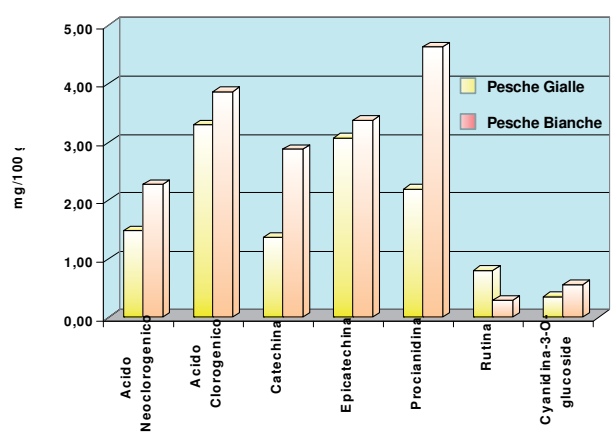
L'analisi HPLC, in generale, nelle bucce mostra un contenuto più elevato di cianidina seguito dall'acido clorogenico mentre gli altri composti sono presenti in quantità minore. In particolare, si osservano differenze tra le cv a polpa bianca e le cv a polpa gialla per il contenuto di procianidine che risulta superiore nelle cv a polpa bianca mentre la quantità di cianidine è più elevata nelle cv a polpa gialla (Fig. 1). Per l'analisi della polpa si ha differenziazione delle cv a polpa bianca e cv a polpa gialla,

presentando il primo gruppo un contenuto maggiore per tutti i polifenoli identificati rispetto al secondo gruppo (Fig. 2). La procianidina (4,6 mg/100g) ha il contenuto più elevato, seguito dall'acido clorogenico (3,9 mg/100g). La cianidina e la rutina hanno una concentrazione più bassa. Nella polpa, in generale, il contenuto dei composti fenolici si trova in quantità minore rispetto alla buccia.

**Fig.1 Contenuto dei polifenoli nella buccia delle pesche**



**Fig.2 Contenuto dei polifenoli nella polpa delle pesche**



La Fig. 3 mostra la buccia della cv 'Chyumaru' con i singoli composti fenolici evidenziati.

**Publicazioni:**

SIMEONE A.M., PIAZZA M.G., FIDEGHELLI C. 2008. *Phenolic compounds and antioxidant activity in fruits of peach and nectarine*. First Symposium on Horticulture in Europe. ISHS, Vienna 17-20 febbraio.

SIMEONE A.M., PIAZZA M.G., NOTA P., FIDEGHELLI C. 2008. *Variazioni dei composti nutraceutici e capacità antiossidanti del germoplasma di pesco*. Atti IV Convegno sulla Peschicoltura Meridionale. Caserta 6-7 marzo. In stampa.

SIMEONE A.M., PIAZZA M.G., FIDEGHELLI C. 2009. *Phenolic compounds and antioxidant activity in fruits of peach and nectarine*. VII International Peach Symposium. Leida, 8-11 giugno.

## CARATTERIZZAZIONE VARIETALE MEDIANTE MARCATORI MOLECOLARI

### CRA-FRU Centro di Ricerca per la Frutticoltura, Roma

Roberta Quarta, Jessica Giovinazzi, Maria Teresa Dettori, Elisa Vendramin, Sabrina Micali, Ignazio Verde

#### Introduzione

L'attività del gruppo di Biologia Molecolare nell'ambito del progetto è da intendersi come supporto a quella dell'U.O. CRA-FRU e consiste nell'utilizzo di marcatori molecolari per effettuare riconoscimenti varietali al fine di monitorare e conservare il germoplasma frutticolo presente nelle collezioni e di garantire la salvaguardia della biodiversità.

Negli ultimi 15 anni si è delineata l'esigenza, da parte delle principali Istituzioni europee come ECPGR (European Cooperative Programme for Plant Genetic Resources) e UPOV (International Union for the Protection of new Varieties) di affiancare ai descrittori morfologici, agronomici e chimici delle risorse genetiche esistenti, anche i descrittori molecolari.

L'attuale impegno è quello di costituire, per ciascuna specie, database in cui sia possibile accedere a tutte le informazioni morfo-agronomiche e fisiologiche relative a ciascuna accessione e per ciascuna accessione fornire un profilo molecolare che la caratterizzi.

L'attività svolta nel 2008 riguarda le accessioni appartenenti alla specie *Prunus persica* L. Batsch.

L'utilizzo di marcatori molecolari microsatelliti, oggi numerosi e di facile reperibilità, ha consentito di ottimizzare le tecniche per la caratterizzazione genetica inter ed intraspecifica.

#### Materiali e Metodi

Da apici fogliari di 118 cv di *Prunus persica*, di 2 accessioni di *Prunus davidiana* (n6 e n8), di 1 accessione di *Prunus ferganensis* e di 1 accessione di *Prunus kansuensis* è stato estratto il DNA mediante DNeasy Plant Minikit (Qiagen). I 122 genotipi sono stati sottoposti ad analisi utilizzando 8 marcatori microsatelliti.

Nella Tabella 1 sono riportate le 8 coppie di *primer* utilizzate per l'analisi dei singoli genotipi. I microsatelliti sono stati scelti in modo da rappresentare tutti gli 8 gruppi di associazione del genere *Prunus* e sulla base del loro potere discriminante. Tutti i microsatelliti scelti sono a *locus* singolo.

Tabella 1

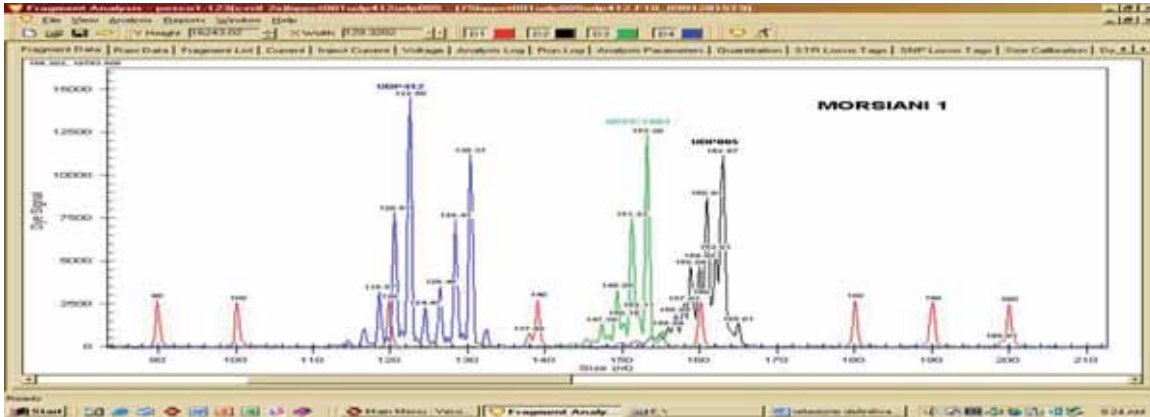
Primer	Specie e cultivar da cui i primer sono stati sviluppati	Gruppo di associazione	T° ann. (°C)	References
UDP98-022	<i>P. persica</i> 'Redhaven'	1	57	Testolin et al (2000) Genome 43: 512-520
UDP98-409	<i>P. persica</i> 'Redhaven'	8	57	Cipriani et al (1999) TAG 99: 65-72
CPDCT045	<i>P. dulcis</i> 'Texas'	4	62	Mnejja et al (2005) MEN 5: 531-535
CPPCT022	<i>P. persica</i> 'Merryl O'Henry'	7	50	Aranzana et al (2002) Plant Breeding 121: 184
BPPCT001	<i>P. persica</i> 'Merryl O'Henry'	2	57	Dirlewanger et al (2002) TAG 105: 127-138
BPPCT007	<i>P. persica</i> 'Merryl O'Henry'	3	57	Dirlewanger et al (2002) TAG 105: 127-138
BPPCT025	<i>P. persica</i> 'Merryl O'Henry'	6	57	Dirlewanger et al (2002) TAG 105: 127-138
BPPCT038	<i>P. persica</i> 'Merryl O'Henry'	5	57	Dirlewanger et al (2002) TAG 105: 127-138

Le amplificazioni sono state effettuate secondo le seguenti condizioni: 94°C 5min, 10 cicli a 94°C 30sec, temp. anneal.+5°C (primer-specifica) 45sec e 72°C 1 min, decrementando la temperatura di *annealing* (T° ann.) di 0,5°C a ciclo, 25 cicli a T° ann. fissa (primer-specifica) e infine 72°C 30 min. Gli amplificati sono stati separati mediante corsa elettroforetica capillare con sequenziatore CEQ8000 DNA Analysis System. Le matrici ottenute dalle letture degli elettroferogrammi sono state elaborate mediante il software GenALEx6.1 e il programma NTSYSp2.1 utilizzando l'indice di Jaccard e il metodo UPGMA.

**Risultati**

Le analisi sono state condotte su 118 varietà di *P. persica* (68 pesche, 45 nettarine e 5 percoche) e 4 accessioni appartenenti alle specie *Prunus davidiana* (2), *Prunus kansuensis* (1), *Prunus ferganensis* (1). Dalle letture degli elettroferogrammi (esempio in fig.1) si e' osservato che le 8 coppie di primer, utilizzate per l'analisi dei singoli genotipi, hanno prodotto un totale di 74 alleli di cui 21 sono alleli unici in grado di discriminare altrettante accessioni (Tab.2).

**Fig 1**



**Tabella 2**

In particolare, le 3 specie *P. davidiana*, *P. kansuensis* e *P. ferganensis*, benché rappresentate in tutto da solo 4 accessioni, hanno mostrato 33 alleli, in media 4.125 per locus. Di

SSR	Alleli totali	N° max. di alleli per accessione	N° alleli unici (caratterizzanti singola accessione)	N°max accessioni con stesso allele
UDP022	7	2	2	95 (77.9%)
UDP409	10	2	3	114 (92.6%)
CPDCT045	5	2	0	86 (69.9%)
CPPCT022	11	2	2	64 (52.0%)
BPPCT001	11	2	2	81 (65.8%)
BPPCT007	9	2	3	89 (72.3%)
BPPCT025	14	2	7	94 (76.4%)
BPPCT038	7	2	2	91 (74.0%)
<b>TOTALE</b>	<b>74</b>		<b>21</b>	

questi ben 22 (66.67%) sono alleli identificativi di queste specie, cioè assenti in *P. persica* (Tab.3). In particolare gli alleli unici appartengono per la maggior parte a *P. davidiana* e in minor numero a *P. kansuensis*, mentre l'accessione di *P. ferganensis* analizzata, omozigote a tutti i loci, mostra tutti gli alleli in comune con *P. persica* a eccezione dell'allele 155-UDP409, che è pertanto identificativo della specie.

*P. persica* ha mostrato un totale di 52 alleli, di cui 41 identificativi della specie e 11 in comune con le altre 3 specie analizzate. E' interessante far notare che degli 11 alleli condivisi da *P. persica*, 7 sono in comune con *P. ferganensis*, 2 con *P. kansuensis* e 4 con *P. davidiana*. Queste analisi confermano che *P. ferganensis* mostra una elevata affinità con *P. persica*.

**Tabella 3**

	<i>Prunus persica</i>	<i>Prunus ferganensis</i>	<i>Prunus kansuensis</i>	<i>Prunus davidiana</i>
N campioni	118	1	1	2
N tot alleli	52		33	
N tot alleli unici	41		17	

Gli SSR analizzati in pesco hanno mostrato una media di 6.5 alleli per locus (Tab.4), valore non lontano da quello osservato da Aranzana et

al. (2003), nonostante il numero più elevato di cultivar e di primer considerati. Questo dimostra che la scelta dei primer da noi effettuata è stata ottimale.

Quasi la metà degli alleli per ogni locus risulta rara, con frequenze inferiori al 5%. Analizzando i singoli loci risulta evidente che la maggior parte non si trova in equilibrio Hardy-Weinberg ma mostra un eccesso di omozigoti (dati non mostrati).

Tabella 4

Popolazione n° campioni	<i>Prunus persica</i> 118	peschi 73	nettarine 45
Na (n° medio di alleli per locus)*	6.500	5.875	4.625
Na Freq. >= 5%	3.750	3.125	2.750
N alleli con 5% => frequenza <=25%	0.000	0.000	0.000
N alleli con 5% => frequenza <=50%	1.000	1.625	1.500
N medio Alleli Privati (alleli unici per la singola popolazione)	5.125	1.500	0.625
He (Eterozigosi attesa)	0.580	0.568	0.511
Ho (Eterozigosi osservata)	0.498	0.523	0.453
F (indice di Fissazione)	0.138	0.076	0.222

\* N medio alleli evidenziati in tutte e 4 le specie: 9.25

separatamente le due popolazioni, si osserva che nelle nettarine l'Indice F è quasi il triplo di quello del pesco suggerendo l'ipotesi di una base genetica più stretta.

L'analisi delle 8 coppie di *primer* ha consentito di caratterizzare singolarmente 93 delle 122 accessioni saggiate pari a circa il 76% del totale e di individuare 12 gruppi costituiti da due o più accessioni non discriminate. Il coefficiente di similarità osservato varia da un valore minimo di 0,03, relativo alle 2 accessioni di *P. davidiana*, che risultano pertanto i genotipi geneticamente più distanti, a un valore massimo di 1,00 relativo alle cultivar di *P. persica* che non si sono discriminate. La specie *P. kansuensis* mostra un indice di similarità di 0,4, mentre *P. ferganensis* di 0,15 confermando di essere la specie più affine a *P. persica*.

Il dendrogramma ottenuto (Fig. 2) consente di individuare alcune clusterizzazioni significative e informative riconducibili sia al *pedigree* delle singole varietà che alle loro caratteristiche morfologiche.

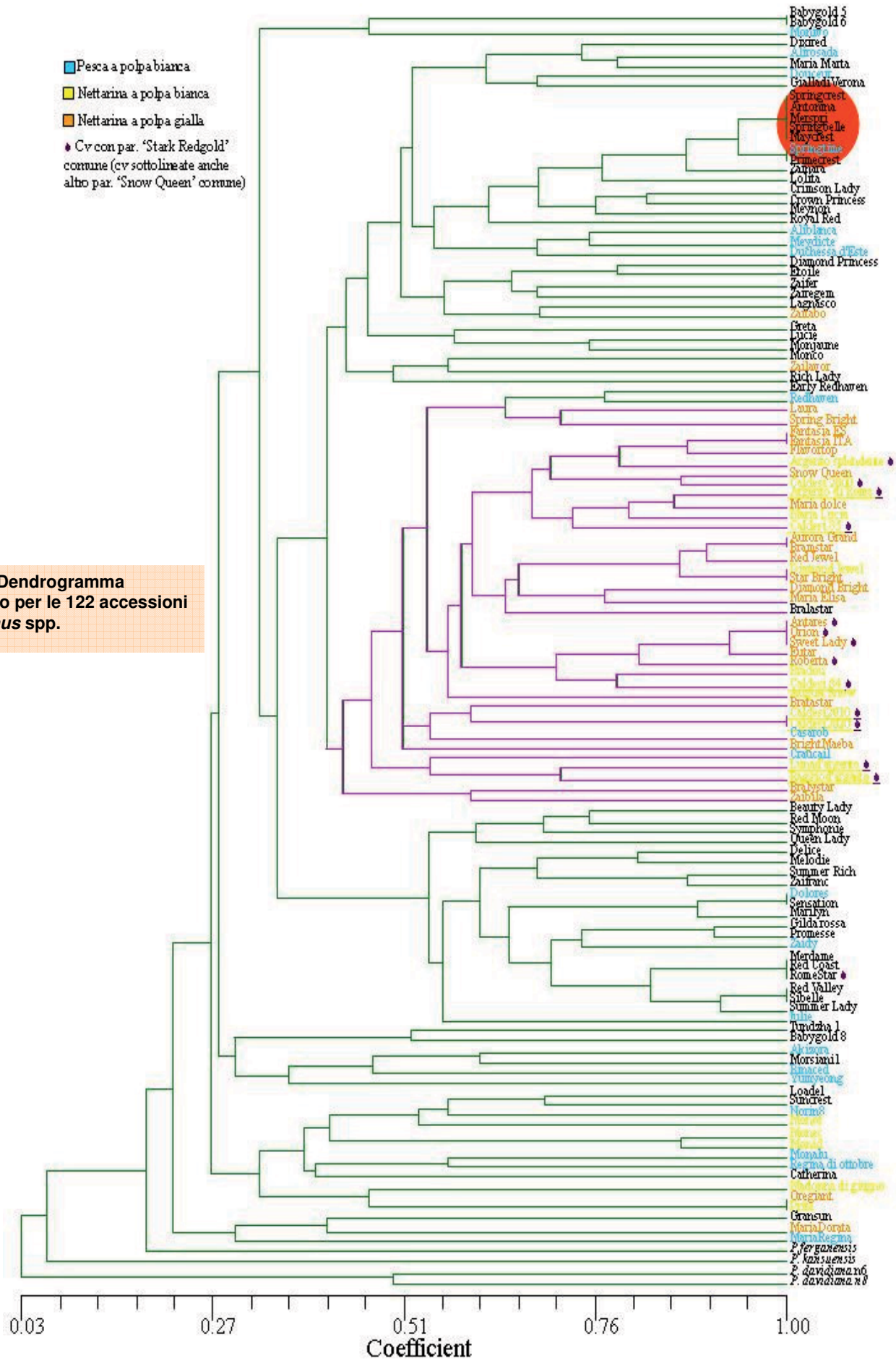
Quasi tutte le cultivar di nettarine si sono raggruppate in un grande *cluster* in cui non si è evidenziata una separazione tra le nettarine a polpa bianca e quelle a polpa gialla. All'interno di questo *cluster* sono presenti 5 diversi gruppi costituiti da due o più cultivar che non si sono discriminate. Dalle informazioni ottenute in bibliografia le cv 'Argento splendente', 'Argento di Roma', tutte le 'Caldesi', 'Antares', 'Roberta', 'Orion', 'Sweet Lady', 'Luna d'argento', e 'Raggio d'argento' hanno un parentale comune, 'Stark Redgold'. Tutte le 'Caldesi', 'Argento di Roma', 'Luna d'argento', e 'Raggio d'argento' condividono inoltre anche l'altro parentale 'Snow Queen'. Dalle analisi effettuate su queste cultivar tutte sono state caratterizzate singolarmente, eccezion fatta per 2 *cluster* non discriminati rispettivamente costituiti dalle 3 cv 'Antares', 'Orion', 'Sweet Lady' e dalle 2 cv 'Caldesi 2010' e 'Caldesi 2020'. Le due accessioni di 'Fantasia', una proveniente dal nostro Centro Nazionale di Germoplasma Frutticolo e l'altra proveniente dall'IVIA (Spagna), mostrano sempre lo stesso *pattern* a conferma del fatto che si tratta dello stesso genotipo; 'Aurora Grand' e 'Bramstar' hanno evidenziato gli stessi profili genetici nonostante abbiano origini genetiche diverse; anche 'Diamond Jewel' e 'Star Bright', pur non avendo parentali condivisi, non si sono separate.

Per quanto riguarda le varietà di pesco sono stati individuati 6 gruppi costituiti da cultivar che non si sono discriminate: 'Babygold 5' e 'Babygold 6' hanno 'NJ196' come parentale comune e sono percoche gialle. 'Springcrest', 'Antonina', 'Springbelle', 'Maycrest' e 'Merspri' costituiscono un gruppo di varietà non discriminate che probabilmente hanno 'Springcrest' o sue mutazioni come parentali comuni. Questo risultato conferma l'origine genetica di 'Antonina' e 'Maycrest', entrambe mutazioni di 'Springcrest', e rafforza l'ipotesi che anche 'Springbelle' e 'Merspri' siano mutazioni di 'Springcrest', come suggerito da Aranzana *et. al.* (2003). Nonostante 'Primecrest' sia una mutazione di 'Springcrest' si è differenziata da quest'ultima ma non da 'Springtime' che a sua volta è uno dei due parentali di 'Springcrest'. Un altro *cluster* è quello costituito da 'Merdame', 'Red Coast' e 'Rome Star' anche se le informazioni sui rispettivi *pedigree* non aiutano a giustificare la loro vicinanza genetica. 'Merdame' è un parentale di 'Red Coast' mentre 'Rome Star' deriva dall'incrocio di 'Fayette' x 'Stark Redgold'. 'Red Valley' che condivide con 'Red Coast' lo stesso parentale si è distinta da quest'ultima ma non da 'Sibelle' di cui mancano informazioni sul suo *pedigree* in bibliografia. Le cv 'Symphonie', 'Melodie', 'Dolores', 'Marylin', 'Gilda rossa' e 'Zaidy' condividono come parentale 'O' Henry' o la sua mutazione 'Early O' Henry'. Tutte sono state caratterizzate univocamente ma clusterizzano nello stesso gruppo a conferma della loro vicinanza genetica.

Si intende testare altri *primer* SSR e aumentare il numero delle cultivar saggiate al fine di discriminare un maggior numero di varietà, di valutare la variabilità genetica all'interno della specie *P. persica* e di identificare genotipi interessanti da utilizzare in programmi di miglioramento genetico.

La Tabella 4 mostra che l'eterozigosi osservata è inferiore all'attesa e che l'Indice di Fissazione F è positivo, come atteso in popolazioni *inbred*. Suddividendo *P. persica* in base alla tomentosità del frutto in due sub-popolazioni, pesco e nettarine, e analizzando





## RACCOLTA, VALUTAZIONE, CONSERVAZIONE E CARATTERIZZAZIONE DI ACCESSIONI LOCALI DI SPECIE FRUTTICOLE PRESENTI NELLA REGIONE CAMPANIA

**CRA-FRC Unità di Ricerca per la Frutticoltura, Caserta**

*Oreste Insero, Pietro Rega, Milena Petriccione*

### Riassunto

La salvaguardia del germoplasma frutticolo campano mira a individuare, caratterizzare e propagare ecotipi e varietà autoctone a rischio di erosione genetica per diverse specie da frutto, e di predisporre le basi per una valida attività di salvaguardia. La caratterizzazione varietale mira a fornire sia dati fenologici e morfologici sia dati pomologici necessari per l'individuazione di omonimie e sinonimie.

L'attività di ricerca è stata condotta per lo più nelle aree interne delle province di Avellino, Benevento, Caserta e Salerno, privilegiando il reperimento di nuove accessioni di pomacee (melo, pero, ecc) e di alcune specie minori, in particolare di sorbo e melograno.

Lo scopo è quello di incentivare la riscoperta e l'uso di alcune varietà a diffusione locale, ora accantonate, per rispondere alle diverse richieste dei consumatori, sempre più attenti al recupero di prodotti tipici e di caratteri peculiari spesso di difficile reperimento sul mercato.

### Introduzione

L'individuazione, il reperimento e la conservazione di varietà autoctone rappresentano la base per il recupero di patrimoni genetici che possono essere utilizzati per approfondire le conoscenze sulla variabilità genetica e morfologica e per impostare dei programmi di miglioramento varietale in funzione dell'adattamento ambientale. Inoltre tale lavoro consente di acquisire materiale che può essere molto interessante per l'epoca di maturazione (precoce o tardiva), per i caratteri morfologici (forma, dimensione, colore) e organolettici (gusto, consistenza, valore nutritivo).

Generalmente i frutti delle varietà autoctone individuate sono di scarso valore agronomico e pomologico e non rispondono ai requisiti richiesti dalla frutticoltura moderna; alcune però presentano delle caratteristiche peculiari (resistenze, caratteristiche vegetative, ecc.) per le quali meritano di essere conservate per l'utilizzo in programmi di miglioramento genetico.

Le qualità organolettiche spesso vengono eccessivamente decantate da persone anziane per le quali il sapore, il profumo e le altre "eccezionali caratteristiche" non sono altro che il sapore del passato e della propria infanzia.

Il lavoro di individuazione è abbastanza complesso in quanto alcune varietà vengono segnalate come piante "uniche e storiche", invece corrispondono a vecchie varietà ancora in commercio, che possono essere acquistate sul normale mercato vivaistico e che si sono ben conservate per molti anni.

Il germoplasma frutticolo più interessante è quello individuato in zone più impervie e semiabbandonate dove l'introduzione di novità varietali negli anni è stata abbastanza limitata; il rischio che il materiale individuato corrisponda a una vecchia cultivar già conosciuta è maggiore quando la pianta, definita dagli agricoltori "storica e interessante", viene segnalata ai margini di vecchi frutteti. Accessioni valide e interessanti, dopo le prime osservazioni, sono risultate essere una vecchia mela 'Golden' o una semplice pera 'Spadona' il cui astone era stato comprato al mercato del paese dal nonno o da qualcun'altro.

Durante il reperimento delle accessioni bisogna affrontare il problema delle sinonimie e omonimie; nel primo caso avviene che la stessa varietà in un'area viene segnalata con un appellativo, mentre nella zona limitrofa con un altro; nel secondo caso con lo stesso nome o nomignolo vengono segnalate varietà diverse in aree o comuni diversi.

Nelle varie aree censite e visitate è stata riscontrata una notevole differenza nelle specie e nel numero di accessioni individuate, ciò dovuto principalmente alle diverse condizioni pedologiche e climatiche della regione Campania. Le aree interne dell'Avellinese caratterizzate dalla presenza di terreni vulcanici ad esempio sono molto diverse dal Beneventano ove prevalgono terreni più pesanti e argillosi.



**Foto 1: Diverse tipologie di mela 'Limongella'**

### Materiali e Metodi

Nel 2008 l'attività dell'Unità di Ricerca per la Frutticoltura di Caserta è stata indirizzata prevalentemente alla individuazione, sia sul territorio regionale che nelle aree adiacenti, di nuove accessioni o presunte tali, non individuate precedentemente e recentemente segnalate da strutture pubbliche (Organismi Regionali, Provinciali e Comunali) o private (Cooperative, Imprenditori e Cultori della materia).

Il lavoro, in questo terzo anno di attività, è stato condotto per lo più nelle aree interne delle province di Avellino, Benevento, Caserta e Salerno, privilegiando il reperimento di nuove accessioni di pomacee (melo, pero, ecc) e di alcune specie minori, in particolare di sorbo e melograno.

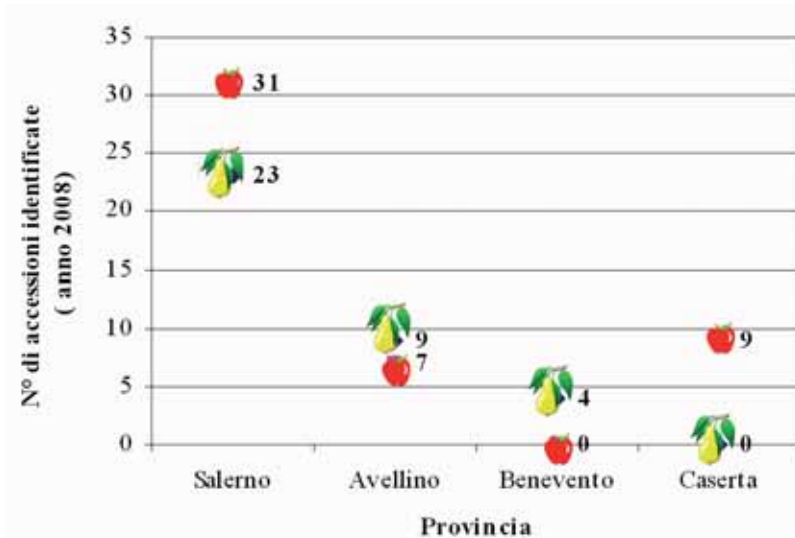
Per diverse specie frutticole sono state effettuate osservazioni di carattere fenologico (epoca di fioritura, ripresa vegetativa), morfologico e pomologico. Alcune accessioni ritenute particolarmente interessanti, dal punto di vista agronomico e pomologico, sono state moltiplicate *in vitro* mediante micropropagazione. È stata redatta una scheda pomologica analitica, per il sorbo, prendendo in considerazione i seguenti parametri sia fenologici (epoca di fioritura, epoca di ripresa vegetativa, epoca di maturazione dei frutti), sia pomologici (forma del frutto, cavità peduncolare, cavità calicina, colore della buccia, consistenza della polpa, dimensioni del frutto, acidità del frutto, contenuto in zuccheri solubili, produttività).

Sulle accessioni di melo individuate nella provincia di Avellino, è stata effettuata, anche, una caratterizzazione genetica. Il DNA genomico totale è stato estratto da giovani germogli, mediante DNeasy Plant Mini Kit (Quiagen). La prima caratterizzazione molecolare del germoplasma è stata effettuata utilizzando marcatori microsatelliti (SSR): CHO1F02, CHO3A04, CHO2G09, CHO1D08 e CHO1F07.

### Risultati e conclusioni

Nelle diverse province campane sono state reperite complessivamente 47 accessioni di pero e 36 accessioni di melo, dieci accessioni di sorbo e quattro di melograno. Il maggiore numero di accessioni di melo (31) e pero (23) è stato identificato nella provincia di Salerno, in diversi comuni dell'areale cilentano.

Nei comuni dell'Irpinia (AV) sono state identificate le seguenti accessioni di melo: 'Mela Rosa Serino', 'Cape è Ciuccio', 'Mela Barile', 'Limoncella Volturara', 'Renetta di Serino', 'Zampa Cavallo', 'Limoncella', 'Melone', 'Culo di Monaco'.



I dati pomologici delle accessioni 'Cape è Ciuccio', 'Renetta di Serino', 'Zampa Cavallo' e 'Melone' hanno messo in evidenza che tutte presentavano un frutto grosso, tronco-conico breve, leggermente appiattito e con profilo equatoriale irregolare e appena costoluto; buccia giallo-verdastra; la polpa è di colore giallognolo a maturazione, tenera, fondente, poco succosa, dolce acidula, aromatica e dalle buone qualità gustative. L'accessione 'Limoncella Volturara' rientra in una cultivar-popolazione di una vecchia cultivar 'Limoncella' da tempo conosciuta nelle regioni meridionali e presente in tutti comuni della

provincia di Avellino, dove sono stati rinvenuti alberi molto vecchi.

Le letture degli elettroferogrammi ottenuti dalle cinque coppie di *primer* sulle 25 accessioni di melo esaminate hanno mostrato un totale di 43 frammenti, 19 dei quali presenti in una sola accessione. Le accessioni 'Cape è Ciuccio', 'Renetta di Serino', 'Zampa di Cavallo' e 'Melone' sono triploidi e non si differenziano dalla cultivar 'Renetta del Canada'. Analogamente 'Limoncella Volturara' non si differenzia da 'Limoncella' così come 'Genovese' da 'Culo di Monaco'. L'ipotesi che le accessioni triploidi possano rappresentare un caso di sinonimia, così come le altre, è dimostrata anche dai risultati pomologici.

Le accessioni di sorbo a cui sono state assegnate le sigle ('SO-01', 'SO-02', 'SO-03', 'SO-04', 'SO-05', 'SO-06', 'SO-07', 'SO-08', 'SO-09', 'SO-10') sono state individuate nelle province di Avellino e Caserta. Alcune delle accessioni presentano forma del frutto ovoidale, ascrivibili quindi alla tipologia del sorbo-mela, altre ellissoidale e quindi del sorbo-pera. La polpa è generalmente di colore chiaro, tenera dopo ammezzimento. In seguito all'analisi dei primi risultati, le accessioni ritenute più valide, saranno innestate e messe a dimora nel campo collezione per verificare anche altre caratteristiche agronomiche (affinità d'innesto, precocità di entrata in produzione, ecc.).



In provincia di Caserta sono state individuate quattro accessioni di melograno ('ME-01', 'ME-02', 'ME-03', 'ME-04') particolarmente interessanti per il numero di semi per frutto, la dimensione e il colore del frutto. Tali accessioni sono state propagate per talea e saranno messe a dimora nel campo di collezione varietale presente presso questa Unità di Ricerca, che ospita venti varietà di melograno.

## CONSERVAZIONE, CARATTERIZZAZIONE E VALORIZZAZIONE DEL VECCHIO GERMOPLASMA FRUTTICOLO E DI FRAGOLA, CON PARTICOLARE ATTENZIONE A QUELLO ROMAGNOLO

### CRA-FRF Unità di Ricerca per la Frutticoltura, Forlì

Daniela Giovannini, Alessandro Liverani, Gianluca Baruzzi, Mauro Bergamaschi, Marco Castagnoli, Maria Luigia Maltoni, Sandro Sirri, Walther Faedi

- Conservazione del germoplasma frutticolo e di fragola

In considerazione del grande interesse manifestato, a livello regionale, nei confronti del germoplasma tradizionale autoctono e del suo stretto legame col patrimonio di saperi, sapori, tecniche e consuetudini locali, il CRA-FRF ha sentito l'esigenza di raccogliere in una collezione quello più significativo, per coltivarlo *ex situ* nella zona di origine. Il concetto di autoctonia è da intendere *latu senso*, in quanto comprende sia i genotipi che si sono originati in Romagna, sia quelli introdotti da altre regioni da lungo tempo e con successo, tanto da essersi integrati nella tradizione del territorio. Per l'identificazione delle vecchie varietà da inserire nella suddetta collezione, il CRA-FRF si è avvalso sia della propria esperienza acquisita in precedenti attività di recupero e descrizione del germoplasma locale, sia dei risultati di un'indagine triennale condotta nell'ambito del Progetto 'Agrobiodiversità nell'Appennino Romagnolo' di recente concluso, alla cui realizzazione il CRA-FRF ha contribuito, a titolo volontario, con materiale di propagazione, bibliografico e con la compilazione di schede pomologiche.

- Collezione *multicrop*

Nel febbraio 2008, presso l'azienda sperimentale di Magliano (FC) sono stati messi a dimora 3 astoni di ciascuna delle accessioni elencate nella Tabella 1. A ogni specie è stato destinato un filare, ed è stato previsto anche lo spazio per l'introduzione, nei prossimi anni, di ulteriori accessioni già identificate ma non ancora reperite ovvero da identificare. La Collezione ha lo scopo di raccogliere il germoplasma autoctono in uno spazio comune e accessibile al pubblico in occasione di fiere, mostre pomologiche ed eventi organizzati a livello locale. Nella medesima azienda sono inoltre mantenute in collezione alcune decine di varietà da frutto tradizionali storicamente importanti per il nostro Paese (Tabella 2).

**Tab.1. Elenco delle accessioni inserite, in corso d'inserimento (grassetto) o in fase di reperimento (in corsivo) nella Collezione *multicrop* messa a dimora nel febbraio 2008 presso l'azienda sperimentale del CRA-FRF. Il portinnesto impiegato è indicato in fondo alla colonna relativa a ciascuna specie.**

PERO	MELO	PESCO	SUSINO	CILIEGIO
Angelica	Mela Rosa	Buco Incavato	Sangue di Drago	Marcianina
Mora di Faenza	Durello	Sanguinella	Regina	Morena
Volpina	Abbondanza rossa	Pesca Carota	Vacca Zebeo	Durona di S.Giovanni
Broccolina	Renetta	S. Anna	Agostana	Morandina di Civitella
Volpona	Commercio	Bella di Cesena	<i>Occhio di Pernice</i>	Corniola
Moscatella	Tellina	<i>Bonvicini</i>		Fiore
Cocomerina prec.	<b>Decio</b>	<i>Bonfoglioli</i>		Gemella
Cocomerina tardiva	<i>Piattona</i>	<i>Tard. Massalombarda</i>		Durone di Cesena
San Giovanni	<i>Francesca</i>	<i>Grossa di montagna</i>		Morandina
Scipiona				Morona (Bacille)
<b>Spadoncina</b>				
OHF 40	M 106	GF 677	Mirabolano da seme	Colt

**Tab. 2: Consistenza del germoplasma frutticolo e di fragola in collezione presso il CRA-FRF nel 2008**

Ciliegio	13
Melo	50
Pero	87
Pesco	59
Susino	56
Fragola	130

- Fragola

Il germoplasma di fragola, costituito da 130 varietà di diversa origine, di cui 30 hanno avuto in passato interesse commerciale nel nostro Paese, è mantenuto in vaso (1-3 piante per varietà) in *screen house* presso l'azienda sperimentale di Magliano (FC).

- Caratterizzazione e valorizzazione varietale

*Pesco*

È iniziato il lavoro di caratterizzazione di 19 accessioni di origine locale, che hanno fruttificato per la prima volta nel 2008, secondo descrittori fenologici, agronomici e pomologici. Purtroppo, la forte grandinata che ha colpito a maggio l'azienda non ha consentito l'esecuzione di tutti i rilievi previsti. Tutte le accessioni si sono contraddistinte per l'epoca di fioritura tardiva o molto tardiva, carattere che oggi assume particolare interesse in un contesto di cambiamenti climatici in atto. Anche nel territorio romagnolo, infatti, è stato riscontrato un trend significativo all'anticipo dell'antesi in questa specie e, conseguentemente, per i genotipi a fioritura precoce aumentano i rischi di danni da freddo a carico dei fiori e dei giovani frutti.

*Fragola*

Le varietà 'Annalie', 'Avalon Classic', 'Louis Gouthier', 'Rabunda', 'Regina', 'Tardiva di Romagna', 'Candongia', 'Ciflorette', 'Clery', 'Darlissette', 'Daroyal', 'Darselect', 'Onda' e 'Queen Elisa', appartenenti alla collezione del germoplasma di fragola del CRA-FRF, sono state caratterizzate secondo i descrittori agronomici e pomologici concordati nell'ambito del progetto nazionale "Liste di orientamento varietale" e del progetto europeo "GenBerry" (036 AGRI GEN RES 870/2004). I rilievi sui frutti hanno riguardato peso, colore, consistenza della polpa, contenuto zuccherino e acidità titolabile; è stato inoltre analizzato il contenuto di acidi organici, zuccheri solubili e composti ad azione antiossidante (acido ascorbico, capacità antiossidante totale e polifenoli totali). I frutti delle varietà 'Ciflorette', 'Darlissette', 'Regina', 'Louis Gouthier', 'Rabunda' e 'Annalie' sono risultati i più dolci, con un residuo secco rifrattometrico  $\geq 8,3^\circ\text{Brix}$ ; i frutti delle prime tre cultivar, inoltre, sono risultati particolarmente ricchi di acido ascorbico (70-80 mg/100g pf). È stato iniziato uno studio finalizzato al *fingerprinting* delle varietà 'Dr. Morere', 'Blakemore', 'Sequoia', 'Aguedilla', 'Selva' e 'Gariguette', utilizzando 17 microsatelliti. I risultati sono in corso di elaborazione.

*Ciliegio*

È stato intrapreso uno studio finalizzato alla caratterizzazione qualitativa e nutraceutica dei frutti di antiche varietà di ciliegio del germoplasma romagnolo. Frutti di 'Corniola' (2 accessioni), 'Duroncino di Cesena' e 'Durone di San Giovanni', prodotti presso un'azienda cerasicola ubicata nella collina cesenate, sono stati caratterizzati secondo 30 descrittori pomologici, biochimici e nutraceutici. L'analisi multivariata di tipo discriminante ha chiaramente distinto i 4 genotipi, comprese le due accessioni di 'Corniola', varietà antica che mantiene un interesse commerciale di nicchia nel territorio cesenate e di cui esistono diversi ecotipi.

- Miglioramento genetico

*Pero*

Sono state effettuate 13 combinazioni d'incrocio impiegando come parentali vecchie varietà di pero come 'Mercedes', 'Fragrante', 'Mellina', 'Itala' e 'Mora di Pirovano', e F1 dell'attività pregressa (come le sel. '84-4055-42' e '84-3960-42' ottenute dall'incrocio 'Mellina' x 'Decana del Comizio'), interessanti per le buone caratteristiche qualitative dei frutti e per l'epoca di raccolta precoce ('Itala') ma soprattutto tardiva (le altre). Quest'ultimo obiettivo sta assumendo un'importanza crescente vista la carenza di varietà commerciali con epoca di raccolta autunno-invernale e buone caratteristiche organolettiche dei frutti. Alcune vecchie varietà locali a polpa rossa, come 'Briaca', 'Cocomerina precoce' e 'Cocomerina tardiva', sono state impiegate come parentali in incroci con varietà commerciali per trasferire questo carattere alle progenie. Dagli incroci 2008 sono stati ottenuti 762 semenzali, attualmente in allevamento in serra.

*Fragola*

Sono stati effettuati incroci tra due varietà della specie *Fragaria moschata*, esaploide: 'Profumata di Tortona', dal gradevole aroma moscato dei frutti ma dioica e 'Capron', dal fiore ermafrodita. Obiettivo degli incroci è l'ottenimento di genotipi di *F. moschata* a fiore ermafrodita e frutto aromatico. Inoltre, varietà di recente introduzione commerciale ('Alba', 'Candongia') sono state impiegate in incroci con le "vecchie" varietà 'Dr. Morere', 'Louis Gauthier' e 'Dethury', i cui frutti sono dotati di caratteristiche organolettiche di pregio, ma con limitata *shelf-life*. Obiettivo degli incroci è l'ottenimento di genotipi caratterizzati da elevata produttività, frutto grosso e ottimo sapore.

## Melo

Nel programma di incroci annuale del CRA-FRF, un 5% circa degli incroci fa ricorso a vecchie varietà di melo, portatrici di caratteri di rusticità e adattabilità all'ambiente, caratteri qualitativi peculiari o resistenza genetica a particolari patogeni. Negli incroci 2008 sono state impiegate la varietà 'Decio', caratterizzata da habitus vegetativo assurgente e compatto, una accessione locale caratterizzata da apetaloidia, e una accessione locale del nostro Appennino, reperita in località Acquacheta, contraddistinta da notevole rusticità. Sono stati ottenuti complessivamente 42 semenzali.



Foto 1: Ritratti di vecchie varietà romagnole di ciliegio

- Catalogazione bibliografica di vecchie varietà di melo coltivate in Italia

E' proseguita l'azione di catalogazione delle antiche varietà di melo coltivate in Italia e descritte o illustrate nei volumi e documenti conservati presso la biblioteca del CRA-FRF. La catalogazione consiste nell'introduzione in un apposito foglio elettronico delle indicazioni riguardanti i riferimenti bibliografici, eventuali sinonimi, la presenza di foto o disegni, al fine di rendere agevole un successivo lavoro di ricerca e documentazione. Nel 2008 l'azione si è estesa anche a volumi e documenti esterni. I genotipi catalogati sono attualmente 1170.

### Attività prevista per il 2009

#### 1. Mantenimento

- Allevamento degli alberi della Collezione "multicrop"; mantenimento del germoplasma frutticolo conservato presso l'azienda di Magliano; mantenimento in vaso e in ambiente protetto (*screen house*) del

germoplasma di fragola;

- Proseguimento dell'azione di reperimento e delle antiche varietà da frutto di interesse locale.

#### 2. Caratterizzazione

- Proseguimento della caratterizzazione agronomica, pomologica e qualitativa di alcune antiche varietà da frutto, con particolare riferimento al ciliegio;
- caratterizzazione pomologica e qualitativa di varietà del germoplasma di fragola e di genotipi di *F.chiloensis* a frutto bianco;
- Valutazione della resistenza/tolleranza a sharka di alcune varietà autoctone di pesco.

#### 3. Miglioramento genetico

- Esecuzione di nuovi incroci di melo e pero impiegando parentali del vecchio germoplasma italiano; allevamento dei semenzali ottenuti dagli incroci degli anni precedenti.
- Selezione dei semenzali ottenuti dagli incroci 2007 nell'ambito delle specie *F.chiloensis*, *F. moschata* e le vecchie varietà di *Fragaria x ananassa*. Messa a dimora in estate degli 800 semenzali dell'attività di *breeding* 2008.

#### 4. Catalogazione

- Arricchimento del database inerente la catalogazione di vecchie varietà di melo coltivate in Italia ed estensione dell'attività anche al pero.

#### Pubblicazioni:

FAEDI W., BARUZZI G., BONOLI M., TURCI P. 2008. *Studies on strawberry germplasm in Italy*. First Symposium on Horticulture in Europe. Vienna 17-19 febbraio 2008. Book of Abstracts: 248-249.

MAGNANI S., BARUZZI G., D'ANTUONO L.F., MALTONI M.L., RANIERI M., FAEDI W. 2008. *Health-promoting components in old and new Italian strawberry varieties*. Workshop "Bioactive compounds in berry fruits: genetic control, breeding, cultivar, analytical aspects and human health". Zurigo 3-5 dicembre 2008, Book of Abstracts pag.40.

GIOVANNINI D., LIVERANI A., BERGAMASCHI M. 2009. *Cambiamenti climatici in atto ed impatto sulla fioritura dei fruttiferi in ambiente romagnolo*. Frutticoltura, in stampa.

## RACCOLTA, CARATTERIZZAZIONE E VALORIZZAZIONE DELLE RISORSE GENETICHE AGRUMICOLE

### CRA-ACM Centro di Ricerca per l'Agrumicoltura e le Colture Mediterranee, Acireale (CT)

*Giuseppe Reforgiato Recupero, Giuseppe Russo, Santo Recupero, Angelo Caruso, Paola Caruso, Paola S. Cotroneo, Concetta Licciardello, Maria Patrizia Russo, Donata Pietro Paolo, Floriana Caldarera, Francesco Intrigliolo*

- Introduzione dal USDA-ARS National Clonal Germplasm Repository for Citrus & Dates, Riverside, California (USA) di specie non presenti nella nostra collezione di germoplasma

Le marze, dopo l'arrivo nel Febbraio 2008, sono state innestate e le procedure di saggio sono in fase di completamento.

- Campo germoplasma di Palazzelli

Nel 2008 non si è ritenuto opportuno procedere all'innesto dei 600 portinnesti di citrumelo 'Swingle' messi a dimora nel 2007. I primi innesti sono stati invece effettuati nel Maggio del 2009.

- Valorizzazione delle specie pigmentate

L'Italia possiede il germoplasma più ricco di arancio pigmentato. La presenza dell'antocianina, grazie al suo valore salutistico per la capacità di comportarsi da *scavenger* dei radicali liberi, può rappresentare un punto di forza nella produzione italiana. Il contenuto in antocianine è sotto controllo genetico e ha espressività variabile.

Le seguenti attività sono state effettuate al fine di valorizzare questo gruppo di arance che rappresentano una produzione peculiare della nostra arancicoltura:

Al fine di migliorare la conoscenza sulla biosintesi dell'antocianina è stato verificato:

- *l'effetto del portainnesto*

Si è evidenziato che esiste una correlazione positiva dipendente dal portainnesto tra accumulo di zuccheri e contenuto di antocianine, la quale risulta influenzata dallo stato di quiescenza del portainnesto.

- *il ruolo dei geni regolatori*

A tal fine è stato isolato *CsPMC1* appartenente alla famiglia dei *Myb-like*, che è risultato direttamente coinvolto nella regolazione della biosintesi dell'antocianina nella polpa di frutti di arancio. Le conoscenze acquisite potranno essere indirizzate alla comprensione dei meccanismi correlati al genotipo e all'ambiente pedoclimatico.

In collaborazione con il Dipartimento di Oncologia Sperimentale dell'Istituto Europeo di Oncologia (Milano) e il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Alimentari e Microbiologiche (Milano) è stato investigato l'effetto, sull'accumulo di adipe nel topo, del succo delle arance 'Moro' (pigmentata) e 'Navelina' (bionda) in una dieta ricca di grassi. Il succo dell'arancia 'Moro' riduce significativamente l'accumulo di tessuto adiposo rispetto al controllo (acqua) e al succo di 'Navelina'. I primi risultati indicano che l'effetto è dovuto a un'azione complessa di diversi componenti.

- Caratterizzazione del germoplasma agrumicolo mediante marcatori molecolari

*Analisi citofluorimetrica*

E' stata indirizzata all'isolamento di mutanti e ibridi tetraploidi per il loro impiego come genitori, al fine di costituire ibridi triploidi. In Fig. 1 è possibile vedere una mutazione di pompelmo tetraploide ottenuta dal raddoppiamento del numero cromosomico della nucella.



Foto 1: Arancia pigmentata

Utilizzo di marcatori molecolari per la caratterizzazione del germoplasma

Utilizzando un sequenziatore a capillare ABI PRISM 3130 (Applied Biosystems), sono state effettuate le prime amplificazioni per evidenziare marcatori micro satellitari polimorfici. In Fig. 2 il *primer* GTO3 è risultato polimorfico per il clementine, il Tarocco ed alcuni dei loro ibridi.

• Utilizzo del germoplasma nell'impiego ornamentale degli agrumi

Per quanto riguarda l'impiego ornamentale, si è continuata l'attività riguardante l'individuazione di accessioni da essere valorizzate per un loro utilizzo diretto o come genitori in programmi di incrocio. Di particolare interesse sono risultati una mutazione di arancio amaro (corrugata), il tangelo 'Sampson', la 'Lima di Palestina', e il 'Tarocco Messina'. Dal limone 'Meyer', dalla lima rossa e dal chinotto sono stati ottenuti i primi ibridi fruttificanti ritenuti di potenziale interesse per questo aspetto.

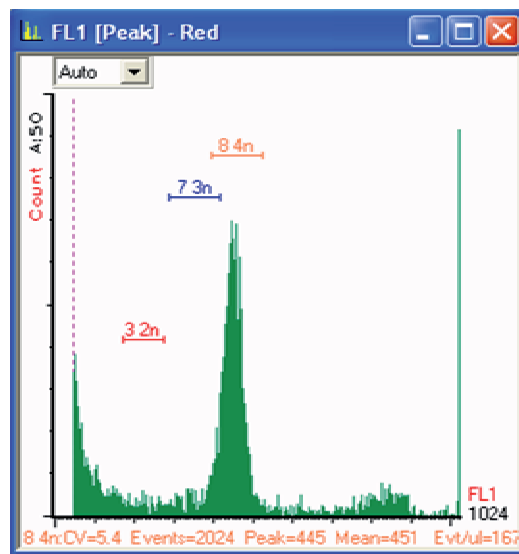


Fig. 1: Analisi citofluorimetrica del pompelmo tetraploide 'Frizzele'



Fig. 2: Amplificazione con il *primer* GTO3.



## CONSERVAZIONE, CARATTERIZZAZIONE E VALORIZZAZIONE DI CULTIVAR AUTOCTONE DI MANDORLO DI ORIGINE PUGLIESE

CRA-SCA Unità di Ricerca per i Sistemi Colturali degli Ambienti Caldo-Aridi, Bari  
 Donato de Giorgio

L'attività è stata rivolta prevalentemente alla caratterizzazione produttiva, carpologica e fenologica delle cultivar autoctone in collezione nel campo del germoplasma del mandorlo, ubicato in agro di Bitetto (BA), di proprietà del CRA-SCA di Bari. Durante l'annata sono state effettuate tutte le operazioni colturali (lavorazioni del terreno, potatura, concimazione, trattamenti antiparassitari, ecc.), che le esigenze agronomiche hanno richiesto per garantire il mantenimento in vita della collezione varietale. Nonostante le scarse precipitazioni, per mantenere il terreno privo di infestanti si è reso necessario eseguire 3 sarchiature. Nella prima decade di dicembre è stata effettuata la concimazione fosfatica e nell'ultima decade di marzo quella azotata. Per prevenire i danni da *Fusicoccum amygdali*, a inizio di gennaio è stato effettuato un trattamento con poltiglia bordolese al 2 %. All'inizio di giugno e nella prima decade di luglio si sono verificati attacchi di afidi e di monosteria e si è dovuto procedere a effettuare i trattamenti specifici. Durante l'antesi sono stati effettuati i rilevamenti fenologici distinguendo l'inizio, la piena e la fine fioritura. Alla raccolta, eseguita manualmente per pianta e per cultivar, dopo le operazioni di smallatura e asciugatura sono stati rilevati i parametri produttivi e successivamente quelli carpologici (resa in sgusciato, peso di una mandorla e di un seme, semi doppi e abortiti, ecc.).

### Clima

Con una stazione meteo ubicata nello stesso campo sperimentale, è stato effettuato un monitoraggio continuo dei principali parametri climatici (temperatura e umidità dell'aria, temperatura del terreno, precipitazioni, vento, eliofania, ecc.).

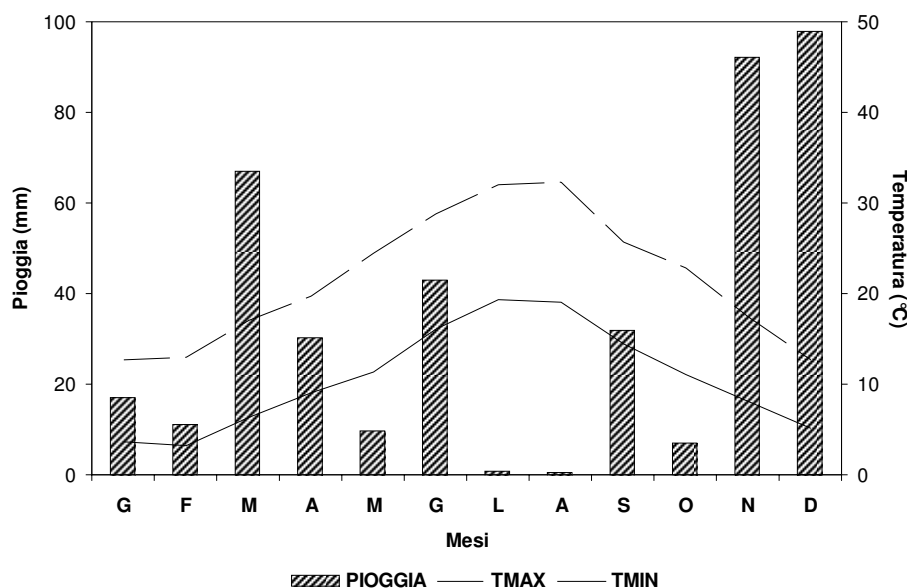


Fig. 1: Andamento dei valori medi mensili delle precipitazioni e delle temperature massime e minime da gennaio a dicembre 2008.

La piovosità annua è stata di 388,5 mm, di cui 168 mm caduti a fine annata tra novembre e dicembre (Fig. 1). Le scarse precipitazioni tra gennaio e agosto 2008, di soli 181,6 mm, utili per la sopravvivenza delle piante ma non per le necessità produttive, hanno condizionato negativamente l'accrescimento dei frutti. Rispetto alla precedente annata, negli stessi periodi di riferimento, c'è stato un deficit di

precipitazioni rispettivamente di 110 e

91 mm, valori che rientrano nella naturale variabilità annua, ma nelle condizioni critiche di un clima semi-arido assumono un ruolo rilevante. Alla scarsa entità delle precipitazioni, si aggiunge una distribuzione frazionata nel tempo e spesso inferiore a 10 mm, poco utili ai fini produttivi e dannose quando si verificano durante la fioritura. Infatti, l'elevato grado di umidità durante l'antesi ha condizionato negativamente la fase di allegagione. Nei giorni 15, 19 e 20 febbraio, con la quasi totalità delle cultivar in fioritura, sono state registrate rispettivamente 4, 7 e 4 ore di temperature inferiori a zero gradi, con una punta minima di  $-2,5$  °C il giorno 19. Per il resto dell'annata l'andamento termico è stato nell'ambito della norma.

### Fioritura

La fioritura ha avuto inizio con le cultivar più precoci 'Vuoi o non vuoi' e 'Primicerio', rispettivamente il 25 e 31 gennaio ed è terminata con le cultivar 'Rana' e 'Marchiona' il 9 e 12 marzo. Per la maggioranza delle cultivar l'antesi si è concentrata in febbraio, per cui la quasi totalità si è trovata in fioritura in coincidenza dei giorni in cui si sono verificate le basse temperature.

La durata è oscillata tra 8-9 giorni nelle cultivar 'Viscarda', 'Pettolecchia' e 'Banchiere' e 20-21 giorni della 'Cosimo di Bari', 'Maria Carolina Tribuzio' e 'Vuoi o non vuoi'. Tendenzialmente le cultivar a fioritura più precoce tendono ad avere una fioritura più lunga.

### Produzione e parametri carpologici

Le avverse condizioni climatiche durante la fioritura e le scarse precipitazioni hanno condizionato negativamente l'andamento produttivo generale. Delle 89 cultivar italiane in collezione, 73 hanno prodotto meno di 1 kg di seme per pianta. In Tab. 1 sono riportate le accessioni autoctone con una produzione dei semi per pianta superiore a 1 kg, di cui solo la 'Occhio Rosso di Trani' e la 'Galgano' hanno fatto registrare più di 2 kg per pianta, seguono 4 cultivar, 'Giunco di Cozze di Alberobello', 'Nocella', 'Pappamucco' e 'Pizzutella' con valori superiori a 1,5 kg e 10 cultivar comprese tra la 'Genco' e la 'Montrone' con valori tra 1 e 1,5 kg di semi per pianta. Fra le più produttive, riportate in tabella, la resa più elevata è stata rilevata nella 'Cicerchia' con il 37,83 %, seguite dalla 'Santoro', dalla 'Genco', dalle 'Giunco di Cozze' di Alberobello e di Ostuni e dalla 'Occhio Rosso di Trani', con valori di resa superiore al 30%. Tutte le altre cultivar hanno valori compresi tra il 25 e 30 %, a eccezione della 'Nocella' con poco più del 23 % e con il valore più basso del peso seme (inferiore ad 1 grammo). Il peso seme più elevato è stato registrato nella 'Cristomorto' e nella 'Santoro', rispettivamente di 1,96 e 1,84 grammi. L'incidenza di semi doppi più alta è stata rilevata nella 'Occhio Rosso di Trani' con il 40%, seguita dalla 'Pappamucco', 'Pizzutella' e 'Cristomorto' con il 32 %. Nelle cultivar 'Nocella', 'Tenente' e 'Giunco di Cozze di Ostuni' i semi sono risultati tutti interi. Nelle cultivar 'Pizzutella', 'Cristomorto' e 'Montrone' è stata rilevata la più bassa incidenza dei semi abortiti.

Le cultivar più produttive, riportate in tabella, hanno mostrato una buona capacità di resistenza alle basse temperature durante la fioritura, infatti tutte hanno fiorito tra il 31 gennaio della 'Pizzutella' e il 21 febbraio della 'Pappamucco'. A eccezione di quest'ultima, tutte hanno subito l'effetto delle temperature inferiori a zero gradi tra il 15 e 20 febbraio.

**Tab. 1: Produzione, parametri carpologici ed epoche di fioritura delle 16 cultivar autoctone più produttive nell'annata 2008, della collezione varietale di mandorlo del CRA-SCA di Bari.**

Nome accessione	Produzione semi per pianta (kg)	Resa (%)	Peso mandorla (g)	Peso seme (g)	Semi doppi (%)	Semi abortiti (%)	Inizio fioritura (giorno/mese)	Durata fioritura (giorni)
Occhio Rosso di Trani	2.86	31.03	4.92	1.53	40	0	10 febbraio	19
Galgano	2.35	27.67	5.35	1.48	16	0	21 febbraio	16
Giunco di Cozze di Alberobello	1.95	31.52	3.68	1.16	16	0	13 febbraio	16
Nocella	1.84	23.39	4.10	0.96	0	0	6 febbraio	19
Pappamucco	1.65	28.89	5.22	1.51	32	0	21 febbraio	18
Pizzutella	1.52	26.47	5.50	1.46	32	4	31 febbraio	21
Genco	1.49	34.23	4.32	1.48	16	0	12 febbraio	14
Banchiere	1.44	29.81	5.26	1.57	24	0	15 febbraio	18
Franciscudda	1.41	29.76	5.74	1.71	24	0	15 febbraio	16
Cristomorto	1.36	28.96	6.77	1.96	32	4	17 febbraio	15
Tenente	1.28	26.57	4.89	1.30	0	0	15 febbraio	18
Cicerchia	1.23	37.83	4.21	1.59	20	0	20 febbraio	12
Irene Lanzolla	1.13	25.57	4.58	1.17	12	0	11 febbraio	17
Santoro	1.09	35.25	5.22	1.84	12	0	17 febbraio	16
Giunco di Cozze di Ostuni	1.04	31.21	4.51	1.41	0	0	8 febbraio	15
Montrone	1.02	25.77	6.08	1.57	4	4	2 febbraio	17

## REPERIMENTO, CARATTERIZZAZIONE, CONSERVAZIONE E VALORIZZAZIONE DEL GERMOPLASMA OLIVICOLO

**CRA-OLI - Centro di Ricerca per l'Olivicoltura e l'Industria Olearia – Rende (CS)**

*Enzo Perri*

### **Introduzione**

In riferimento al lavoro svolto in passato nell'ambito di questo Progetto di Ricerca, risulta doveroso ringraziare, anzitutto, il Dr. Nicola Lombardo, già responsabile dell'Unità Operativa afferente presso il CRA-OLI, collocatosi in pensione dal settembre scorso.

Per maggior chiarezza espositiva, i diversi aspetti relativi alle finalità del Progetto vengono di seguito presentati separatamente, con la sequenza logica indicata nel titolo.

- Reperimento di nuovo germoplasma olivicolo

La collezione del germoplasma olivicolo del CRA-OLI ubicata a Mirto (CS), tra le 13 collezioni riportate in letteratura (*Olive germplasm cultivars and world-wide collection*, FAO 1998), è quella che vanta il maggior numero di accessioni: ad oggi ne sono presenti 616 di cui 562 italiane e 54 estere. Delle accessioni italiane, 405 sono cultivar a se stanti, mentre 157 rappresenterebbero differenti cloni di varietà tra le più diffuse. Da ricerche bibliografiche effettuate, le cultivar italiane sarebbero 822. Di conseguenza, pur considerando la possibilità di sinonimie, il numero di entità in collezione dovrebbe essere ulteriormente incrementato.

Nel corso del 2008 non sono state messe a dimora nuove cultivar. Tuttavia, ci si sta attivando, attraverso contatti con Istituzioni scientifiche, vivai e singoli olivicoltori, al fine di individuare, selezionare e introdurre in collezione nuove varietà. Tale ricerca è rivolta al reperimento sia di cultivar, anche minori, autoctone di areali olivicoli italiani (sia del sud che del centro-nord) ed esteri, che di individui plurisecolari.

- Caratterizzazione delle cultivar presenti in Collezione

#### *Caratterizzazione morfo-bio-agronomica*

Lo studio dei caratteri morfologici e bioagronomici delle singole varietà, coltivate *ex situ* nello stesso appezzamento, ossia nelle medesime condizioni pedoclimatiche e colturali, escludendo la variabilità associata a questi aspetti, permette una corretta comparazione dei risultati consentendo di attribuire le differenze riscontrate tra le cultivar essenzialmente al loro genotipo.

In continuità con il lavoro eseguito negli anni precedenti, questa Unità Operativa nel corso del 2008 ha proceduto a effettuare, nelle epoche opportune e su un cospicuo numero di cultivar, tutti i rilievi elaiografici e bioagronomici previsti. Tali rilievi vengono validati riscontrandoli per diverse annate. Al momento, nell'ambito della collezione, i dati ottenuti risultano sufficientemente attendibili e definitivi per circa 200 varietà; per altre 140 circa, i risultati possono essere considerati provvisori, per cui sono stati ripetuti anche quest'anno. Per quelle, circa 120, di più recente impianto (2004-2005) sono stati effettuati i primi rilievi.

Nello specifico, per quanto concerne la caratterizzazione morfologica, sono state eseguite le osservazioni e le misurazioni relative ai 36 caratteri previsti dalla già collaudata scheda elaiografica proposta dal C.O.I. come sviluppo della scheda UPOV; tali caratteri, strutturati attraverso descrittori quantitativi e qualitativi, che per brevità non elenchiamo, sono relativi all'albero nel suo complesso e ai singoli organi: foglie, rami fruttiferi, infiorescenze, drupe ed endocarpi; 15 tra i caratteri esaminati sono considerati altamente discriminanti in quanto prevalentemente ereditari e poco influenzati dall'ambiente.

#### *Caratterizzazione dei prodotti*

Nel corso della campagna di raccolta, nella scorsa stagione è stata effettuata la caratterizzazione qualitativa degli oli di 120 cultivar: per ciascuna, nell'epoca ritenuta più opportuna con riferimento allo stadio di invaiatura delle drupe, è stato prelevato un campione per l'estrazione dell'olio mediante minifrantoio. Per ciascun olio monovarietale ottenuto è stata quindi determinata la composizione acidica e il contenuto in sostanze antiossidanti (polifenoli e tocoferoli).

Per molte di queste varietà, a distanza di 30-40 giorni dal primo, è stato effettuato un secondo campionamento al fine di verificare la variazione del tenore dei suddetti composti nel corso della maturazione. I risultati delle suddette ricerche fino al 2008, sono e saranno ancora curati dal Dr. Lombardo, chi ha programmato di pubblicare un Catalogo che raccolga tutte le schede finora realizzate.

## Caratterizzazione molecolare

Alla caratterizzazione morfologica e bioagronomica si affianca, ormai da diversi anni, la caratterizzazione molecolare, indispensabile per l'individuazione di casi di sinonimia e omonimia, per gli studi filogenetici e per il calcolo delle distanze genetiche tra le diverse entità.

Per la caratterizzazione molecolare, visti i buoni risultati ottenuti grazie all'elevato grado di eterozigosità della specie, si stanno utilizzando i marcatori microsatellite o SSRs (*Simple Sequence Repeats*). Pertanto, nel corso del 2008, i risultati delle ricerche hanno riguardato la genotipizzazione a livello di nove loci microsatellite nucleari, condotta su 125 accessioni, corrispondenti alla maggior parte del germoplasma olivicolo autoctono di quattro regioni dell'Italia Meridionale (Basilicata, Calabria, Puglia e Sicilia).

Da tessuti fogliari congelati in azoto liquido e conservati a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  è stato estratto il DNA mediante protocollo CTAB modificato. Le piante di olivo sono state genotipizzate a livello di nove loci microsatelliti nucleari, selezionati tra quelli presenti in letteratura (tabella 1). I prodotti di amplificazione sono stati analizzati mediante lo strumento *2100 Bioanalyzer* usando il kit *DNA 500 LabChip*, che fornisce direttamente le dimensioni dei prodotti di amplificazione. I dati ottenuti sono stati elaborati mediante l'uso del programma statistico POPGENE 32. Il programma permette di calcolare il numero di alleli ( $N_a$ ), la loro frequenza ( $f_a$ ), l'eterozigosità osservata ( $H_o$ ) e quella attesa ( $H_e$ ). La probabilità di allele nullo ( $r$ ) viene calcolata secondo la formula  $r = (H_e - H_o) / (1 + H_e)$ . I risultati dell'identificazione degli alleli vengono usati per creare una matrice qualitativa di presenza (1) o assenza (0) e usata per l'elaborazione statistica col programma NTSYS-PC (versione 1.80;). Il programma, utilizzando il coefficiente di Dice elabora una matrice di similarità che viene utilizzata per la costruzione del dendrogramma con l'algoritmo UPGMA.

## Risultati e discussione

I nove *primers* microsatellite hanno prodotto, per tutte le accessioni oggetto di studio, un profilo allelico basato sul numero e sulla dimensione dei frammenti microsatellite. Tutti e nove i loci analizzati sono risultati polimorfici e il numero totale di alleli amplificati è stato di 59 con un valore medio di 6,6 alleli per locus, con un *range* che varia da un minimo di 3 alleli per il locus UDO01 a un massimo di 12 alleli per il locus UDO39 (tabella 1). Questi valori sono comparabili al numero di alleli rilevati da Belaj *et al.* (2004) che utilizzano lo stesso numero di loci SSR, anche se un diverso set di *primers* e un minor numero di varietà di olivo appartenenti però ad un areale molto più ampio e diversificato rispetto a quelle del presente lavoro.

I valori di eterozigosità osservata ( $H_o$ ) risultano essere maggiori rispetto a quella attesa ( $H_e$ ) per i loci GAPU59, GAPU71B ed UDO12, mentre sono notevolmente inferiori per i loci UDO01, UDO03 e UDO39. Il potere discriminante dei loci SSR analizzati varia da 0,47 per UDO01 a 0,91 per GAPU103A. Il basso valore di eterozigosità osservata del locus UDO01 corrisponde a una elevata probabilità di allele nullo, confermata anche dal basso potere discriminante (tabella 1).

**Tabella 1. Loci SSR ottenuti su 125 accessioni di olivo delle regioni Basilicata, Calabria, Puglia e Sicilia. Per ogni locus sono riportati: il numero di alleli rilevati ( $N_a$ ), eterozigosità attesa ( $H_e$ ), eterozigosità osservata ( $H_o$ ), la probabilità di allele nullo ( $r$ ) e il potere discriminante ( $PD$ ).**

Locus	$N_a$	$H_e$	$H_o$	$r$	$PD$
GAPU59	5,0	0,65	0,69	-0,02	0,81
GAPU71A	9,0	0,60	0,42	0,11	0,76
GAPU71B	5,0	0,72	0,89	-0,10	0,80
GAPU103A	7,0	0,80	0,78	0,01	0,91
UDO01	3,0	0,45	0,05	0,28	0,47
UDO03	6,0	0,66	0,08	0,35	0,69
UDO12	4,0	0,68	0,75	-0,04	0,74
UDO28	8,0	0,76	0,62	0,08	0,90
UDO39	12,0	0,79	0,33	0,26	0,86

Tra le accessioni analizzate, gli alleli che mostrano una bassa frequenza allelica ( $f_a$ ) pari a 0,004 (tabella 2) vengono considerati alleli unici, presenti cioè in una sola accessione. Tali alleli sono: allele di 228 coppie di basi (bp) del locus GAPU71A riscontrato in 'Cellina di Nardò' (Puglia); allele di 259 bp del locus GAPU71A, presente in 'Bottone di Gallo' (Sicilia); allele di 205 bp del locus GAPU103A, riscontrato in 'Carpinella' (Basilicata), e l'allele di 125 bp del locus UDO39, presente in 'Rizza' (Basilicata). Molto polimorfici sono risultati anche gli alleli che presentano una frequenza pari a 0,008, presente cioè, in sole due accessioni tra quelle oggetto di studio. Questi sono: l'allele 221 bp di GAPU71A, riscontrato nelle accessioni 'Mafra di Cerchiara' (Calabria) e 'Scarpetta' (Basilicata), l'allele 157 bp del locus UDO28, presente nelle accessioni 'Cornacchiola' e 'Carpinella' (entrambe della Basilicata); infine, l'allele 243 bp di UDO39 riscontrato nelle

accessioni 'Cornula' (Puglia) e 'Racioppa 1' (Basilicata). Mentre, l'allele riscontrato con maggiore frequenza ( $f_a=0,712$ ) e quindi poco polimorfo, risulta essere di 143 bp del locus UDO01.

Sono stati identificati quattro casi di omonimia, piante denominate con lo stesso nome ma che hanno evidenziato profili molecolari differenti. Questi casi sono rappresentati dalle accessioni: 'Faresana' (1 e 2), entrambe della regione Basilicata che si differenziano per tre loci microsatellite; 'Ogliarola del Bradano' (1 e 2), entrambe della Basilicata che si differenziano per cinque loci SSR; 'Racioppa' (1 e 2), anch'esse della Basilicata che si differenziano per sette loci, e infine, la 'Romanella 1' della Basilicata e la 'Romanella 2' della Calabria che si differenziano per otto loci. Dai valori di similarità genetica ottenuti col coefficiente di Dice, sono emersi anche casi di probabile sinonimia (v.s.=1,00, figura 1), alcuni già noti in letteratura. Questi riguardano le accessioni: 'Nerba catanese' e l'"Olivo di Castiglione"; 'Giarrappa' e 'Pizzo di Corvo' e un gruppo comprendente quattro accessioni: 'Ogliarola barese' = 'Ogliarola garganica', = 'Ogliarola del Bradano 2' = 'Ogliarola di Montalbano'. Alti valori di similarità genetica sono stati osservati anche tra le accessioni 'Monaca' e 'Vaddara' (v.s.=0,968) entrambe della regione Sicilia; tra la 'Nerba' e il genotipo della 'Nerba Catanese' e/o dell'"Olivo di Castiglione' (v.s.=0,929) tutte accessioni siciliane; tra la 'Carolea' e la 'Carolea Cefaly' (v.s.=0,929) e tra la 'Carolea Citraro' e la 'Carolea Rossi' (v.s.=0,929) tutte accessioni calabresi. Il più basso valore della similarità genetica (v.s.=0,133) è stato riscontrato tra le accessioni: 'Cornacchiola' (Basilicata) e 'Racioppa 1' (Basilicata), 'Mora' (Puglia) e 'Carpinella' (Basilicata), 'Demoniata' (Sicilia) e 'Santomauro' (Calabria), 'Demoniata' (Sicilia) e 'Tonda di Filadelfia' (Calabria), 'Romanella 2' (Calabria) e 'Spinoso' (Basilicata).

**Tabella 2: Loci SSR ottenuti su 125 accessioni analizzate. Per ogni allele sono riportati: le dimensioni (espresse in coppie di basi) e la frequenza allelica ( $f_a$ ) calcolata usando il programma POPGENE 32.**

Locus	Alleli (bp)	$f_a$	Locus	Alleli (bp)	$f_a$	Locus	Alleli (bp)	$f_a$	
GAPU59	208	0.266	GAPU71B	125	0.373	UDO01	140	0.167	
	212	0.496		127	0.087		143	0.706	
	214	0.020		128	0.079		150	0.127	
	218	0.036		131	0.107	UDO12	166	0.377	
	222	0.182		145	0.353		177	0.298	
GAPU71A	210	0.198	GAPU103A	136	0.099	UDO12	182	0.028	
	212	0.127		150	0.119		193	0.298	
	214	0.579		UDO28	157	0.075	UDO39	108	0.107
	218	0.020			159	0.294		125	0.004
	221	0.008			170	0.190		165	0.032
	224	0.048			186	0.218		170	0.036
	228	0.004			205	0.004		182	0.020
	250	0.012			UDO39	143		0.254	200
259	0.004	150	0.020	205		0.385			
UDO03	135	0.036	UDO28	154	0.167	209		0.024	
	143	0.432		157	0.008	213	0.171		
	150	0.385		161	0.020	220	0.048		
	166	0.040		182	0.353	232	0.048		
	182	0.032		205	0.131	243	0.008		
	202	0.075		210	0.056				

Dal dendrogramma ottenuto con il metodo UPGMA utilizzando la matrice di similarità (figura 1), non è possibile evidenziare *cluster* costituiti da accessioni legate al loro areale di origine. Questo probabilmente è dovuto ai numerosi e continui scambi di materiale vegetale tra queste quattro regioni dell'Italia meridionale. Si può comunque evidenziare che la parte alta del dendrogramma è costituito prevalentemente da entità siciliane mentre, nella parte bassa sono concentrate le accessioni calabresi. Infatti, il *cluster* indicato con (I) è costituito da 15 accessioni siciliane ('Abunara', 'Cerasuola', 'Cacaredda', 'Lumiaru', 'Tunnulidda', 'Ogliarola messinese', 'Moresca', 'Nerba', 'Nerba catanese', 'Olivo di Castiglione', 'Nocellara messinese', 'Cacazzara', 'Nocellara etnea', 'Passulunaru' e 'Pidicuddara'). Il *cluster* indicato con (II) è costituito da 26 accessioni di cui ben 21 sono di origine calabrese ('Borgese', 'Carolea', 'Carolea Cefaly', 'Carolea Cetraro', 'Carolea Rossi', 'Dolce di Cerchiara', 'Spezzanese', 'Romanella 2', 'Nera di Cantinella', 'Tonda di Strongoli', 'Tonda di Filadelfia', 'Cariola', 'Tonda Dolce', 'Geracese', 'Tombarello', 'Pennulara', 'Rossanense', 'Zinzifarica', 'Nostrana', 'Ottobratica' e 'Tonda di Filogaso'), da 4 accessioni della Basilicata ('Carpinella', 'Cornacchiola', 'Giusta' e 'Ogliarola del Vulture') e da una sola pugliese ('Peranzana'). Le accessioni 'Coratina' (Puglia), 'Fasolina', 'Fasolona' e 'Scarpetta' (Basilicata) sono ben separate dalle rimanenti accessioni e probabilmente



## Numero Speciale "Progetto RGV/FAO" 1-2/2009

perchè sono state introdotte nelle loro regioni di origine in tempi diversi. Infine, le rimanenti accessioni di olivo sono riunite nella parte centrale in cui non si osserva una chiara correlazione tra le accessioni dei vari *cluster* e il loro areale di origine.

I risultati ottenuti nel lavoro effettuato nel 2008, testimoniano la ricchezza della variabilità del germoplasma di olivo di queste quattro regioni dell'Italia meridionale. Non è possibile evidenziare *cluster* costituiti da accessioni legate al loro areale di origine probabilmente perchè sono avvenuti numerosi e continui scambi di materiale vegetale tra queste quattro regioni. Infine, tali risultati confermano che i marcatori molecolari microsatellite sono sufficientemente efficaci nel realizzare la genotipizzazione del germoplasma olivicolo selezionato.

- Conservazione del germoplasma

Il reperimento e l'introduzione in Collezione di cultivar a diffusione molto limitata è importante, non solo per la loro caratterizzazione, ma anche e soprattutto per la salvaguardia di tali entità genetiche dal rischio di estinzione. In questa direzione, c'è ancora molto lavoro da fare.

Si auspica che in tempi brevi, il nostro Centro possa dotarsi anche di una *screen house* per la conservazione del materiale genetico in condizioni protette dal punto di vista sanitario.

Riguardo il mantenimento delle piante, che in Collezione superano ormai le 2400 unità, la razionale conduzione agronomica nelle sue varie pratiche (gestione del suolo, potatura, raccolta, irrigazione, concimazione, difesa fitosanitaria etc.) richiede una mole di lavoro notevole a cui, per carenza di personale, si riesce a far fronte con crescente difficoltà: per il mantenimento e l'ampliamento della Collezione sarebbe quindi indispensabile l'apporto di nuove forze.

Avendo appurato nello scorso autunno che, a causa di numerose fallanze, molte varietà di recente introduzione erano presenti in campo con soltanto 1-2 esemplari, è stato avviato un programma di "rimpiazzo" che ha lo scopo di assicurare, per ogni cultivar presente in collezione, almeno 4 individui, numero congruo anche ai fini dell'attendibilità dei rilievi effettuati. A tal fine, si è predisposta la propagazione per talea di 128 unità.

- Valorizzazione del germoplasma

Lo studio e la valorizzazione delle entità genetiche presenti in Collezione, hanno permesso la divulgazione di numerosi risultati delle ricerche, frutto di lavoro spesso pluriennale, attraverso le seguenti pubblicazioni, circoscritte al 2008:

### **Pubblicazioni:**

ALESSANDRINO M., GODINO G., LOMBARDO L., MADEO A., MUZZALUPO I. 2008. *Caratterizzazione bio-agronomica di 7 cultivar di olivo sarde nel Campo Collezione del germoplasma olivicolo in Calabria*. Atti 'VIII° Convegno nazionale sulla Biodiversità', Lecce.

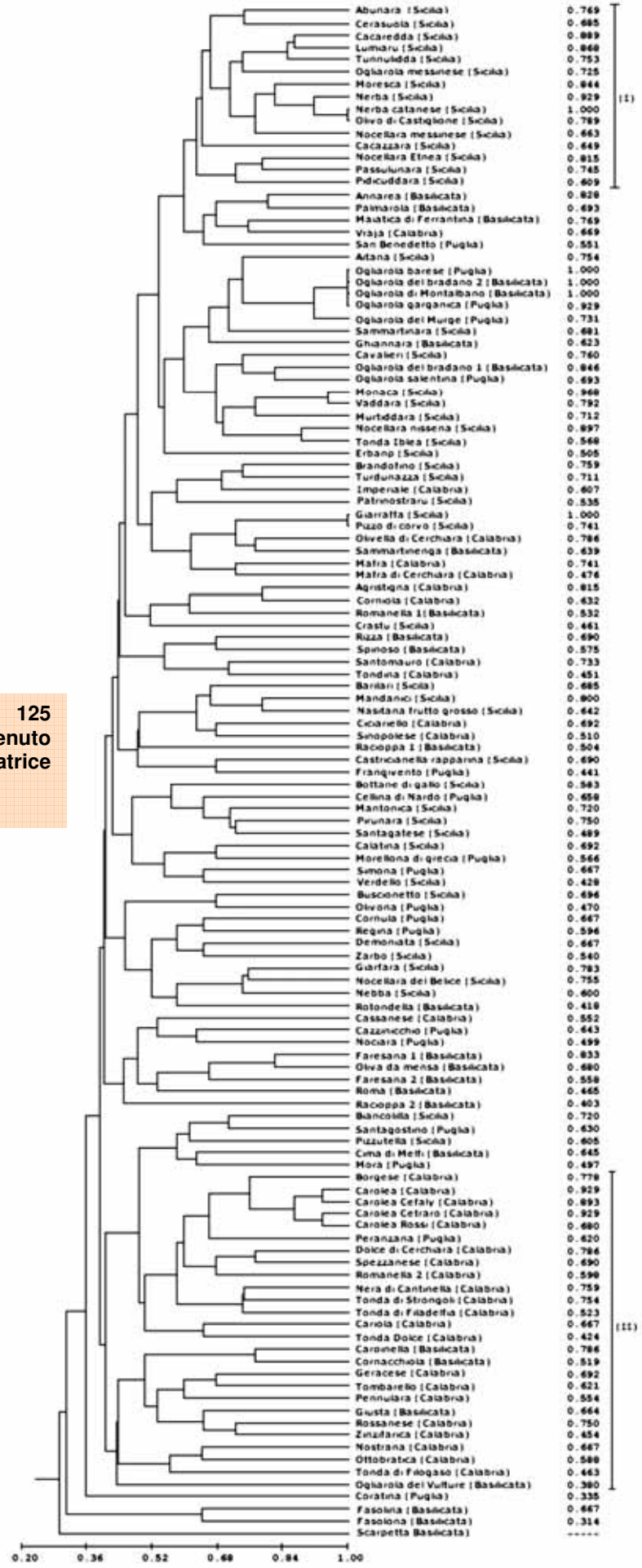
CARAVITA M.A., CURCIO I., ALESSANDRINO M., BENINCASA C., DE ROSE F., GODINO G., MADEO A., MUZZALUPO I., PELLEGRINO M., PERRI E., ROMANO E. 2008. *Omega-3/omega-6 fatty acids ratio in olive oils from Italian olive varieties*. First Symposium on Horticulture in Europe, Vienna 17-20 february (in press).

LOMBARDO N., MARONE E., ALESSANDRINO M., GODINO G., MADEO A., FIORINO P. 2008. *Influence of growing season temperatures in the fatty acids (FAs) of triacylglycerols (TAGs) composition in Italian cultivars of Olea europaea* - "Advances in Horticultural Science" 22(1) 2008 (pagg. 49-53).

LOMBARDO N., ALESSANDRINO M., GODINO G., LOMBARDO L., MADEO A. 2008. *Il germoplasma olivicolo del Molise: contenuto e composizione dell'olio di 14 cultivar locali*. Atti 'VIII° Convegno nazionale sulla Biodiversità', Lecce, 22/23 aprile 2008.

MADEO A., PERRI E., ALESSANDRINO M., CILIBERTI A., PARISE A., ROMANO E. 2008. *Comparative study on the behavior of olive cultivars from different origins cultivated in the same environment, with regard to some important characteristics of the olive oil produced*. VI International Symposium on Olive Growing, Evora (Portugal).

Fig. 1: Dendrogramma di 125 accessioni esaminate ottenuto dall'elaborazione UPGMA della matrice di similarità genetica di Dice (1945)



## CONSERVAZIONE, DOCUMENTAZIONE E VALORIZZAZIONE DI ACCESSIONI OLIVICOLE AUTOCTONE NELLA REGIONE ABRUZZO

**CRA-OLI - Centro di Ricerca per l'Olivicoltura e l'Industria Olearia – Città Sant'Angelo (PE)**

*Giovanna Vlahov, Barbara Lanza, M.G. Di Serio*

La relazione tecnica sulla attività di ricerca condotta nella 3° Annualità del I Triennio del Progetto 'RGV/ FAO', riguarda le attività condotte in accordo con le seguenti tre linee di ricerca relative a:

- Impiego della Spettroscopia  $^{13}\text{C}$  NMR per lo studio delle componenti delle cere epicutcolari del frutto oliva;
- Studio della ultrastruttura delle cere epicutcolari mediante Microscopia Elettronica a Scansione (SEM);
- Caratterizzazione morfofisiologica delle cultivars autoctone collezionate presso il CRA-OLI Sede Scientifica di Pescara con catalogazione e documentazione dei descrittori morfologici;

Di seguito vengono riportate in dettaglio le attività scientifiche svolte nell'ambito delle tre linee di ricerca.

- Impiego della Spettroscopia  $^{13}\text{C}$  NMR per lo studio delle componenti delle cere epicutcolari del frutto oliva

In relazione alla linea di ricerca che prevede l'impiego della Spettroscopia  $^{13}\text{C}$  NMR per lo studio delle componenti delle cere epicutcolari del frutto oliva, la spettroscopia NMR  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  è stata applicata per la determinazione dei profili compositivi delle frazioni apolare e polare isolate mediante cromatografia su colonna dal campione di cere estratto con cloroformio dai frutti oliva della cultivar 'Dritta'.

Il primo dato rilevante riguarda la completa assegnazione delle risonanze degli spettri  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  della frazione apolare mediante lo studio delle diverse frequenze di risonanza dei nuclei carbonio-13 con particolare riferimento ai carboni carbossilici C=O che risuonano nel *range* di frequenze 172.5 – 174.3 ppm, ai carboni olefinici C=C nel *range* di frequenze 127 – 137 ppm, ai carboni metilenici e metilici nel *range* di frequenze 13 – 35 ppm.

Viene evidenziato il dato analitico rilevante conseguibile solo operando con la spettroscopia  $^{13}\text{C}$  NMR relativo al calcolo dei rapporti quantitativi delle diverse forme esteree presenti nella frazione apolare delle cere epicutcolari, e in particolare gli alchil esteri, i benzil esteri e i trigliceridi.

Con riferimento agli alchil e benzil esteri, viene determinata mediante lo spettro  $^{13}\text{C}$  NMR, la composizione in acidi grassi di tali esteri in relazione al loro grado di insaturazione corrispondente agli acidi grassi saturi (C n:0), acidi grassi monoinsaturi (acido oleico C 18:1  $\Delta^9\text{cis}$ ), acidi grassi poliinsaturi (acido linoleico C 18:2  $\Delta^9,12$  cis).

Con riferimento agli esteri gliceridici (trigliceridi) vengono determinate mediante lo spettro  $^{13}\text{C}$  NMR, le composizioni in acidi grassi dei trigliceridi in funzione delle diverse catene aciliche (acidi grassi saturi, acido oleico) e in funzione della posizione di tali catene nei trigliceridi (posizioni 1,3- e posizione 2- del glicerolo).

Ma il dato qualificante della ricerca è la assegnazione delle risonanze delle componenti terpeniche maggioritarie delle cere epicutcolari del frutto oliva, quali gli acidi triterpenici oleanolico e maslinico che costituiscono la frazione polare isolata mediante CC dalle cere epicutcolari del frutto oliva.

L'assegnazione delle risonanze è stata eseguita con il supporto della spettroscopia  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  1D (monodimensionale) anche con l'impiego di spettri di *non-selective polarization transfer* per la determinazione delle  $\text{CH}_n$  molteplicità (C, CH, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>), e con il supporto della spettroscopia NMR 2D (bidimensionale) con l'applicazione di esperimenti di *proton-proton shift correlation* ( $^1\text{H}$  COSY) e di *carbon-proton shift correlation* (HETCOR, HMQC, HSQC).

E' stato raggiunto l'obiettivo della completa assegnazione dei *chemical shifts* degli acidi oleanolico e maslinico presenti in miscela dove assume rilevanza analitica la completa assegnazione dei metili (CH<sub>3</sub>) dei due acidi triterpenici, che ha reso possibile la determinazione dei rapporti quantitativi degli acidi oleanolico e maslinico.

I risultati ottenuti rappresentano una assoluta innovazione nel settore dell'analitica delle cere epicutcolari dove la Spettroscopia  $^{13}\text{C}$  NMR applicata per la prima volta allo studio delle componenti di cere epicutcolari in miscela, consente di registrare gli spettri direttamente sul campione di cere eliminando ogni ulteriore necessità di reazioni chimiche quali la derivatizzazione delle componenti organiche per il successivo passaggio analitico in gas-cromatografia.



- Studio della ultrastruttura delle cere epicutcolari mediante Microscopia Elettronica a Scansione (SEM)

Le cere epicutcolari sono sintetizzate nell'epidermide delle piante da complessi enzimatici che, attraverso reazioni di allungamento-riduzione-decarbossilazione, producono catene ad alto numero di atomi di carbonio. Tali sostanze svolgono un ruolo attivo nel mantenimento del bilancio osmotico attraverso la riduzione della traspirazione, svolgendo quindi un ruolo primario nella reazione della pianta allo stress idro-salino. E' stata poi ipotizzata sia un'azione attiva (effetto repellente) sia un'azione passiva (effetto barriera) di difesa nei confronti di fitopatogeni, svolgendo quindi un ruolo importante anche nelle reazioni della pianta agli stress biotici. Le cere epicutcolari mostrano una grande diversità ultrastrutturale.

Frutti di oliva (*Olea europaea* L.) provenienti da cultivar abruzzesi sono stati raccolti in tre differenti stadi di maturazione (verdi, invaiate e nere). Le cuticole sono state separate dal resto del frutto, direttamente adagiate sugli *stubs*, essiccate in stufa a 30°C e ricoperte con un sottile strato in oro (25 nm) mediante *sputter coater* (Balzers SCD 040). Per evitare alterazioni della struttura cristallina, non sono state applicate le procedure standard di fissazione e disidratazione dei campioni. Campioni rappresentativi sono stati osservati al Microscopio Elettronico a Scansione (Philips XL 20) e poi fotografati.

Le principali strutture riscontrate, basandosi sulla classificazione adottata da Barthlott *et al.* (1998), sono di tipo cristalloide: a) placchette membranose, b) placchette sparse, c) placche riunite in rosette, d) placchette orientate parallelamente, e) placchette raggruppate (Fig. 1).

La loro micromorfologia è determinata dalla loro composizione chimica: placchette e placche sono spesso dominate da alcoli primari e triterpenoidi.

- Caratterizzazione morfofisiologica delle cultivar autoctone collezionate presso il CRA-OLI Sede Scientifica di Pescara con catalogazione e documentazione dei descrittori morfologici

Nell'ambito del Progetto sono state realizzate le Schede Elaiografiche delle principali cultivar autoctone presenti sul territorio abruzzese e a rischio di erosione ('Dritta', 'Francavillese', 'Carboncella', 'Castiglione', 'Carpinetana', 'Gentile di Chieti' e 'Intosso e Nebbio'). I rilievi inerenti le caratteristiche morfologiche e i comportamenti agronomici sono stati effettuati su piante adulte collocate all'interno dei campi sperimentali del CRA-OLI Sede di Città Sant'Angelo seguendo la metodologia adottata dal COI per la compilazione del "Catalogo Mondiale delle Varietà di Olivo".

La scheda si compone di tre parti:

1. Dati di passaporto;
2. Caratteri morfologici;
3. Caratteri bio-agronomici.

La Fig. 2 riporta, come esempio, la scheda elaiografica della cv 'Dritta'.

I rilievi sono stati eseguiti nel corso dei tre anni di Progetto, mediante sopralluoghi periodici durante tutto il ciclo di fruttificazione, inteso come periodo che va dalla differenziazione delle gemme fiorifere alla maturazione fisiologica del frutto, interessando 10 piante per varietà.

Le foglie adulte osservate per ciascuna varietà sono state una quarantina, prese all'altezza dell'osservatore nella zona media dei germogli dell'annata e tra i più rappresentativi della pianta nella parte esposta a Sud.

La lunghezza media di un'infiorescenza è stata determinata su un campione di 40 infiorescenze allo stato di "bocciolo bianco", prese dal tratto mediano dei rami fruttiferi dell'anno anteriore, scelti tra i più rappresentativi della pianta nella parte esposta a Sud. Inoltre, sulle stesse sono state effettuate tutte le altre misurazioni riguardanti gli altri caratteri morfo-fisiologici.

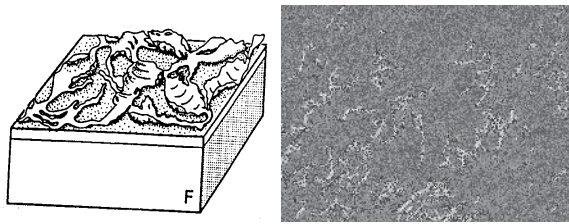
I rilievi sul frutto sono stati eseguiti nel corso della maturazione prelevandoli nella zona intermedia dei rami fruttiferi, scelti tra i più rappresentativi della pianta e sempre nella parte esposta a Sud, eliminando i frutti malformati o anormalmente piccoli e grossi rispetto all'insieme della popolazione presente.

La descrizione dell'endocarpo, fondamentale per l'identificazione varietale in quanto i caratteri sono di alto potere discriminante, è stata eseguita sui medesimi frutti.

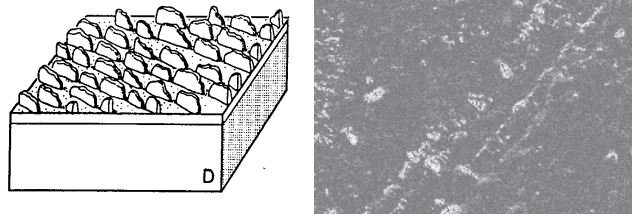
**Pubblicazioni:**

VLAHOV G., RINALDI G., DEL RE P., GIULIANI A.A. 2008. <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance spectroscopy for determining the different components of epicuticular waxes of olive fruit (*Olea europaea*) Dritta cultivar. *Analytica Chimica Acta* 624:184-194.

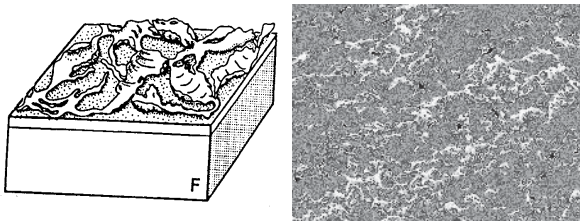
**Fig. 1: Cere epicutcolari di cultivar abruzzesi di *Olea europaea* L.: Schema da Barthlott et al. (1998) e Micromorfologia**



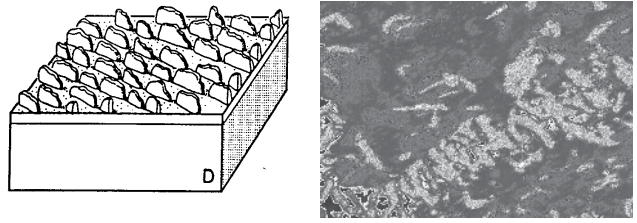
**Placchette membranose (Carboncella)**



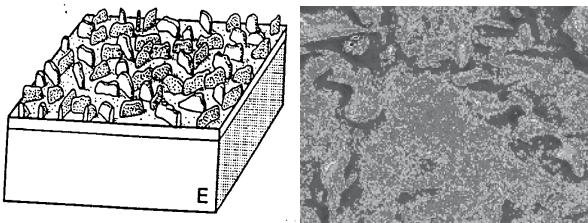
**Placchette orientate parallelamente (Carboncella)**



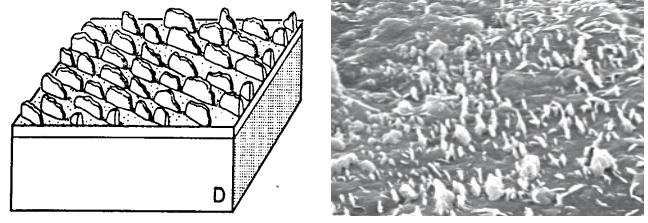
**Placchette membranose (Dritta)**



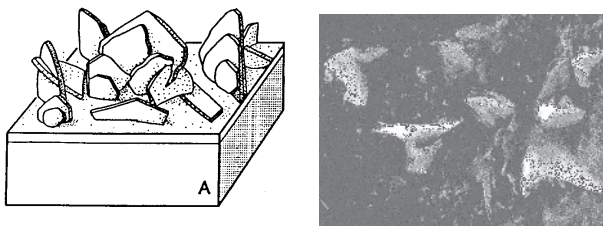
**Placchette orientate parallelamente (Castiglione)**



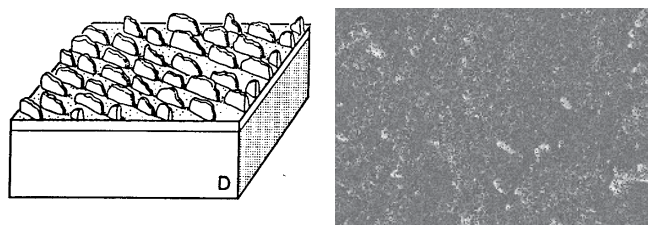
**Placchette sparse (Gentile di Chieti)**



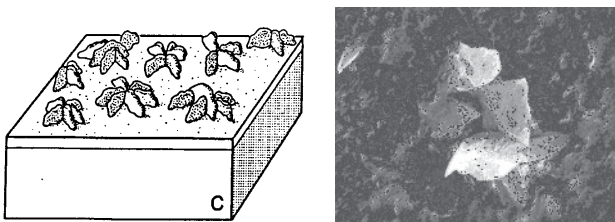
**Placchette orientate parallelamente (Dritta)**



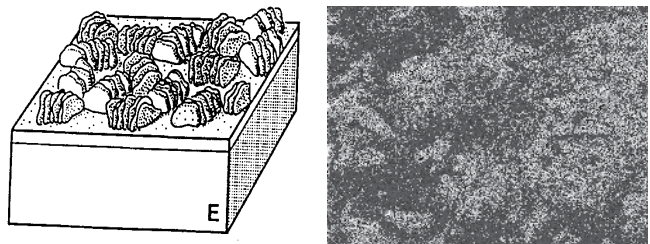
**Placche sparse (Carboncella)**



**Placchette orientate parallelamente (Gentile di Chieti)**



**Placche riunite in rosette (Carboncella)**



**Placchette raggruppate (Castiglione)**

Fig. 2: Scheda elaiografica della cv 'Dritta'

**DATI DI PASSAPORTO:**

**Principali aree di coltivazione :** molto diffusa in tutta l' Abruzzo, in particolar modo nella provincia di Pescara nei comuni di Loreto, Moscufo, Penne e Pianella. Coltivata sia in impianti specializzati monovarietali che in consociazione ad altre varietà.

**Uso del frutto:** varietà da olio che si adatta bene anche alla costituzione di oliveti intensivi, utilizzata a maturazione completa come oliva da mensa (ricette locali)

**Sinonimi:** Loretana, Moscufese

**CARATTERI MORFOLOGICI**

Albero

**Vigoria:** media

**Portamento della chioma:** espanso

**Densità della chioma:** media

Ramo fruttifero

**Portamento:** tendenzialmente eretto

**Lunghezza:** lunga

**Lunghezza degli internodi:**

corta ( < 1 cm)

medio-corta ( 1-1,7 cm)

media ( 1,7-2,3 cm)

medio-lunga ( 2,3-3 cm)

lunga ( >3 cm) **valore medio 3,6 cm**

Foglia

**Lunghezza (L):**

corta ( >5 cm)

media ( 5-7 cm) **valore medio 5,3 cm**

lunga ( > 7 cm)

**Larghezza (A):**

stretta ( < 1 cm)

media ( 1-1,5 cm) **valore medio 1,5 cm**

larga ( > 1,5 cm)

**Forma (L/A):** ellittica

**Curvatura longitudinale della lamina fogliare:** piana

**Posizione della larghezza massima:** centrale

**Colore della pagina superiore:** verde scuro lucente con caratteristica di avere l'apice pungente

**Colore della pagina inferiore:** grigio

**Colore delle venature:** verde chiaro

Infiorescenza

**Struttura:** compatta

**Lunghezza totale:**

corta ( < 25mm)

media ( 25-35 mm) **valore medio 28 mm**

lunga ( >35 mm)

**Numero medio dei fiori:**

basso ( < 18) **valore medio 17**

medio ( 18-25)

alto ( >25)

**Epoca di fioritura:** precoce

**Aborto ovario:** 20%

**Allegagione:** fine giugno

Frutto

**Lunghezza (L):**

corta (<1,8 cm)

media (1,8-2,1 cm) **valore medio 1,9 cm**

lunga ( >2,1 cm)

**Diametro massimo (A):**

stretto ( < 1,4 cm) **valore medio 1,4 cm**

medio ( 1,4-1,6 cm)

largo ( >1,6 cm)

**Forma (L/A):** ellittica

**Peso medio di 100 drupe:**

basso ( < 150 g)

medio (150-300 g) **peso medio per drupa di 2.60 g.**

alto (300-450 g)

molto alto ( > 450 g)

**Posizione del diametro massimo:** apicale

**Forma apice:** arrotondato

**Forma base:** arrotondata

Caratteristiche dell'epicarpo

**Presenza di lenticelle:** numerose e piccole nel frutto immaturo, mentre poco visibili a completa maturazione.

**Colore a maturazione:** violaceo

Caratteristiche del mesocarpo

**Rapporto tra polpa/ nocciolo:** medio

Caratteristiche dell'endocarpo

**Lunghezza (L):**

corta (<1,2 cm) valore medio 1,0 cm

media (1,2-1,4 cm)

lunga (>1,4 cm)

**Diametro massimo (A):**

stretto ( < 0,65 cm) valore medio 0,5 cm

medio (0,65-0,8 cm)

largo (>0,8 cm)

**Forma (L/A):** ellittica

**Peso di 100 noccioli:**

basso ( < 0,30 g)

medio (0,30-0,45 g) **valore medio 0,42 g**

alto (0,45-0,70 g)

molto alto (>0,70 g)

**Simmetria:** leggermente asimmetrico

**Posizione del diametro trasversale massimo del nocciolo rispetto all'inserzione:** apicale

**Superficie:** liscia

**Base:** arrotondata

**Apice:** appuntito

**Fasci fibrovascolari:** superficiali e inferiore a 7

**CARATTERI BIO-AGRONOMICI**

**Produttività:** elevata e costante

**Resa in olio:** medio- alta, con media nei tre anni di studio del 20%

**Epoca di raccolta:** inizio- metà Novembre

**Sensibilità al freddo:** scarsa

**Sensibilità ai parassiti vegetali o animali:** sensibile a occhio di pavone e mosca, resistente alla rogna

## SALVAGUARDIA, CARATTERIZZAZIONE, VALORIZZAZIONE E BIODIVERSITÀ DEL GENERE *VITIS*

**CRA – VIT Centro di Ricerca per la Viticoltura, Conegliano (TV)**

*Massimo Gardiman*

L'attività svolta durante il 2008, nell'ambito del progetto che vede l'U.O. impegnata nella salvaguardia, caratterizzazione e valorizzazione della biodiversità del genere *Vitis*, è continuata sulle linee principali di quella attuata nel precedente progetto "RGV/FAO" ed è stata sviluppata, come da programma, secondo due linee principali:

- Recupero, conservazione e caratterizzazione del germoplasma viticolo;
  - Studio delle potenzialità viticole ed enologiche di interessanti vitigni autoctoni per una loro valorizzazione e diffusione in coltura.
- Recupero, conservazione e caratterizzazione del germoplasma viticolo

E' stato curato il mantenimento delle oltre 4.000 accessioni presenti nelle collezioni *ex-situ* in pieno campo appartenenti al CRA-VIT e situate a Susegana (TV), Spresiano (TV) e Tormancina (Roma) e si è provveduto a effettuare alcuni dei rimpiazzi necessari al mantenimento del numero previsto di ceppi per accessione.

L'attività di ampliamento delle collezioni ha permesso l'acquisizione di 20 biotipi provenienti dal Lazio e di 5 nuove varietà iscritte al Registro Nazionale delle Varietà di Vite (RNVV). È stato inoltre recuperato il materiale legnoso di 40 biotipi provenienti da Armenia e Georgia, materiale che è stato caratterizzato dal punto di vista sanitario e molecolare, prima di essere avviato alla propagazione.



**Foto 1: Campo catalogo dell'azienda a Susegana del CRA-VIT**

Su tutte le accessioni raccolte a Susegana e Spresiano sono stati eseguiti i principali rilievi fenologici (germogliamento, fioritura, invaiatura e maturazione), mentre su un gruppo di 25 accessioni sono stati rilevati anche alcuni dei parametri produttivi più significativi (fertilità media potenziale e reale delle gemme, peso medio dell'acino e del grappolo, produzione media di uva per ceppo) e i principali parametri qualitativi del mosto (zuccheri, acidità, pH). Sono stati effettuati inoltre controlli visivi per valutare la presenza delle principali ampelopatie (funghi, virus, giallumi).

Venti accessioni sono state caratterizzate da un punto di vista ampelografico (80 caratteri della lista O.I.V.), ampelometrico (47 parametri fillometrici) e molecolare (11 loci SSR).

Relativamente alla gestione delle collezioni, oltre all'inserimento dei dati nel nuovo database e la continuazione della compilazione dei passport-data, è iniziato lo sviluppo di un ambiente GIS, utilizzando tre diversi software Open Source: *MapWindow* ([www.mapwindow.org](http://www.mapwindow.org)), *Qgis* ([www.qgis.org](http://www.qgis.org)) e *gvSIG* ([www.gvsig.gva.es](http://www.gvsig.gva.es)) e valutandone la rispondenza alle esigenze e la semplicità d'uso. Come primo approccio sono stati creati dei *layer* vettoriali georeferenziati contenenti le coordinate spaziali dei singoli ceppi delle accessioni presenti nella collezione di Susegana (Fig. 1). A tali coordinate è possibile associare qualsiasi altra informazione (attributi) relativa a un singolo ceppo (es. l'anno d'impianto, il ceppo di cui è stato analizzato il DNA o su cui sono state effettuate le analisi sanitarie, ecc.) in modo da consentire l'individuazione su una mappa cartografica od ortofotografica dei ceppi rispondenti a mirate *query* effettuate su qualunque tipo e numero di attributi. Dalle prime valutazioni il software *gvSIG* si è dimostrato il più rispondente alle esigenze; inoltre è disponibile anche in versione "mobile", utilizzabile su computer palmari o telefoni cellulari di ultima generazione, per cui il suo uso è particolarmente interessante anche per una applicazione direttamente in campo.

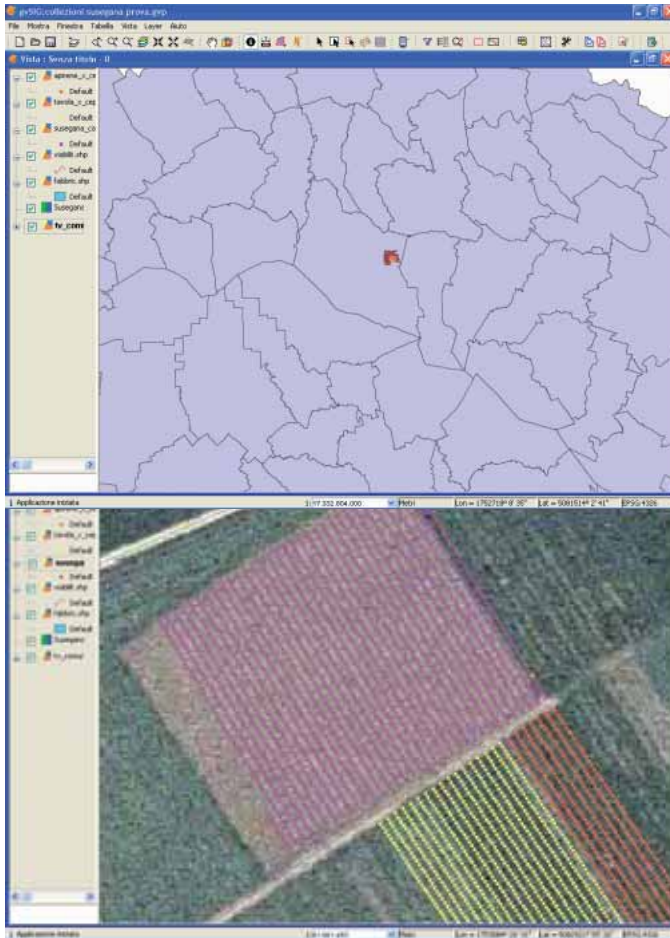
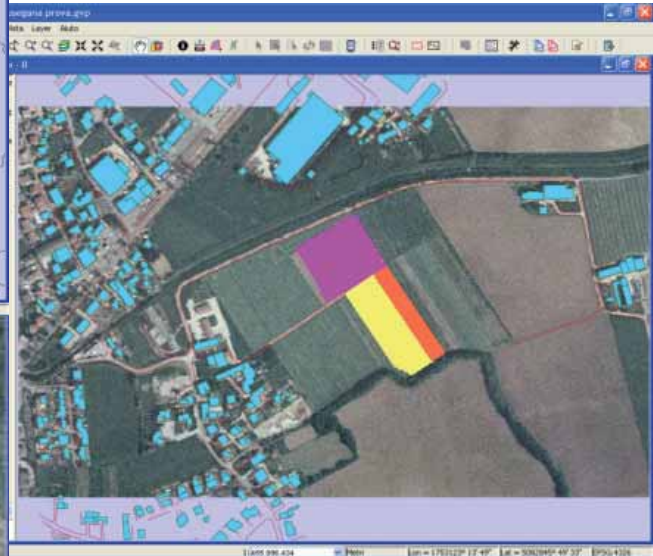


Fig. 1: Esempio gestione collezioni di Susegana utilizzando gvSIG "desktop" e "mobile"



- Studio delle potenzialità viticole ed enologiche di vitigni autoctoni

In una prima fase di questa linea di lavoro si è reso necessario apportare alcune modifiche alla lista delle varietà oggetto di studio, in quanto alcuni vigneti previsti in fase di stesura del programma, non sono risultati più disponibili. I vitigni scelti, caratteristici di un patrimonio viticolo locale e reputati particolarmente interessanti e meritevoli di essere sottoposti ad approfonditi studi volti alla valorizzazione delle loro potenzialità viticolo-enologiche, sono stati:

- 'Cianorie', 'Cividin', 'Fumat' e 'Sagrestana' in Friuli;
- 'Boschera', 'Cabrusina', 'Dindarella' e 'Grapariol' in Veneto;
- 'Lecinaro' e 'Maturano bianco' nel Lazio;
- 'Foglia tonda' in Toscana;
- 'Uvalino' in Piemonte;
- 'Frappato' e 'Nero Cappuccio' in Sicilia.

Quando possibile ciascuna varietà è stata seguita in due vigneti situati in due zone con caratteristiche eco-pedologiche diverse. Su queste varietà sono stati effettuati nel corso dell'anno i rilievi delle principali epoche fenologiche (germogliamento, fioritura, invaiatura, maturazione), dei principali parametri produttivi quantitativi (fertilità media reale e potenziale delle gemme, peso medio del legno di potatura per ceppo, produzione media di uva per ceppo, peso medio dell'acino e del grappolo) e qualitativi della bacca alla raccolta (zuccheri, acidità totale, acidità malica e tartarica, pH, antociani totali ed estraibili).

Di ogni vitigno è stata inoltre studiata l'evoluzione dei componenti macrostrutturali dell'acino (zuccheri e acidità titolabile totale) durante l'interfase invaiatura-raccolta, ed effettuati test ELISA per il rilevamento dei virus responsabili di maculatura infettiva (GFkV), complesso dell'arricciamento (ArMV, GFLV), complesso dell'accartocciamento (GLRaV 1, 2, 3) e complesso del legno riccio (GVA).

Campioni di uve provenienti da questi vitigni sono stati poi sottoposti a microvinificazione. Sul vino ottenuto verranno effettuate a breve le analisi chimico-fisiche dei principali parametri enologici e determinati i profili organolettici, mediante degustazione svolta da *panel* di assaggiatori addestrati.



## RISORSE GENETICHE FORESTALI (RGF) - MONITORAGGIO E GESTIONE DELLE RGF IN VISTA DEGLI EFFETTI DEL CAMBIAMENTO CLIMATICO

CRA- SEL Centro di Ricerca per la Selvicoltura, Arezzo

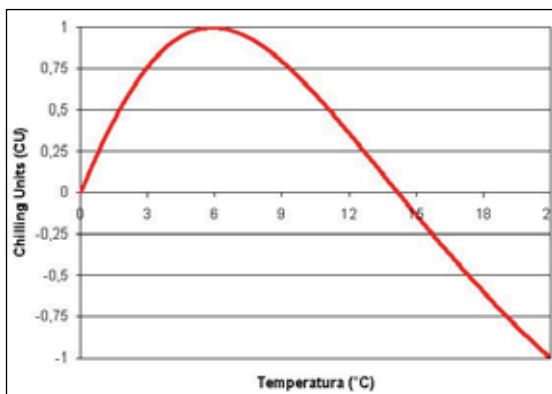
Fulvio Ducci, Anna De Rogatis

### Principali effetti del cambiamento climatico sulle specie forestali

Ogni cambiamento troppo rapido dei parametri climatici può provocare interazioni intense con i caratteri adattativi delle specie, provocando squilibri nella crescita, nella fisiologia e sui sistemi riproduttivi. Specialmente in ambiente mediterraneo, le specie hanno adattato i cicli biologici al regime pluviografico e alle temperature trovando le condizioni ottimali per disseminare e far germinare i semi in inverno ed autunno. Tuttavia, le specie forestali mesofile, quelle di montagna, appartenenti tra l'altro ad ecosistemi maturi possono attivare i loro cicli solo se sono rispettati i tempi stagionali e le esigenze ecologiche specifiche.

#### Lunghezza del giorno e temperature

Nelle fasi riproduttive queste piante sono particolarmente esigenti quanto a condizioni climatiche e, se la durata del giorno nel nostro caso è poco influente, il soddisfacimento dei requisiti (*eco-dormancy*) di *chilling* (fig. 1) per l'entrata in vegetazione e la fioritura e per la germinazione dei semi, saranno molto significativi, qualora i cambiamenti climatici facessero sentire pesantemente i loro effetti. Quindi le temperature avranno un loro peso determinante nell'alterare le dinamiche e le strutture future delle popolazioni forestali. Ciò sarà ancor più pericoloso nella penisola, dove gli areali di molte specie sono frazionati e le popolazioni marginali sono talvolta ridotte di effettivo, erose ed impoverite geneticamente.



**Figura 1 – Effetti medi della temperatura (°C) sulle necessità in Chilling Units (CU) (Richardson *et al.*, 1974). Una CU is l'unità di tempo (1 ora) a temperatura moderatamente bassa (circa 6°C). Ciascuna specie e/o accessione richiede uno specifico numero di ore di chilling per attivare processi fisiologici e per interrompere la dormienza**

#### Disponibilità di acqua

Un altro fattore limitante è la siccità che sarà sempre maggiore sui confini meridionali degli areali specifici, per cui molte specie e popolazioni a temperamento mesofilo e con adattamento ad areale centro europeo particolarmente esposte, saranno messe in crisi. Quelle mediterranee, avranno per qualche tempo qualche possibilità in più di reagire adattandosi.

Matyas (2007) fornisce alcune previsioni a breve termine che abbiamo riadattato alla nostra situazione:

I sintomi della crisi sono già evidenti in molte aree e su molte specie. Il prolungato periodo di siccità, verificatosi a partire dal 1985 circa, ha determinato la comparsa di malattie che evidenziano la situazione di stress presente quasi ovunque.

La pressione selettiva ridurrà progressivamente gli effettivi delle popolazioni che quindi con grande probabilità saranno erose fino al rischio di estinzione, è il caso delle specie modello scelte in questo progetto per verificare le possibilità

di azione e mettere a punto metodologie: una latifolia mesofila (*Prunus avium*), una conifera mesofila (*Abies nebrodensis*), una conifera mediterranea (*Pinus halepensis*). In relazione ai tagli di bilancio, probabilmente sarà necessario restringere il lavoro alle prime due, probabilmente le più sensibili al problema.

#### Adattamento genetico

Il tema della nostra ricerca prende in esame il processo di adattamento genetico di queste specie, che fino ad ora ha avuto successo nel corso delle diverse ere. In genere esse si sono affidate alla grande dimensione delle popolazioni, che ha potuto mettere a disposizione combinazioni genetiche e di caratteri adattativi sufficienti a sostenere le popolazioni/specie nelle loro dinamiche adattative.

C'è tuttavia un altro meccanismo che sta a monte di questa ricchezza e che è alla base della formazione dell'informazione genetica adattativa: la plasticità fenotipica (Schlichting 1986, Pigliucci 2001), che si sta rivelando di estrema importanza per specie a lungo ciclo biologico come quelle forestali.



### Numero Speciale "Progetto RGV/FAO" 1-2/2009

La variabilità micro ambientale può avere un ruolo importante nel processo di conservazione della variabilità, piccoli rifugi con caratteristiche micro ambientali adatte alla sopravvivenza di popolazioni sono evidenti in tutto il Paese. In molti casi l'adattamento è relativamente rapido, 2 – 3 generazioni possono essere sufficienti. Tuttavia, se i cambiamenti saranno troppo rapidi ed intensi, è probabile che questi rifugi vengano spazzati via.

In questo caso le specie hanno ancora una possibilità (a parte mutazioni casuali ed occasionali): quella di sviluppare e utilizzare la variabilità individuale dei singoli genotipi ed incanalarla in un processo di fissazione nella popolazione. Si tratta dello sfruttamento della plasticità fenotipica, definita anche come *una risposta quantitativa* al cambiamento da parte del genotipo.

Conoscere sperimentalmente queste risposte (soprattutto ad eventi estremi, che sono quelli che più caratterizzano il cambiamento (gelate tardive o precoci, siccità, temperature elevate ecc.) e le loro modalità può essere importante per le decisioni da prendere per azioni di conservazione.

Riassumendo, le modalità con cui le specie possono reagire agli effetti del cambiamento climatico sono essenzialmente due:

- *Tolleranza*: è la capacità di un genotipo a conservare la propria fitness sotto la pressione di un fattore avverso. E' determinata geneticamente ed è fissata dalle forze evolutive e consente alla specie di occupare determinate nicchie ecologiche in un dato habitat
- *Plasticità fenotipica*: è la risposta asimmetrica di genotipi ad eventi estremi. Può essere definita come la capacità di un dato genotipo a produrre differenti fenotipi in risposta a distinte condizioni ambientali.

Tolleranza e Plasticità fenotipica sono i caratteri di base che possono essere impiegati per studiare le reazioni delle specie agli stimoli del cambiamento in atto. A questo scopo si evidenzia dunque un nuovo ruolo delle ampie reti di prove comparative e collezioni multisito di cui disponiamo nel CRA.

#### **Obiettivi specifici nel corso dei tre anni di progetto**

- Usare il database realizzato in ambito RGV/FAO, primo finanziamento, per estenderlo, per raccogliere informazione sulle RGF italiane, per comunicare con i database internazionali dei vari network che si occupano del problema;
- Impiegare specie modello (una/due delle fasce climatiche temperato/fresche e una/due di fasce temperato/calde per realizzare una rete nazionale di monitoraggio permanente delle risorse genetiche *in situ* ed *ex situ* in relazione al loro impiego in selvicoltura e alle risposte al cambiamento climatico in particolare attrezzarsi strumentalmente e culturalmente sulla analisi del fenomeno della "*Plasticità fenotipica*" con approccio innovativo rispetto agli studi sviluppati
- Analizzarne la diversità genetica ed adattativa;
- Prevedere quali parti della diversità disponibile sono da impiegare in relazioni alle proiezioni future e quali è possibile valorizzare e propagare;
- Individuare metodi di gestione sostenibili e le azioni necessarie per conservare in situ ed ex situ le RGF;
- Interagire con le iniziative nazionali ed internazionali condividendo materiali ed informazione.
- Rendere l'opinione pubblica edotta di quanto si fa e di quanto sta avvenendo.

#### *Abies nebrodensis*

*Scopo*: mettere a punto un metodo per conservare dinamicamente *ex situ* la popolazione relitta:

Nel 2008 è stata avviata la realizzazione, in collaborazione con il CFS – Pieve S. Stefano (Ar), di una prova *ex situ*, di una nuova popolazione derivata dall'arboreto di Pomaio (AR) in cui anno per anno sono messe a dimora le piantine prodotte. In questa maniera si pensa di realizzare una popolazione sufficientemente grande e dinamica per garantirne la sopravvivenza.

La prova è in corso presso il Passo di Viamaggio (Ar) sull'Alpe della Luna, altitudine 1000 m, esposizione a settentrione, è replicata in campo aperto e sotto copertura di faggio e castagno.

Si applica, quando il materiale è sufficientemente abbondante, un disegno sperimentale a blocchi randomizzati per le singole discendenze che sono mantenute distinte.

Tutte le piante prodotte e parentali sono sottoposte ad analisi AFLP, con lo scopo di conoscere le relazioni parentali che hanno originato i semenzali.

Nell'arboreto di provenienza, si procede sistematicamente a registrare le fasi fenologiche dell'entrata in vegetazione e di produzione di infiorescenze maschili e femminili.

L'analisi della popolazione di base *ex situ*, replicante *in toto* quella di origine e conservata presso CRA SEL è stata analizzata con metodologia AFLP, assieme alle progenie prodotte in questi anni. Nelel analisi sono anche inclusi materiali (circa 80 piante) in possesso del CFS di Pieve S.stefano e di questo istituto provenienti da una raccolta di senme effettuata negli anni '80 *in situ*.

Per stabilire una strategia di conservazione della specie sono state studiate anche le relazioni genetiche con le altre specie mediterranee di abete.

La specie vi è stata trasferita per sperimentare, con i materiali di propagazione prodotti, la costituzione di una nuova popolazione dinamica *ex situ*, in grado di sfuggire agli effetti del cambiamento climatico e di conservarne il *gene pool*.

Si sta studiando la variabilità genetica in *Abies nebrodensis* (Lojac.) Mattei, specie relitto, costituita da 29 – 32 piante, che si trova sulle Madonie, in Sicilia, a rischio di estinzione a causa di un ridotto effettivo, incendi ed erosione genetica. Lo scopo è di conservarne la biodiversità e di mettere a punto strategie di conservazione *ex situ*. La piccola popolazione è strutturata in una *fascia esterna* di minore variabilità e sottoposta ad intensa erosione genetica; è anche evidente un *nucleo di maggiore variabilità*, da proteggere e gestire con appropriata selvicoltura del ceduo di faggio. La variabilità *in situ*, è stata comparata alle popolazioni calabresi di abete bianco, è ancora alta.

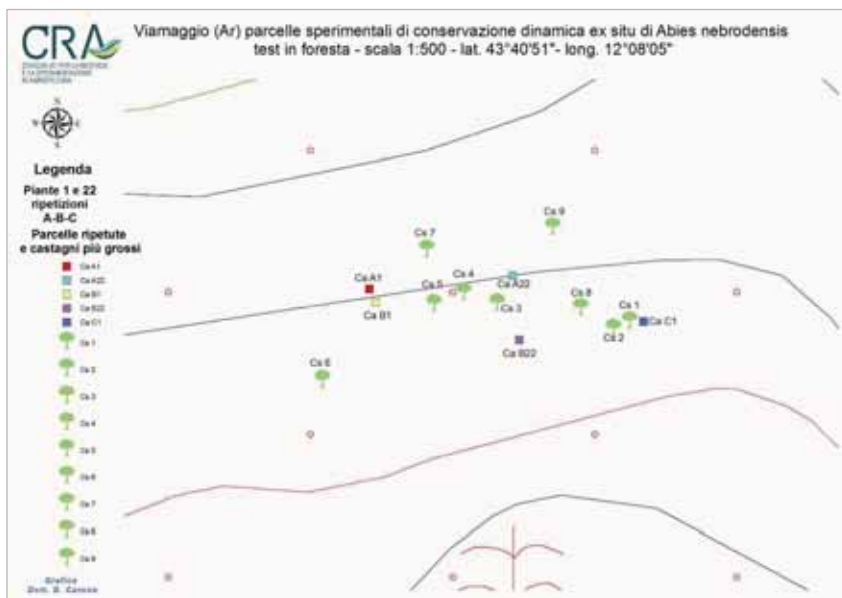
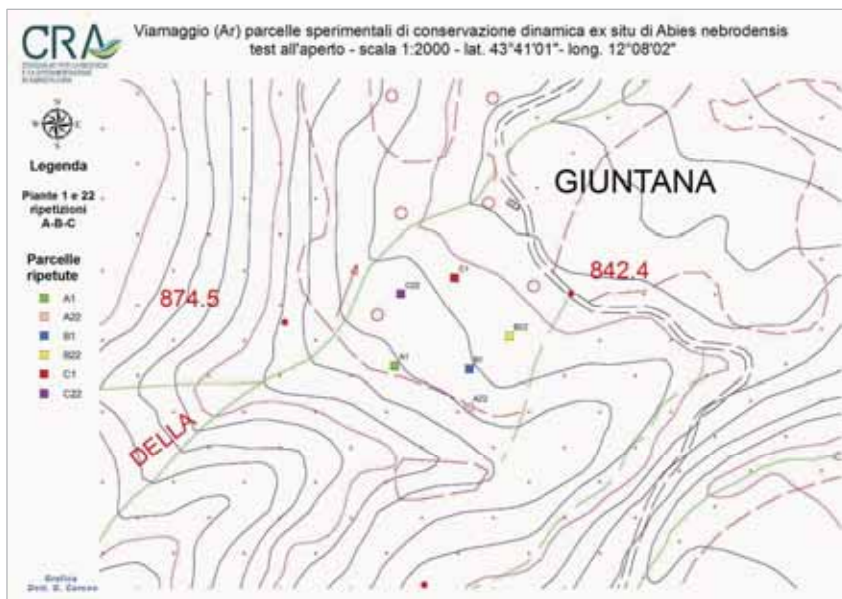
Attualmente è in corso l'analisi genetica con marcatori molecolari AFLP (*amplified fragment length polymorphism*), che permette una indagine della variabilità su un parte molto ampia del DNA gnomico, sulle piante madri e sulle discendenze ottenute da un arboreto da seme e di conservazione realizzato nell'Appennino Toscano.

L'estrazione del DNA da *Abies nebrodensis* è stata eseguita mediante il kit Qiagen mentre per tutte le fasi dell'analisi AFLP si è dovuto procedere alla messa a punto dei protocolli.

E' stato messo a punto un protocollo di analisi, con l'aiuto della collaborazione del dott. Juan F. Fernández-M e della dott.sa Nathalie Frascaria-Lacoste del Laboratoire Ecologie, Systématique et Evolution dell' Università di Parigi.

Il DNA genomico è stato sottoposto a digestione con enzimi EcoRI (Fermentas) e MseI (Fermentas), con un programma di digestione è stato il seguente: 37°C per 2 ore, 65°C per 1 ora e 30 min. e 70°C per 15 min..

### Analisi genetiche: Abete dei Nebrodi (*Abies nebrodensis* (Lojac.) Mattei)





Ai frammenti di DNA così ottenuti sono stati aggiunti gli adattatori per EcoRI e MseI mediante la seguente reazione di ligasi, la reazione è stata mantenuta ad una condizione di 20°C per 2 ore ed ogni campione è stato successivamente diluito 1:10 con Buffer AE (Qiagen).

La preamplificazione è stata eseguita con i primer EcoRI+A ed il primer MseI+C, con un programma di PCR è stato il seguente: 20 cicli di 90°C per 30 sec., 56°C per 30 sec. e 72°C per 1 min. dopodiché ogni campione è stato nuovamente diluito 1:50 con Buffer AE (Qiagen).

L'amplificazione selettiva è stata eseguita con le seguenti combinazioni di *primer* selettivi e per i quali è stato utilizzato il rispettivo programma di PCR:

EcoRI- ACA/MseI-CCGG (Costa *et al.*, 2000)

EcoRI- ACC/MseI-CCTG (Mariette *et al.*, 2001);

EcoRI- ACG/MseI-CCCA (Ribeiro *et al.*, 2002);

EcoRI- ACG/MseI-CCTC, EcoRI- ACC/MseI-CCGG (Wang *et al.*, 2003).

Le analisi sono da completare, ma fino adesso sono stati analizzati i 28 genotipi parentali per 3 combinazioni di primers (EcoRI- ACC/MseI-CCGG, EcoRI- ACG/MseI-CCTC, EcoRI- ACA/MseI-CCGG), i genotipi collezionati nel vivaio di Pieve Santo Stefano per 3 combinazioni di primers (EcoRI- ACC/MseI-CCGG, EcoRI- ACG/MseI-CCCA, EcoRI- ACA/MseI-CCGG), i genotipi collezionati nelle parcelle di Papiano per 4 combinazioni di primers (EcoRI- ACC/MseI-CCGG, EcoRI- ACC/MseI-CCTG, EcoRI- ACG/MseI-CCCA, EcoRI- ACA/MseI-CCGG) ed un genotipo prodotto per libera impollinazione per 3 combinazioni di primers (EcoRI- ACC/MseI-CCGG, EcoRI- ACG/MseI-CCTC, EcoRI- ACA/MseI-CCGG).

Il lavoro è stato presentato nell'ottobre 2008 alla FAO durante la riunione del CO.FO. (Committee for Forestry)

### Prunus avium

È questa la specie su cui si è deciso di mettere a punto il metodo di analisi per evidenziare e studiare possibili fenomeni di plasticità fenotipica ad eventi estremi. La specie è infatti mesofila, adattata al clima delle fasce montane tra le querce caducifoglie (*Castanetum*) e faggio (*Fagetum*), molto sensibile alla siccità estiva, che la pone facilmente in stress.

CRA SEL dispone di un'ampia rete sperimentale per questa specie, che data dagli anni '80. Per questo lavoro preparatorio è stata scelta la prima sperimentazione multisito avviata con materiali micropropagati nel 1985.

Il lavoro è svolto in collaborazione con il Dipartimento di Botanica Agraria e Forestale della Facoltà di Agraria e Scienze Forestali dell'Università di Firenze, che per lunga tradizione collabora con l'ex ISSA.

### Materiali

Le piante sono di grandi dimensioni (da 30 a 40 cm di diam. a petto d'uomo), che consentono di prelevare campioni non distruttivi (carotine) dai tronchi. I genotipi/cloni (8) sono ripetuti con un numero sufficiente di rametti (48 per clone/blocco). L'esperimento ha 5 ripetizioni:

Valle dell'Arno (400 m), loc. Forestello (Ar), in terreno alluvionale franco argilloso;

Appennino romagnolo (600 m), Bagno di Romagna (Fo), loc. Ruscello, in terreno sabbioso-argilloso, fresco;

Appennino romagnolo (800 m), Sarsina (Fo), loc. Ortali, in terreno sabbioso-argilloso, a forte siccità estiva.

Ravenna, Az. Agraria "M. Marani" (2 m), terreno sabbioso limoso, possibile effetto della siccità estiva compensato dalle falde.

I cloni, di cui due prossimi all'iscrizione ai registri ufficiali, sono di provenienza della provincia di Bologna (CB-*Colline Bolognesi* e VG-*Villa Ghigi*) di bassa quota (200 – 25 m) e di alta quota (900-1000 m) della provincia di Arezzo, originari dell'Alpe di Catenaia, com. di Subbiano e (PC-*Piantata Catenaia*, *Alpe 1*, *Alpe 2*, *Puzzòlo*) e dell'Alpe della Luna (Chiesa vecchia) a 1000 m.

Ciascun clone è stato caratterizzato mediante marcatori microsatelliti.



Foto 1: Arboreto sperimentale di *Prunus cerasus*



#### *Metodo previsto*

E' in corso il prelievo di 2 carotine di 8 mm di diam./pianta, dalla base delle piante. Le carotine sono da fissare su supporto di legno appositamente modificato. Le piante saranno in n. di 6 per clone in ciascuna località. La posizione di campionamento delle carotine sarà ortogonale, in maniera da individuare eventuali errori di lettura dello spessore degli anelli annuali dovuti alla deformità del fusto,

#### Caratteri da rilevare

- spessore degli anelli annuali;
- spessore del legno primaverile/autunnale nell'anello;
- spessore medio delle cerchie annuali;
- conta delle file di cellule (vasi) prodotte annualmente.
- Individuazione degli anelli corrispondenti ai periodi critici (siccità 2003 e 2007), conta delle file di vasi e misurazione del lume cellulare negli anni interessati ed in quelli intorno ad essi;
- Stima delle dimensioni medie dei vasi;
- Correlazioni con i caratteri fenologici e di accrescimento in altezza;
- Ricostruzione delle curve dendrocronologiche;
- Stima dell'eventuale *interazione genotipo per ambiente*;
- Stima dei eventuali fenomeni di plasticità fenotipica (risposte diverse negli anni e negli ambienti diversi) da parte dello stesso genotipo.

#### Strumentazioni:

è in corso la messa a punto della tecnica microscopica, che deve essere rapida e poco costosa e superare i problemi determinati dai campioni legnosi. Che dovrà, tra l'altro, avvalersi di tecniche di analisi dell'immagine. - A questo scopo sono in fase di acquisto, con altro progetto di ricerca, 2 microtomi innovativi, sviluppati nel 2007 da un istituto forestale svizzero (l'Istituto Federale Svizzero per la Ricerca Forestale di Zurigo) specializzato nel settore, che consentono di evitare tutto il lavoro lento e costoso. Presso questo Istituto è stato effettuato un breve stage di apprendimento della tecnica. Un microtomo è per campioni di piccole dimensioni e sarà usato per la preparazione di campioni detsinati ad analisi di dettaglio sugli anelli annuali. L'altro consente di preparare campioni lunghi quanto carote di 40 cm. Il tutto senza ricorrere ad inclusioni in resine o paraffine e con costi minimi.

- Microscopi ottici: si usa uno Zeiss a cui è stata riadattata l'ottica ed un nuovo sistema di registrazione delle immagini.

## **CARATTERIZZAZIONE, VALORIZZAZIONE E UTILIZZAZIONE DI RISORSE GENETICHE VEGETALI DI PIANTE ERBACEE**

**CNR-IGV, Istituto di Genetica Vegetale, Bari**

**Domenico Pignone**

L'attività relativa alla terza annualità del progetto non ha subito grossi scostamenti rispetto a quanto previsto. Si prevedeva di dare corso a tre linee principali di attività:

- Reperimento di materiale
- Caratterizzazione del materiale e della sua struttura genetica ed interventi di valorizzazione
- Collezioni di dati

- Reperimento e mantenimento di germoplasma

A settembre 2008 è stata effettuata una missione di reperimento e raccolta nelle isole culturali Arbereshe di tre regioni Italiane: Molise, Calabria e Sicilia. Sotto la pressione Ottomana ai tempi di Skandenberg (XV secolo), vi fu una grande migrazione di popoli dai Balcani verso l'Italia. Successivamente, per combattere il brigantaggio, coloni albanesi furono reclutati (secoli XVI-XVIII) soprattutto in Calabria. La maggior parte dei comuni Arbereshe hanno conservato la loro tradizione linguistica, culturale ed agricola per cui è possibile trovare resti di pratiche di coltivazione ormai desuete nel resto dell'Italia. In particolare in alcuni comuni molisani sono coltivati l'asparago selvatico (*A. acutifolius*) ed il *Ruscus*, non coltivate altrove in Italia, per la preparazione di specifiche conserve sott'olio. Anche alcuni tipi di melone sugoso e di pomodoro sono

assolutamente tipici delle comunità Arbereshe molisane e non hanno simili nemmeno nei territori non-Arbereshe limitrofi.

Inoltre è stata condotta una missione di esplorazione e reperimento nell'Appennino Dauno Molisana, una zona di basse montagne con un discreto livello di isolamento dove un tempo era stata segnalata la presenza di *Triticum monococcum*; tuttavia oggi questa coltura risulta completamente scomparsa.

- Caratterizzazione del materiale e della sua struttura genetica ed interventi di valorizzazione

#### *Lenticchia*

E' stata condotta una analisi comparativa del germoplasma di lenticchia italiano per tentare di identificare quali tratti del germoplasma autoctono siano più utili per il miglioramento genetico della lenticchia. L'analisi ha riguardato una prospezione dei bisogni ed esaminato alcuni casi-studio relativi a specifiche azioni di valorizzazione di germoplasma autoctono.

#### *Lathyrus e Vicia*

E' stato condotto il terzo anno di valutazione di linee di cicerchia precedentemente selezionate per produttività (granella, biomassa) e per contenuto in ODAP mediobasso. Sono stati analizzati descrittori biometrici desunti da descrittori dell'IPGRI, (data di fioritura, altezza pianta, lunghezza foglia, produzione baccelli/pianta, numero baccelli/pianta, produzione parcellare, biomassa parcellare, *harvest index*) ed è stato valutato sul prodotto 2008 il contenuto di ODAP.

Sono inoltre state moltiplicate 6 popolazioni migliorate di *Vicia faba major*.

#### *Cereali minori*

Era stata condotta nel 2006-2007 una valutazione agronomica della collezione di lavoro di *Triticum turanicum* costituita di 72 accessioni di varia provenienza, e sulla base di parametri morfoproductivi (levata, antesi, maturazione, caratteri della pianta, ecc.) erano state selezionate 15 linee più interessanti dal punto di vista agronomico e produttivo, sulle quali erano state prodotte anche analisi qualitative (proteine, ceneri, ecc.).

Le 15 linee selezionate sono state allevate nel 2007-2008 in ambienti marginali dell'Appennino marchigiano in collaborazione con un'azienda locale. Da queste 15 linee tre linee più idonee agli ambienti considerati (resistenza all'allettamento, produttività, ecc.) sono state individuate. Dato però l'andamento stagionale particolare, si rende necessario un secondo anno di prove per confermare i dati raccolti.

#### *Fumento*

E' stato messo a punto un nuovo metodo basato su marcatori SSR e sonde di tipo TaqMan in Real Time PCR per identificare in farine di frumento duro da panificazione (es.: pane di Altamura) la presenza di farina di frumento tenero. Il metodo permette di quantificare la presenza di frumento tenero in misura dell'1,5%, di gran lunga più sensibile dei metodi precedenti. Grazie al fatto che il metodo si basa sulla rilevazione di un frammento più piccolo che nel metodo precedente, anche i risultati sui prodotti derivati sono migliorati.

#### *Farro*

E' stata effettuata la valutazione di 14 linee precedentemente selezionate di *Triticum dicoccon* e *T. spelta* possibilmente idonee alla semina primaverile, per valutare la possibilità di adattamento ad aree marginali ed ad una pratica di coltivazione primaverile. I dati raccolti dimostrano che le linee selezionate sono a doppia attitudine.

#### *Pomodoro*

Allevato nel 2008 un terzo lotto di una collezione di landrace di pomodoro raccolte in Italia a partire dagli anni '50 dello scorso secolo (spedizioni Mali, 1950-1953, ed altre da IGV). Circa 40 campioni sono stati seminati a fila continua a Policoro e sono stati rilevati caratteri morfoproductivi (l palco fiorale, numero e peso bacche, ecc.) e qualitativi (solidi solubili, acidità, ecc.). I dati morfologici e biochimici rilevati nel corso dei tre anni sono stati analizzati mediante analisi multivariata (componenti principali, cluster analysis, ecc.) al fine di identificare linee con migliori caratteristiche.

#### *Carciofo*

E' stato determinato il contenuto fenolico totale e il profilo quali-quantitativo dei fenilpropanoidi in foglie e capolini di alcune varietà. E' stato implementato un ulteriore numero di campioni nel campo di Policoro per analisi comparative; sono in corso le analisi per valutare i principali componenti salutistici (ac. clorogenico, cinarina, ecc.). Nel campo di Policoro sono state installate delle barriere contro le arvicole per evitare danni ai campioni sperimentali.

E' stata condotta un'analisi di diversità genetica in una collezione di carciofi selvatici raccolti in Italia e nel Mediterraneo mediante marcatori AFLP e la conservazione dei campioni di DNA nella Banca di DNA. E' stata osservato un notevole livello di diversità genetica e la presenza di due pool genici differenti nell'Est ed Ovest del Mediterraneo.

#### *Fagiolo*

E' stata condotta una analisi di caratterizzazione morfo-agronomica del "Fagiolo di Grassano", entità tipica dell'area Bradanica. Tale fagiolo è risultato appartenere alla specie *Vigna unguiculata* e non a *Phaseolus*



## Numero Speciale "Progetto RGV/FAO" 1-2/2009

*vulgaris*. Precedenti studi avevano già indicato che la Basilicata è una regione in cui si è conservato l'uso della specie *V. unguiculata* o fagiolino dall'occhio (noto anche come "occhipinti"), una specie introdotta dall'Africa ai tempi repubblicani Romani e soppiantata nel XVI secolo dalla specie americana, che oggi è universalmente nota come fagiolo. La Valle del Bradano è stata solo marginalmente penetrata dall'agricoltura industriale e l'agro di Grassano conserva numerosi orti familiari in cui si conservano ancora alcune landrace autoctone. Purtroppo l'abbandono di questi orti è estremamente rapido a causa delle azioni antropiche di insediamento ed infrastrutturali, oltre che per cause legate all'età dei coltivatori.

I risultati lasciano intravedere utili prospettive di valorizzazione di questa entità autoctona della valle del fiume Bradano.

### • Collezioni di dati

È stato sperimentato un nuovo sistema di gestione integrato dei dati delle banche di germoplasma dati basato su un modello relazionale e nuovi algoritmi di analisi che consentono l'integrazione di dati qualitativi e quantitativi.

Sono stati sperimentati diversi prototipi di backbone di gestori di banche dati al fine di individuare quelli più idonei alla gestione di dati qualitativamente complessi quali quelli presenti in un gene-bank. Sono anche stati allestiti alcuni piccoli database sperimentali: materiali collezionati, pomodoro e *T. turanicum*.

È stata costituita una check list relativa alle varietà locali presenti in Italia, con informazioni sull'Ente identificatore, sul luogo o ente che effettua conservazione e, dove presenti, le informazioni di caratterizzazione.

Le specie considerate appartengono alle seguenti categorie:

- cereali,
- leguminose,
- ortive,
- frutti minori,
- varie

### **Collaborazioni**

Oltre alle collaborazioni istituzionali con le reti degli Enti Pubblici di Ricerca, CNR e CRA specificatamente, e con le università italiane (Bari, Potenza, Napoli "Federico II", Tuscia, ecc.), sono state attivate nell'ambito del progetto le seguenti collaborazioni:

- Provincia di Lecce
- Regione Basilicata
- GAL Bradanica, Basilicata
- ALSIA Basilicata
- ARSA Calabria
- Università di Kassel, Germania
- Università Agraria di Tirana, Albania
- Ministero dell'Agricoltura, Tirana, Albania
- Comune di Portocannone

### **Pubblicazioni:**

SONNANTE G., CARLUCCIO A.V., DE PAOLIS A., PIGNONE D. 2008. *Identification of artichoke SSR markers: molecular variation and patterns of diversity in genetically cohesive taxa and wild allies*. Genet. Res. Crop Evol., 55: 1029-1046.

LAGHETTI G., PIERGIOVANNI A.R., SONNANTE G., LIOI L., PIGNONE D. (2008) *The Italian lentil genetic resources: a worthy basic tool for breeders*. Europ. J. Plant Sci. Biotech. 2: 48-59 (Invited review).

LAGHETTI G., PIGNONE D., SONNANTE G. 2008. *Statistical approaches to analyse gene bank data using a lentil germplasm collection as a case study*. Agriculturae Conspectus Scientificus 73: 175-181.

D'AMORE R., LUO J., PIGNONE D., MARTIN C., SONNANTE G. 2008. *The synthesis of chlorogenic acid in artichoke: comparison of two newly isolated hqt genes*. 4<sup>th</sup> EPSO Conference: Plants for Life. Toulon, France, 22-26 June 2008, P113, p. 211

CACCIALUPI P., CECI L.R., SICILIANO R.A., PIGNONE D., CLEMENTE A., SONNANTE G. 2008. *Bowman-Birk inhibitors from lentil: heterologous expression, characterization and anti-tumoral properties*. 4<sup>th</sup> EPSO Conference: Plants for Life. Toulon, France, 22-26 June 2008, P133, p. 231.

D'AMORE R., DE PALMA M., TUCCI M., PIGNONE D., LUO J., MARTIN C., SONNANTE G. 2008. *Isolation and characterization of an hqt gene from artichoke implicated in the synthesis of chlorogenic acid*. XX International Congress of Genetics. Berlin, Germany, 12-17 July 2008, P552/39/A, p. 181.

## CONSERVAZIONE, CARATTERIZZAZIONE, USO E VALORIZZAZIONE DELLE RISORSE GENETICHE VEGETALI PER L'ALIMENTAZIONE E L'AGRICOLTURA

### RETE SEMI RURALI, Scandicci (FI)

Riccardo Bocci, Maria Francesca Nonne

#### Premessa

La Rete Semi Rurali rientra nel secondo triennio di attività del Progetto Finalizzato "RGV/ Trattato FAO" in cui il MiPAAF ha deciso di inserire alcune organizzazioni non governative riunite nell'associazione Rete Semi Rurali, da sempre attive nell'ambito della biodiversità agricola, con lo scopo di creare un sistema di recupero, conservazione e valorizzazione delle Risorse Genetiche Vegetali (RGV), che includa anche gli attori della società civile, come previsto dal Trattato FAO.

#### La Rete Semi Rurali (RSR)

La RSR è un'associazione nazionale composta a oggi da 10 associazioni: Associazione Rurale Italiana (ARI), Associazione per la Solidarietà della campagna Italiana (ASCI), Archeologia Arborea, Associazione Italiana per l'Agricoltura Biologica (AIAB), Civiltà Contadina, Consorzio della Quarantina, Coordinamento Toscano dei Produttori Biologici (CTPB), Centro Internazionale Crocevia (CIC) e World Wide Opportunities on Organic Farms (WWOOF - Italia) e l'Associazione Veneta Produttori Biologici (A.Ve.Pro.Bi).



#### Obiettivi del Programma

Come riportato sulla Convenzione, il Programma che la RSR sta svolgendo riguarda:

- Elaborazione e stampa di materiali informativi/divulgativi. Al fine di sensibilizzare gli agricoltori e la società civile, saranno realizzate delle schede sulle tematiche più importanti che caratterizzano il Trattato FAO e la sua implementazione in Italia;
- Servizi di segreteria. Al fine di promuovere in Italia la messa in rete delle esperienze del mondo informale, ed integrarle sempre di più con quelle degli enti locali e del mondo della ricerca agricola, sarà creato un servizio di segreteria, animazione e coordinamento della rete;
- Incontri. Al fine di poter lavorare con gli agricoltori saranno realizzati degli incontri locali, occasione anche per la distribuzione del materiale informativo prodotto;
- Attività di conservazione. Per sostenere attività realizzate come *back up* di sicurezza informale è previsto un *forfait*, come rimborso parziale delle spese sostenute da dare a quelle associazioni che gestiscono campi catalogo o collezioni.

#### Attività realizzate

- Elaborazione e stampa di materiali informativi/divulgativi

Elaborazione della prima serie di schede a carattere informativo e divulgativo sulle risorse genetiche vegetali e sul Trattato FAO. Si sono predisposti e stampati 500 kit composti da 8 schede informative e una cartella raccogliitrice.

Le schede in ordine riportano i seguenti temi:

- Semi rurali.
- A ciascuno la sua varietà;
- Biodiversità agricola in Italia;
- Il sistema delle Leggi regionali italiane di tutela delle varietà e razze locali;
- La guerra dei semi;
- Trattato FAO;
- La conservazione della biodiversità agricola;
- Semi dove e come cercarli;



## Numero Speciale "Progetto RGV/FAO" 1-2/2009

Le schede sono state distribuite a tutti i soggetti pubblici e privati che hanno partecipato agli incontri informativi e divulgativi svolti dalla Rete Semi Rurali e dalle associazioni che la compongono.

- Creazione e aggiornamento continuo del sito web [www.semirurali.net](http://www.semirurali.net)

Il sito della RSR sta diventando nel panorama italiano un punto di riferimento e uno spazio di discussione e messa in rete di documenti sulle politiche (leggi e regolamenti) nazionali, regionali ed europee inerenti la conservazione, l'uso e la valorizzazione della biodiversità agricola. Circa 10.000 contatti alla home page del sito e i notiziari e i documenti messi a disposizione sono stati scaricati da 1000 utenti. Le news contano circa 6000 letture.

- Pubblicazione del notiziario bimestrale, distribuito durante gli incontri e scaricabile on line dal sito. Nel 2008 ne sono stati realizzati 4, il primo in aprile e l'ultimo a dicembre.

- Servizi di Segreteria, animazione e coordinamento

La segreteria della RSR, creata nel gennaio 2008, ha svolto in collaborazione con il coordinatore le seguenti attività:

- Redazione dei notiziari bimestrali;
- Creazione e aggiornamento sito web [www.semirurali.net](http://www.semirurali.net);
- Redazione del Kit informativo;
- Organizzazione incontri di informazione e formazione;
- Organizzazione di momenti di diffusione e informazione via radio, tra cui l'attuazione del programma radiofonico "Parole Contadine" centrato sul tema della biodiversità agricola;
- Organizzazione del IV Seminario Europeo "Liberiamo la diversità" del 10-12 ottobre ad Ascoli Piceno;
- Organizzazione e partecipazione a diversi incontri per raccogliere le esperienze realizzate nei territori e per divulgare l'importanza del Trattato FAO;

Nella tabella si riportano in sintesi le attività svolte nel 2008.

- Incontri

Oltre gli incontri e le attività descritte in tabella 1 e svolti dal coordinatore e dalla segreteria organizzativa si sono eseguiti:

- Tre incontri di coordinamento delle associazioni appartenenti alla RSR a Scandicci (FI) in data 17 febbraio, 6 settembre e 14 dicembre;
- Il IV seminario europeo "Liberiamo la diversità", organizzato dalla RSR ad Ascoli Piceno dal 10 al 12 ottobre, è stato l'incontro che ha assorbito maggiormente le forze dell'associazione per la sua organizzazione. Si è trattato di un momento di informazione e confronto su sementi, legislazione e mercati durato 3 giorni. L'evento è stato un successo, e ha visto la partecipazione del Segretariato del Trattato FAO, e di presenze europee e internazionali. In ambito nazionale hanno partecipato, oltre alle associazioni facenti parte della Rete, enti pubblici, organizzazioni non governative (ONG), associazioni, scuole, università e agricoltori. In totale ci sono state circa 160 presenze.

- Attività di conservazione

Considerando l'importo ridotto destinato a tale attività, si sono utilizzate le risorse in maniera esemplare, finanziando un'attività che in futuro servirà come meccanismo di innesco di processi pilota e riproducibili nell'ambito del Trattato FAO. Per il 2008 è stato deciso di concentrare l'attività sull'esperienza realizzata dalla dott.ssa Oriana Porfiri nelle Marche, che conserva diverse collezioni di cereali nella sua azienda e dall'anno scorso mantiene per conto della Rete una ventina di accessioni provenienti dalla Banca del Germoplasma di Gatersleben.

Si sono acquistate e messe a sua disposizione un frigorifero, una macchina per il sottovuoto e dei sacchetti per impacchettare e distribuire in maniera congrua il materiale. È garantita così anche per il futuro la conservazione *ex situ* di tali materiali e la loro distribuzione.

**Tab. 1: SINTESI ATTIVITA' SVOLTE NEL 2008**

12 gennaio e 21 febbraio, Roma: riunione gruppo di lavoro schede informative.
19 gennaio, Pisa: relazione sul ruolo della biodiversità dei cereali, con particolare riferimento a pane e pasta, durante l'incontro del Distretto di Economia Solidale della Provincia di Pisa.
20 gennaio, Torriglia Ligure (GE): partecipazione all'evento "Mandillo dei semi" organizzato dal Consorzio della Quarantina.
29 gennaio, Ascoli Piceno: incontro con l'assessore all'agricoltura della Provincia per preparare l'incontro di ottobre 2008.
13-14 febbraio, Roma: incontro con la Rete Semi Rurali francese (Reseaux Semences Paysannes) e Crocevia per un aggiornamento sulla politica sementiera a livello europeo e organizzazione del IV incontro europeo "Liberiamo la diversità" tenutosi ad Ascoli Piceno a ottobre del 2008.
8 marzo 2008 Siena: incontro con l'associazione WWOOF Italia
16 aprile 2008 Roma: riunione di coordinamento per la redazione del documento sulla conservazione <i>ex situ</i> per il piano nazionale sulla Biodiversità, organizzato presso l'APAT.
17 aprile, Pescara: seminario pubblico organizzato dall'ARSSA "La legislazione regionale italiana in tema di tutela del germoplasma di interesse agrario".
22 maggio: visite in tre aziende dell'agro-pisano che conservano varietà locali di frumento e di fagiolo.
29 maggio, Roma: presentazione del lavoro della RSR e del Prog. "RGV/FAO" all'incontro della Campagna EuropaAfrica.
24 giugno 2008 Lecce: presentazione del lavoro della RSR e del Progetto "RGV/FAO" alla Fiera di Zollino.
25 giugno, Pisa: Incontro con l'Università di Agraria e Bioersity International, e visita all'azienda agricola della famiglia Pardini che conserva un ecotipo locale di fagiolo denominato 'Piattella Pisana'.
12 luglio, Aquileia (Friuli Venezia Giulia): Incontro "Antiche sementi e agricoltura di qualità", organizzato dal Comune di Aquileia, dall'Università di Udine e da Civiltà Contadina. Il coordinatore della Rete ha realizzato un intervento dal titolo "Saperi e semi, un nuovo rapporto tra ricerca e agricoltori".
31 luglio-1 agosto, Ascoli Piceno: preparazione dell'evento di ottobre, visita in aziende agricole della zona.
13-14 settembre, Firenze: Fierucola del pane. La Rete ha organizzato un incontro specifico sul pane prodotto con antiche varietà di frumento, invitando un agricoltore/panificatore della rete francese Reseau Semences Paysannes.
22 settembre, Emilia Romagna: incontro con referenti e tecnici della Regione e visita ad alcune aziende attive nella conservazione delle razze animali.
23 settembre, Roma: Incontro preparatorio all'evento di Ascoli Piceno con referenti ARSIAL della I.R. di tutela delle varietà e razze locali.
26 settembre, Emilia Romagna: incontro con referenti e tecnici della Regione e visita a 3 aziende agricole che conservano cultivar locali di vite e frutta.
8-12 Ottobre, Ascoli Piceno: "IV seminario europeo Liberiamo la diversità", con la partecipazione di ASSAM Marche, Provincia di Ascoli Piceno e CRA-ORT di Monsampolo del Tronto.
21 ottobre, Pisa: Incontro commissione tecnico scientifica per il programma radiofonico sull'agro-biodiversità: "Parole Contadine-Viaggio alla scoperta della Biodiversità Agricola in Toscana".
23-26 Ottobre, Roma: partecipazione e divulgazione di schede informative al Festival internazionale di Crocevia.
28-30 novembre, Albi (Francia): partecipazione al workshop su agroecologia e sementi all'interno del Colloquio internazionale di agroecologia.
25 Novembre: visite in provincia di Pisa presso Vecchiano e Livorno presso Sassetta in aziende agricole in cui si coltivano varietà locali ('Piattella Pisana') e allevano razze animali autoctone (Cinta senese, Pollo livornese). Momento di informazione e divulgazione.
26 novembre, Firenze: Incontro di coordinamento con ARSIA, Università di Firenze, Pisa, Provincia di Livorno sul progetto di conservazione dinamica della diversità agricola nel centro della Provincia a Rosignano Marittimo. Distribuzione di materiali informativi sul Trattato FAO e Schede Tecniche.
3 dicembre, Roma: incontro di coordinamento con referenti di Bioersity International sulla Campagna "Diversità per la vita" e nello specifico sull'iniziativa rivolta alle scuole.
10 dicembre, Firenze: presentazione all'incontro del COCIS per informare sul lavoro svolto dalla Rete semi rurali nell'ambito del Progetto "RGV/FAO" per future collaborazioni con le ONG all'interno di progetti di educazione allo sviluppo su "biodiversità agricola e sovranità alimentare".



APPUNTAMENTI.....

.....NAZIONALI

**4 settembre, Foggia:**

Ortofrutta di IV gamma: La ricerca incontra l'industria. Workshop, Università di Foggia.

Web:

[http://www.freshplaza.it/news\\_detail.asp?id=13816](http://www.freshplaza.it/news_detail.asp?id=13816)

**26 settembre, Roma:**

47° Mostra Pomologica e presentazione del volume sulle sagre della frutta in Italia. CRA-FRU, Via Fioranello, 52.

Info: [fru@entecra.it](mailto:fru@entecra.it)

**1-2 ottobre, Portici:**

I Convegno Nazionale dell'Olio ed Olio. SOI e Università Federico II, Napoli.

Web: [www.soihs.it](http://www.soihs.it)

**6-8 ottobre, Viterbo e Latina:**

IX° Convegno Nazionale sull'Actinidia. Università della Tuscia, Viterbo.

Web: <http://www.actinidia2009.it/>

**7-9 ottobre, Cesena:**

Macfrut.

Web: <http://www.macfrut.com/>

**8-10 ottobre, Marina di Pisticci (MT):**

IV° Convegno Nazionale sulle Piante Mediterranee. Società Botanica Italiana.

Web:

<http://www.societabotanicaitaliana.it/detaileventi.asp?IDN=609&IDSezione=4>

**8-11 ottobre, Bari:**

Agrilevante. Fiera di Bari. Presentazione Liste Varietali "Uva da Tavola".

Web: <http://www.agrilevante.eu/it/index.php>

**22-25 ottobre, Roma:**

Agriexpo. Fiera di Roma.

Web: [www.senaf.it/agriexpo](http://www.senaf.it/agriexpo)

APPUNTAMENTI.....

.....INTERNAZIONALI

**31 agosto-4 settembre, Leiden, Olanda:**

XXIII EUCARPIA Ornamentals Section meeting- Colorful Breeding and Genetics.

Web: <http://www.ornamentalbreeding.nl/>

**8-10 settembre, Roma, Italia:**

2<sup>nd</sup> World Seed Conference. FAO.

Web: [worldseedconference.org](http://worldseedconference.org)

**20-24 settembre, Bologna, Italia:**

XI<sup>th</sup> International Symposium on Plant Bioregulators in Fruit Production. ISHS.

Web: <http://www.ishs.pbr.bologna2009.it/>

**27-30 settembre, Madrid, Spagna:** XXIII<sup>th</sup>

EURAGRI Members' Conference. INIA.

Web: <http://www.euragri.org/>

**29 settembre- 1 ottobre, Menemen, Izmir, Turchia:**

4<sup>th</sup> meeting of the ECPGR Medicinal and Aromatic Plants Working Group.

Web: <http://www.ecpgr.cgiar.org/>

**3-5 ottobre, Nasser City, Cairo, Egitto:**

XIII International Conference and Exhibition: Medicinal and Aromatic Plants - Challenges and Opportunities.

Web: <http://www.ishs.org/calendar/esmap.jpg>

**8-9 ottobre, Quedlinburg, Germania:**

ECPGR Sugar, Starch and Fibre Crops Network – Network Coordinating Group and ECCDB Managers meeting.

Web: <http://www.ecpgr.cgiar.org/>

**13-16 ottobre, Cuneo, Italia:**

I European Congress on Chestnut - Castanea 2009. Food, Timber, Biomass and Energy. ISHS. Università di Torino.

Web: <http://www.arboree.unito.it/castanea2009>

*Affinché questo bollettino diventi uno spazio di discussione e dibattito sulle tematiche riguardanti il reperimento, la conservazione e la caratterizzazione delle risorse genetiche vegetali e più in generale la salvaguardia e l'uso sostenibile dell'agrobiodiversità in Italia, invitiamo tutti coloro siano interessati a tali argomenti ad inviarci contributi di varia natura (review, lettere, informazioni su convegni, ecc) da pubblicare su questo "Notiziario"*

**CRA-Centro di Ricerca per la Frutticoltura**

Via di Fioranello, 52 00134 Roma

p.f. Risorse Genetiche Vegetali

Tel. 06.7934811 Fax 06.79340158

<http://frutticoltura.entecra.it>

**Direttore responsabile:**

**Carlo Fideghelli**

**Comitato di redazione:**

**Petra Engel**

[petra.engel@gmail.com](mailto:petra.engel@gmail.com)

**Danilo Ceccarelli**

[danilo.ceccarelli@entecra.it](mailto:danilo.ceccarelli@entecra.it)