

Notiziario Risorse Genetiche Vegetali

Ministero delle Politiche Agricole, Alimentari e Forestali
Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura

Notiziario trimestrale tecnico-scientifico

Centro di Ricerca per la
Frutticoltura, Roma

Anno XII n. 2-3, ottobre 2012

ISSN 1974-2738

Progetto RGV/FAO, attività svolte nel 1° anno del III triennio

Le Unità Operative del progetto si sono riunite a Bagheria presso il CRA-SFM Unità di Ricerca per il "Recupero e la valorizzazione delle specie floricole mediterranee" il 12 e 13 aprile scorsi per presentare e discutere l'attività svolta e i risultati acquisiti nel 2011 e per discutere i problemi di carattere generale inerenti il Progetto.

Le riunioni-itineranti hanno il pregio di far conoscere le realtà dei Centri e delle Unità di ricerca, così diversi per specie trattate, per collocazione geografica, per obiettivi che, pur mediati dall'appartenenza allo stesso progetto, risentono della storia dell'Istituto dal quale provengono.

In questo numero del Notiziario si riportano le sintesi delle presentazioni di Bagheria.



La sede del CRA-SFM a Bagheria, panorama e dettagli delle collezioni mantenute



Indice

Titolo della ricerca

U.O.

pag.

Valorizzazione della biodiversità del frumento duro per la produzione di prodotti tradizionali nell'area del Mediterraneo

CRA-ACM, Catania 3

Conservazione, caratterizzazione e valorizzazione del germoplasma di riso dell'area temperata (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*)

CRA-RIS, Vercelli 5

Qualità e sicurezza alimentare di genotipi italiani di mais

CRA-MAC, Bergamo 6

Interventi per valorizzare le risorse genetiche del frumento tenero e monococco

CRA-SCV, Sant'Angelo Lodigiano 8

Caratterizzazione e valorizzazione di una collezione di *Triticum dicoccum*, *T. spelta* e di *Avena*

CRA-QCE, Roma 11

Caratterizzazione morfo-fisiologica di accessioni di peperone e pomodoro: omogeneità e distinguibilità di varietà da conservazione

CRA-ORT, Pontecagnano 15

Recupero, conservazione e valorizzazione di alcune orticole in Lombardia

CRA-ORL, Montanaso Lombardo 18

Reperimento, conservazione, caratterizzazione a genomica e molecolare, miglioramento genetico e diffusione in coltura di specie orticole autoctone dell'Italia centro-meridionale

CRA-ORA, Monsampolo del Tronto 20

Polifenoli e attività antiossidante in drupacee e pomacee

CRA-FRU, Roma 25

Individuazione di SSR a sequenza ripetuta tri, tetra o penta-nucleotidica per la caratterizzazione molecolare di cultivar di ciliegio dolce

CRA-FRU, Roma 27

Recupero e valorizzazione di accessioni frutticole *in situ* ed *ex situ*

CRA-FRU, Roma 30

Messa a punto di tecniche *in vitro* di conservazione del germoplasma per la salvaguardia della biodiversità delle specie da frutto

CRA-FRU, Roma 33

Raccolta e caratterizzazione bio-agronomica, molecolare e nutrizionale del germoplasma frutticolo campano

CRA-FRC, Caserta 35

Recupero, conservazione e valorizzazione del germoplasma frutticolo italiano e autoctono dell'Emilia-Romagna

CRA-FRF, Forlì 37

Caratterizzazione e valorizzazione di varietà di mandorlo autoctone pugliesi

CRA-SCA, Bari 40

Raccolta, caratterizzazione e valorizzazione delle risorse genetiche agrumicole

CRA-ACM, Catania 42

Reperimento, caratterizzazione, conservazione e valorizzazione del germoplasma olivicolo italiano

CRA-OLI, Rende e Pescara 44

Conservazione, caratterizzazione e valorizzazione del germoplasma viticolo

CRA-VIT, Conegliano 49

Valorizzazione di vitigni locali (Uva da vino e uva da tavola)

CRA-UTV, Turi 51

Conservazione, valutazione e valorizzazione di risorse genetiche di specie foraggere, proteiche e da tappeto erboso

CRA-FLC, Lodi 54

Raccolta, caratterizzazione e valorizzazione di germoplasma di impiego industriale

CRA-CIN, Bologna e Rovigo 57

Caratterizzazione, documentazione e valorizzazione di una collezione di germoplasma di *Limonium* spp.

CRA-VIV, Pescia 61

Propagazione, caratterizzazione agronomica e valorizzazione ai fini ornamentali di rose siciliane e ibridi di *Euforbia x lomi*

CRA-SFM, Bagheria 63

Recupero, conservazione, caratterizzazione e valorizzazione di varietà ornamentali locali.

CRA-FSO, San Remo 66

Conservazione, caratterizzazione e valorizzazione della biodiversità di risorse genetiche di piante officinali

CRA-MPF, Villazzano 70

Caratterizzazione, uso e valorizzazione delle risorse genetiche di tabacco e *Nicotiana* spp.

CRA-CAT, Scafati 73

Nuove acquisizioni sulla collezione di gelso (*Morus* sp. pl.)

CRA-API, Padova 75

Risorse genetiche forestali – Monitoraggio e gestione in vista degli effetti del cambiamento climatico

CRA-SEL, Arezzo 77

L'attività svolta nel 2011 dalla "Rete Semi Rurali"

Rete Semi Rurali 84

Il database delle risorse genetiche vegetali

CRA-FRU, MiPAAF 86

Appuntamenti nazionali e internazionali

88

Valorizzazione della Biodiversità del Frumento Duro per la produzione di prodotti tradizionali nell'area del Mediterraneo

CRA- ACM Centro di Ricerca per l'Agrumicoltura e le Colture Mediterranee, Catania

PALUMBO M., SPINA A., VIRZI N., SCIACCA F., CAMBREA M., LICCIARDELLO S., PESCE A.

Introduzione

Negli ultimi decenni, la graduale scomparsa di antiche varietà e razze locali ha prodotto come conseguenza un progressivo assottigliamento della variabilità genetica e la scomparsa di germoplasma utile. La conservazione e la valorizzazione del germoplasma autoctono regionale è il presupposto fondamentale per una strategia di sviluppo sostenibile e un'opportunità per recuperare i valori di una civiltà rurale legata ad antiche tradizioni. Studi condotti su antiche popolazioni siciliane di frumento duro hanno dimostrato che esse costituiscono una preziosa fonte di biodiversità che occorre preservare attraverso la raccolta, la caratterizzazione e la conservazione delle molteplici accessioni locali. Alcune di queste sono tuttora coltivate e la loro semola viene utilizzata per la produzione di pani tipici locali. In particolare, la semola di 'Timilia' (o 'Tumminia') viene impiegata in miscela per la preparazione del "pane nero di Castelvetro" e la semola di 'Russello' (o 'Russeddu') viene invece utilizzata per la produzione del pane a pasta dura, tipico dell'area Iblea. Presso il CRA-ACM, nel corso del 2011 è proseguita l'attività di conservazione e implementazione della collezione di *Triticum*, realizzata grazie al *know-how* acquisito dal gruppo di ricerca del CRA-ACM e all'impiego delle infrastrutture e attrezzature di cui è dotato il Centro: aziende agrarie, attrezzature sperimentali idonee per la semina, moltiplicazione, conservazione, catalogazione e caratterizzazione delle risorse genetiche cerealicole. Grazie alla collaborazione in atto con il CIMMYT (*International Maize and Wheat Improvement Center*, Messico), sono state reperite numerose accessioni di grano duro di provenienza estera (Nord Africa, Medio Oriente, ecc.).

Materiali e metodi

Nel corso dell'annata 2010/2011, presso l'azienda sperimentale del CRA di Libertinia (CT), sono stati allestiti campi sperimentali di valutazione di genotipi di provenienza estera (linee pure e varietà) e sono state seminate, in parcelle di 10 m² e in blocchetti a file singole, 41 *landrace* di frumento duro. E' stata inoltre rinnovata una parte della collezione di germoplasma di frumento duro per mantenere la vitalità delle sementi. Durante il ciclo biologico, le accessioni sono state sottoposte in campo ai principali rilievi bio-morfologici e fenologici. Sono stati utilizzati descrittori standard impiegati per la caratterizzazione dei genotipi di *Triticum*. Sulle accessioni in studio, è stata effettuata la caratterizzazione qualitativa e il test di panificazione sperimentale utilizzando la metodica AACC opportunamente modificata per la valutazione del frumento duro. Sui pani ottenuti (da 100 g di semola) sono stati determinati: peso, altezza, volume, colore della crosta, colore della mollica, porosità e alveolatura. E' stata valutata la diversità genetica delle accessioni attraverso la caratterizzazione biochimica e molecolare, rispettivamente mediante elettroforesi delle proteine di riserva e attraverso marcatori molecolari (SSR).



Foto. 1: Pani realizzati con il test di panificazione sperimentale

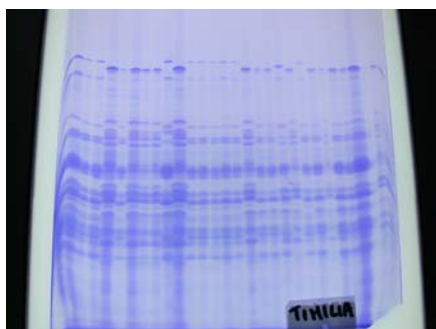


Fig. 1: Polimorfismo intra-popolazione di 'Timilia'.

Risultati e discussione

I dati biomorfologici e fenologici rilevati su ciascun genotipo sono stati utilizzati per la compilazione delle schede informatizzate.

Le analisi qualitative e il test di panificazione sperimentale hanno consentito di individuare, fra le accessioni in studio, alcuni genotipi dotati di caratteristiche tecnologiche di pregio. In particolare, alcune antiche popolazioni siciliane di grano duro hanno mostrato attitudine panificatoria particolarmente idonea alla produzioni di pani tipici locali. La caratterizzazione biochimica delle proteine di riserva delle cariossidi mediante il protocollo SDS PAGE ha permesso di rilevare variabilità intra e inter- popolazione.

Su alcune accessioni di popolazioni siciliane e su 20 varietà di frumento duro è stata eseguita la caratterizzazione molecolare con la tecnica SSR microsatellite che ha permesso di determinare, per

ciascun genotipo, il caratteristico *fingerprinting*. In particolare, la tecnica SSR, condotta sulle *landrace* 'Timilia' e 'Russello', ha permesso di individuare polimorfismo inter e intra-popolazione e tra le varietà.

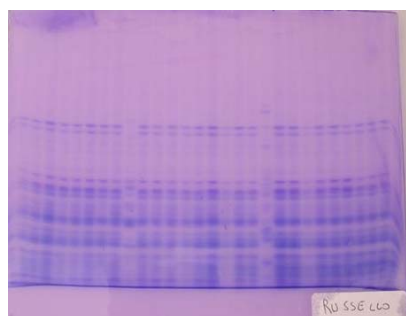


Fig. 2: Elettroforesi di 'Russello'

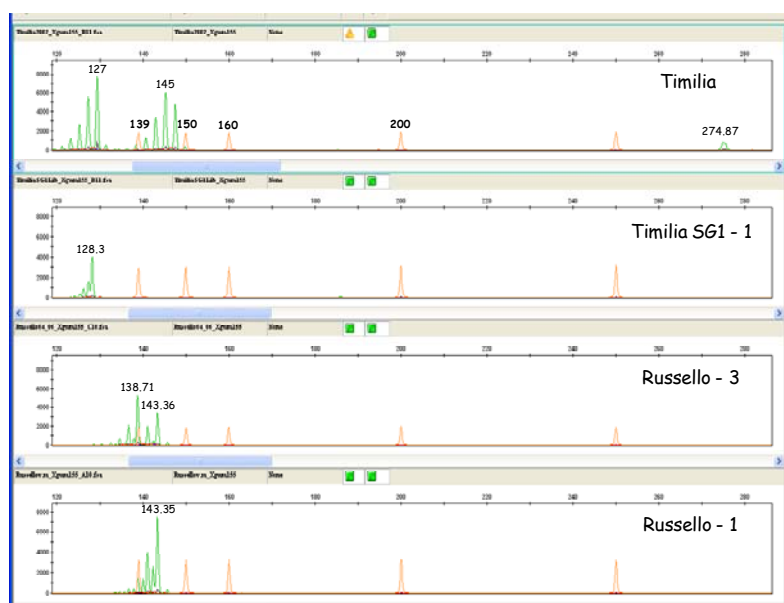


Fig. 3: Polimorfismo intra e inter- popolazione

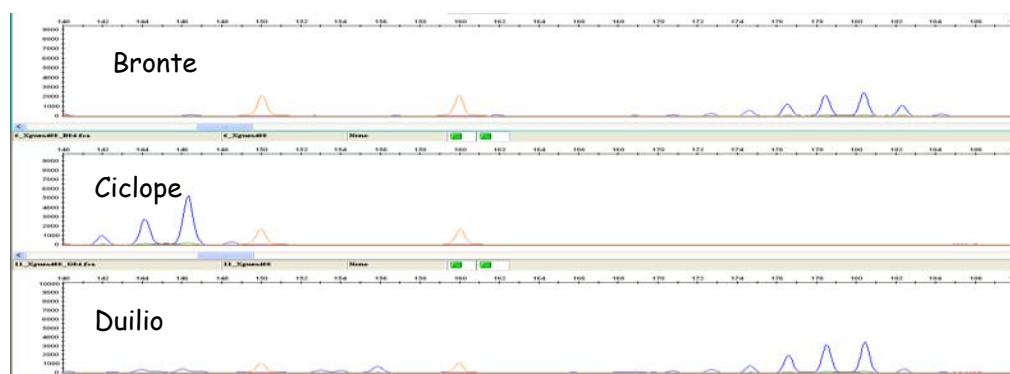


Fig. 4: Profoli di *fingerprinting* di diverse varietà

Attività divulgative

11-13 maggio 2011, Aci Castello (Ct) Partecipazione al Convegno nazionale AISTEC (Associazione Italiana Scienze e Tecnologie dei Cereali): Mostra di pani tipici locali e divulgazione dei risultati del progetto attraverso comunicazioni orali e poster.

25 maggio 2011: visita guidata ai campi sperimentali allestiti a Libertinia (CT), per illustrare a ricercatori, tecnici e operatori del settore cerealicolo la biodiversità e le risorse genetiche di frumento duro presenti nelle parcelle.

11-20 novembre 2011, Catania: "MOSTRA DELLE IDEE", Partecipazione alla Mostra del germoplasma e incontri divulgativi con scuole e associazioni di categoria.

CRA-ACM Acireale, 10 dicembre 2011: Nell'ambito del CRA - Day: mostra del germoplasma (semi e spighe) e di pani tipici locali, con il coinvolgimento di scolaresche, tecnici, divulgatori e operatori della filiera.

Conservazione, caratterizzazione e valorizzazione del germoplasma di riso dell'area temperata (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*)

CRA-RIS Unità di Ricerca per la Riscicoltura, Vercelli

GIAMPIERO VALÈ, LAURA CASELLA; CHIARA BISELLI; DANIELA CAVALLUZZO; ERMINIO ALBERTARIO; GIANNI TACCONI, SIMONA URSO (CRA-GPG, FIORENUOLA D'ARDA); RAFFAELLA GRECO, PIETRO PIFFANELLI (PTP, LODI)

Il presente progetto di ricerca ha come principale obiettivo la caratterizzazione varietale del germoplasma di riso presente in Italia e lo studio dell'evoluzione che questo ha avuto nel tempo grazie all'applicazione delle strategie di miglioramento genetico. Durante il periodo di riferimento, il lavoro svolto si è articolato in tre azioni diverse delle quali vengono di seguito forniti i risultati preliminari:

• Rigenerazione e purificazione molecolare di un sotto-gruppo della core collection:

All'interno dell'ampia collezione di CRA-RIS sono state selezionate 120 accessioni e seminate in campo in tre ripetizioni con ogni ripetizione rappresentata da tre file di piante di circa 200 cm. Nelle varie fasi della crescita sono quindi state eliminate le piante che presentavano scostamenti dalla tipologia propria dell'accessione (diversa altezza, colorazione delle ariste, conformazione della pannocchia, periodo di fioritura etc). L'analisi morfo/fenologica ha consentito di rilevare che, a livello delle accessioni, era presente un consistente livello di inquinamento da altri genotipi di riso. Per ogni accessione, a livello della prima ripetizione, sono state selezionate e cartellate tre piante; da porzioni di foglia delle tre piante è stato estratto il DNA sul quale si è condotta una verifica con 10 marcatori microsatelliti diagnostici per ogni accessione, per un totale di 3600 analisi molecolari. Le piante che presentavano un profilo molecolare tipico dell'accessione sono state incappucciate alla fioritura, in modo da evitare la seppur bassa possibilità di fecondazione incrociata. I semi ottenuti sono stati conservati all'interno di contenitori e saranno utilizzati nel corso del 2012 per la realizzazione di uno stock consistente di semi privo da inquinamenti.



Foto 1: Veduta delle parcelle sperimentali del CRA-RIS

• Analisi della variabilità aplo-tipica del gene GBSS per l'accumulo di amilosio:

Precedenti attività condotte su una popolazione di 48 genotipi di riso con 4 diversi livelli di accumulo di amilosio (alto, intermedio, basso e waxy) avevano portato all'identificazione di marcatori molecolari che potevano discriminare genotipi waxy da quelli a contenuto intermedio/ alto di amilosio, mentre non riuscivano a discriminare genotipi con contenuto intermedio da quelli con elevato contenuto di amilosio. Al fine di ottenere marcatori dotati di maggiore capacità di informazione si è intrapresa un'ulteriore caratterizzazione degli alleli al gene GBSS. Sono stati selezionati 22 genotipi con un range del contenuto di amilosio che variava dai tipi waxy al 15-26%. Su questi genotipi sono in corso le seguenti analisi: a) risequenziamento degli esoni del gene GBSS; b) valutazione di SNP (single nucleotide polymorphism) nell'introne 1; c) verifica della variabilità nel microsatellite (SSR) presente nell'esone 1 ("CT repeat"); d) identificazione della variabilità presente nella regione regolatoria 5' (circa 1 kb nella regione 5' non trascritta) tramite sequenziamento al fine di identificare possibili differenze che potrebbero influenzare il livello di trascrizione del gene. Risultati preliminari hanno consentito di identificare polimorfismi nel primo

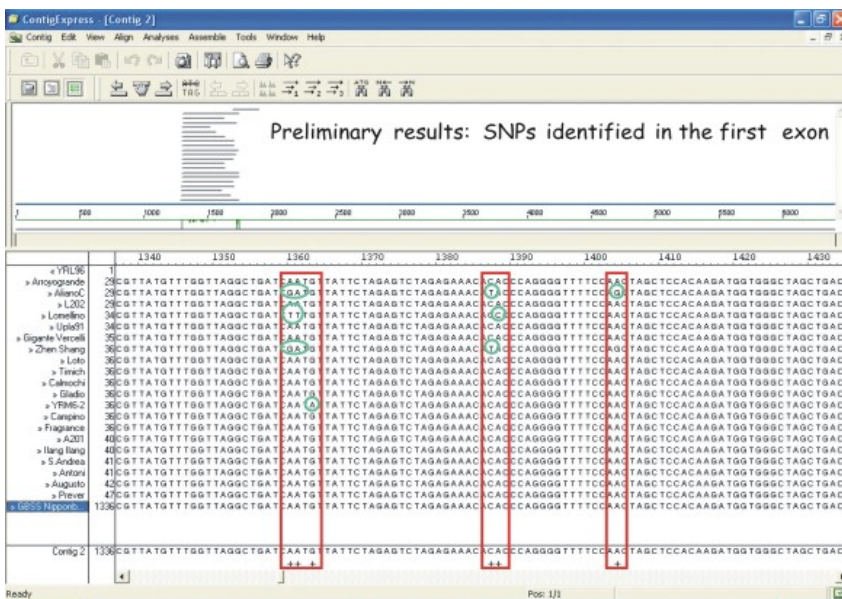


Fig. 1: Identificazione di nuovi polimorfismi nel primo esone del gene GBSS

Resultati preliminari hanno consentito di identificare polimorfismi nel primo

esone che precedentemente non erano stati rilevati. Ulteriori analisi verificheranno eventuali relazioni tra questi polimorfismi e i livelli di amilosio.

- **Caratterizzazione dell'apparato radicale di 100 accessioni di riso:** Dati bibliografici evidenziano che caratteristiche dell'apparato radicale possono influenzare l'adattabilità dei diversi genotipi di riso alla coltivazione in regime di ridotta somministrazione idrica. Al fine di identificare accessioni di riso dotate di maggiore sviluppo dell'apparato radicale, 100 accessioni sono state valutate, in ambiente di serra, in rizotroni in condizioni di coltivazione aerobica (irrigazione a goccia in rizotroni percolanti). Quando le piante hanno raggiunto le sei settimane di età, sono state estratte dai rizotroni e le radici sono state sottoposte alle seguenti determinazioni: 1) peso secco totale; quindi per diversi angoli di crescita delle radici, sono stati rilevati: 2) numero delle radici principali; 3) lunghezza massima; 4) massimo diametro; 5) peso secco; 6) diametro medio; 7) lunghezza totale e 8) il numero totale di peli radicali. L'analisi di immagine delle radici è stata condotta su immagini acquisite tramite lo strumento "WinRHIZO" e analizzate mediante specifici software. L'analisi dei dati ottenuti è in corso, ma dati preliminari indicano una consistente variabilità per le caratteristiche radicali nei diversi genotipi, caratteristiche che potrebbero comportare una diversa attitudine alla coltivazione aerobica.

Conclusioni: le attività di rigenerazione e purificazione hanno consentito di ripristinare la purezza genotipica per una frazione della collezione. Il ri-sequenziamento del gene GBSS consentirà di sviluppare nuovi marcatori diagnostici per l'accumulo di amilosio, mentre le analisi sull'apparato radicale hanno evidenziato una notevole variabilità disponibile per il carattere nella collezione.

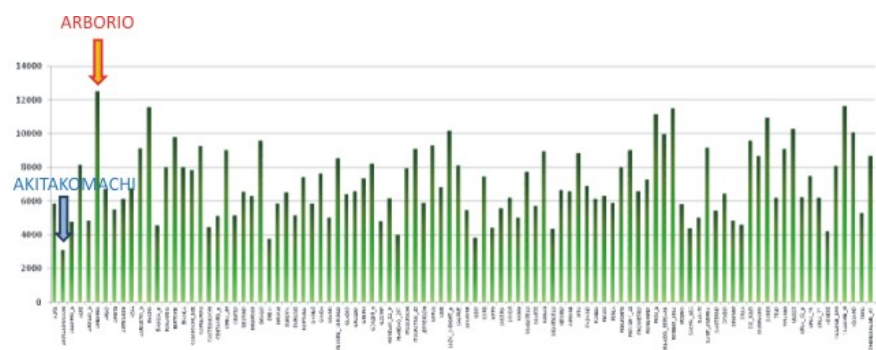


Fig. 2: Variabilità nella lunghezza totale delle radici nelle 100 accessioni analizzate

Qualità e sicurezza alimentare di genotipi italiani di mais

CRA-MAC Unità di Ricerca per la maiscoltura, Bergamo

C. BALCONI, N. BERARDO, S. LOCATELLI, C. LANZANOVA, A. TORRI, M. ALFIERI, P. VALOTI, R. REDAELLI

Le attività di ricerca sul mais all'interno del progetto RGV/FAO riguardano la caratterizzazione di germoplasma tradizionale italiano, allo scopo di individuare caratteri favorevoli da selezionare per i programmi di miglioramento genetico, con speciale riguardo allo sviluppo di genotipi con più spiccate caratteristiche di salubrità e valore nutrizionale.

Nel corso del 2011 sono stati rigenerati in campo due gruppi di materiale genetico:

- **popolazioni open-pollinated**, presenti nella collezione di germoplasma del CRA-MAC con la sigla VA, provenienti da diverse regioni italiane: Le popolazioni un tempo erano coltivate localmente su piccole aree e venivano utilizzate come alimento all'interno dell'azienda in cui crescevano. Questi materiali, oramai completamente sostituiti dagli ibridi commerciali nella coltivazione su larga scala, vengono ora recuperati in alcune zone e rimessi in coltivazione. Lo scopo è quello di ottenere un prodotto che possieda migliori caratteristiche organolettiche, e che, inoltre, esprima un valore di tradizione culturale legato al territorio e di sostenibilità della coltivazione. Diverse realtà aziendali stanno lavorando in questa direzione; per questo motivo risulta interessante caratterizzare questi materiali da un punto di vista agronomico e nutrizionale. Nel 2011, 27 varietà sono state caratterizzate in termini di resistenza o suscettibilità ai patogeni fungini presenti nell'ambiente colturale lombardo. Le indagini fitopatologiche sono state condotte mediante: i) inoculo artificiale in campo, ii) valutazione visiva dell'estensione del micelio sulla spiga, iii) valutazione del contenuto di fumonisine.

La tecnica di inoculo artificiale adottata (*Kernel Inoculation Assay-KIA*) consiste nel veicolare, tramite incisione di tre cariossidi, una sospensione di spore fungine (10^6 spore/ml) appartenenti a due ceppi di *Fusarium verticillioides* isolati nell'areale maidicolo italiano, a livello di spiga primaria, circa 15 giorni dopo l'impollinazione. In parallelo, lo stesso numero di spighe è stato inoculato con acqua sterile, per valutare l'effetto dell'inoculo per se nello sviluppo del patogeno. Alla raccolta, in corrispondenza del punto di inoculo,

sono state contate le cariossidi con segni visibili d'infezione da parte di *F. verticillioides*, definendo tre classi in base al numero di cariossidi contaminate (basso, medio, alto) come riportato in Tabella 1.

Tab. 1: Classi di appartenenza dei campioni inoculati con *F. verticillioides*

Classe	Numero cariossidi con micelio	Contenuto fumonisine (ppb- µg/kg)
basso (B)	0-3	$< 10^4$
medio (M)	3-18	$10^4 \geq 10^5$
alto (A)	>18	$10^5 \geq 2 \times 10^5$

Anche per quanto riguarda il contenuto (espresso in ppb-µg/kg) in fumonisine dei materiali inoculati, sono state individuate tre classi.

La maggior parte delle varietà ha mostrato un livello medio di suscettibilità al patogeno (Tabella 2). Solo in due casi (VA109, VA553), dopo inoculo artificiale, si è manifestata l'appartenenza alla classe di livello alto per quanto riguarda le fumonisine, in concomitanza con il livello alto del numero di cariossidi con micelio visibile al punto di inoculo. Quattro delle varietà sotto studio (VA68, VA69, VA74, VA111) sono risultate interessanti, in quanto hanno mostrato un livello basso per entrambi i parametri valutati. Il proseguimento della ricerca prevede la ripetizione della tecnica di inoculo artificiale sugli stessi materiali nel corso del 2012.

Tab. 2: Varietà valutate con inoculo artificiale (*F. verticillioides*)

Varietà e sigla	Classe	Contenuto fumonisine µg/kg*	Varietà e sigla	Classe	Contenuto fumonisine µg/kg*
VA56 Marano vicentino	M	B	VA109 Ostesa	A	A
VA62 Nostrano dell'Isola	M	M	VA111 Nostrano	B	B
VA63 Nostrano locale	M	M	VA112 Pignolino nostrano	M	A
VA65 Locale	M	M	VA113 Nostrano del Garda	M	M
VA66 Locale	A	M	VA114 Cinquantino Bianchi	M	M
VA67 Locale	M	B	VA121 Pignoletto d'oro	M	M
VA68 Nostrale	B	B	VA553 Scagliolo Marne	A	A
VA69 Locale	B	B	VA572 Nostrano dell'Isola	M	M
VA70 Locale	B	M	VA904 Cinquantino 2° racc.	M	M
VA74 Fiorentino	B	B	VA1196 Rostrato Val Chiavenna	M	M
VA83 Bianco perla	M	M	VA1269 Rostrato Esine	M	A
VA89 Scagliolo Frassine	M	M	VA1304 Spinato di Gandino	M	M
VA90 Polenta rossa	M	M	VA1306 Rostrato Marinoni	M	M
VA108 Ostesa (tipica)	M	M			

*classi di appartenenza B, M, A come descritto in Tab.1

• linee *inbred* tradizionali

Un secondo punto della caratterizzazione del germoplasma ha riguardato invece un gruppo di linee *inbred* tradizionali (Lo), selezionate negli anni precedenti per caratteristiche agronomiche e già selezionate per la resistenza a *Fusarium*. Allo scopo di valutarne il valore nutrizionale potenziale, nel corso del 2011, tredici linee *inbred* Lo dell'Unità di Ricerca e tre linee in commercio sono state moltiplicate e caratterizzate a livello biochimico e molecolare per la composizione in carotenoidi.

Il *pathway* biosintetico dei carotenoidi è stato largamente studiato e descritto negli anni (Fig. 1). Ricerche recenti hanno suggerito che sia possibile, mediante PCR, evidenziare gli alleli dell'enzima *hydroxylase 3* (HYD3) correlati a un elevato contenuto di β-carotene, composto particolarmente interessante per il suo ruolo protettivo della funzione visiva.

Le linee Lo, analizzate mediante PCR secondo il protocollo riportato in letteratura, hanno dimostrato di possedere, nella maggior parte dei casi, l'allele A dell'enzima HYD3, che è associato a un livello moderato di β-carotene. Alcuni genotipi, però (Lo 93, Lo 309, Lo 457, Lo 520 e le linee pubbliche F2, W117, W153R) risultavano caratterizzati dalla presenza dell'allele B o C, che rappresentano la

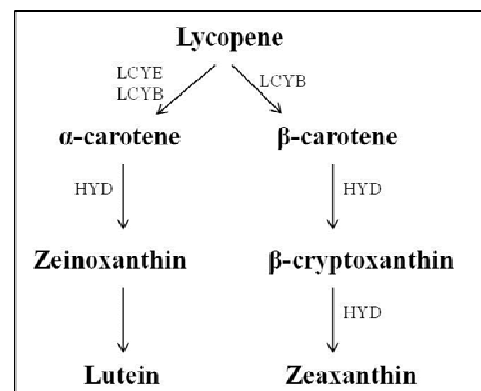


Fig. 1: Pathway biosintetico dei carotenoidi (adattato da Vallabhaneni et al., 2009)

forma allelica dell'enzima potenzialmente in grado di accumulare un maggior contenuto di β -carotene (Tabella 3).

Tabella 3. Alleli HYD3 e contenuto in carotenoidi totali in linee Lo e pubbliche riprodotte nel 2011.

Linea	Origine	Allele HYD3	Carotenoidi ($\mu\text{g/g s.s.}$)
Lo 18	Nostrano dell'Isola	A	30,99
Lo 21	Nostrano dell'Isola	A	36,66
Lo 39	Scagliolo	A	28,48
Lo 59	Marano	A	50,10
Lo 93	Scagliolino	AB	46,91
Lo 309	King Ko	AB	31,46
Lo 348	Lo5 [^] 2 x Lo23	A	33,16
Lo 435	Cinquantino Bianchi	A	23,13
Lo 452	Lo5 [^] 2 x Lo19	A	28,19
Lo 457	Lo43 x Lo 58	B	37,69
Lo 520	ICAR54	AC	27,08
Lo 589	Nostrano dell'Isola	A	35,60
Lo 1189	LA47678xP3245	A	23,16
F2	Pop. Lacaune	B	14,67
W117	Minnesota 13	B	17,16
W153R	la153 [^] 2 x W8	B	26,63

I carotenoidi totali sono stati estratti secondo il protocollo di Schaub *et al.* (2004). La densità ottica (OD) dei campioni è stata registrata a 450 nm e il contenuto di carotenoidi totali è stato calcolato usando l'equazione di Lambert-Beer ed espresso sulla sostanza secca. L'analisi ha rivelato un'ampia variabilità tra i genotipi analizzati: da 23,13 $\mu\text{g/g}$ della linea Lo 435 a 50,10 $\mu\text{g/g}$ della linea Lo 59. Il confronto con le linee pubbliche analizzate ha confermato che il germoplasma italiano risulta particolarmente ricco in carotenoidi, un dato che era già emerso in studi precedenti. Come atteso, un contenuto elevato di carotenoidi totali non è correlato alla presenza degli alleli favorevoli all'accumulo di β -

carotene.

Il proseguimento della ricerca prevede la determinazione del contenuto dei singoli carotenoidi, con particolare riferimento al β -carotene, mediante HPLC, un'analisi che è già in corso e verrà completata a breve. Nel frattempo, nel corso del 2011, sono stati realizzati degli incroci tra diverse linee Lo, e questi materiali verranno a loro volta caratterizzati per la composizione in carotenoidi e per la presenza di alleli HYD3.

Bibliografia

- BERARDO N., LANZANOVA C., LOCATELLI S., LAGANÀ P., VERDERIO A., MOTTO M. 2011. Levels of total fumonisins in maize samples from Italy during 2006–2008. *Food Additives and Contaminants: Part B*, 4 (2): 116–124
- SCHAUB P., BEYER P., ISLAM S., ROCHEFORD T. 2004. "Maize quick carotenoid extraction protocol". http://www.cropsci.uiuc.edu/faculty/rocheford/quick_carotenoid_analysis_protocol.pdf.
- VALLABHANENI R., GALLAGHER C.E., LICCIARDELLO N., CUTTRISS A.J., QUINLAN R.F., WURTZEL E.T. 2009. Metabolite sorting of a germplasm collection reveals the hydroxylase3 locus as a new target for maize provitamin A biofortification. *Plant Physiology*, 151:1635–1645

Interventi per valorizzare le risorse genetiche vegetali del frumento tenero e monocolto

CRA-SCV Unità di Ricerca per la selezione dei cereali e la valorizzazione delle varietà vegetali, S. Angelo Lodigiano (LO)

P. VACCINO, L. ORMOLI, A. GASPARINI, L. PLIZZARI, A. BRANDOLINI

Le collezioni di germoplasma sono una fonte preziosa di materiale genetico da utilizzare in programmi di miglioramento genetico per l'ottenimento di varietà più adatte alle esigenze del mercato, sia in termini di produttività sia di valenza qualitativa e nutrizionale. L'approccio tradizionalmente impiegato per l'utilizzo della variabilità presente in tali collezioni è stato di tipo "top-down", a partire da uno *screening* fenotipico atto ad evidenziare le linee con il carattere desiderato, seguito da una serie di incroci al fine di introdurre l'allele responsabile di tale carattere nel *background* genetico di varietà "elite". Più recentemente si è avviato un approccio di tipo "bottom-up", che inizia invece con analisi a livello genomico per risalire a correlazioni con il fenotipo sulla base del *linkage disequilibrium*, mediante studi di *association mapping*. In questo contesto la variabilità genetica naturale presente nelle collezioni di germoplasma, che sono costituite da linee estremamente diverse tra loro e che hanno subito nella loro storia molti più eventi di ricombinazione di una classica popolazione bi-parentale, diviene un valido mezzo per una più precisa identificazione delle associazioni tra marcatore e carattere fenotipico. Recentemente il metodo è stato applicato, ad esempio, in

frumento tenero per l'identificazione di loci per caratteri qualitativi (QTL), per dimensione della cariosside e qualità molitoria (Brescghello e Sorrels, 2006), e in frumento duro per l'identificazione di *loci* coinvolti nella risposta all'infezione da parte della ruggine bruna. La diversità genetica contenuta nelle collezioni, spesso molto vaste, risulta tuttavia di non facile fruibilità. Da qui la necessità di identificare delle "core collections", definite come campioni rappresentativi ridotti, quindi facilmente manipolabili, su cui concentrare le analisi prima di ri-esplorare le intere e più vaste collezioni (Brown AHD, 1989).

Alla luce di tale premessa, presso il CRA-SCV si è avviata un'attività di identificazione e caratterizzazione fenotipica e molecolare di due sub-collezioni (una per il frumento tenero ed una per il monococco), definite *working collections* e rappresentative dell'intera collezione presente, con lo scopo di identificare, mediante studi di *association mapping*, QTLs importanti per le specie.

Per quanto riguarda il monococco, sono state scelte 169 accessioni sulla base dell'origine geografica e delle caratteristiche qualitative e nutrizionali (160 monococchi addomesticati e 9 selvatici).

Per il frumento tenero è stata invece costituita una sub-collezione rappresentata da 157 linee individuate mediante un criterio temporale (anno di costituzione, di introduzione in coltura o diffusione), integrato con le caratteristiche produttive e qualitative. Le linee sono state suddivise in nove gruppi, che sintetizzano il percorso del miglioramento genetico del frumento tenero in Italia: si parte dal gruppo 1, che comprende antiche popolazioni locali, o *landrace*, su cui era basata la coltivazione del frumento fino ai primi anni del XX secolo, per passare al gruppo 2, che riunisce alcune linee selezionate dalle popolazioni locali, ai gruppi 3 e 4, che contengono linee costituite nei primi tre decenni del XX secolo, quando il miglioramento genetico iniziò a utilizzare la pratica dell'incrocio, avviata da Nazareno Strampelli. Strampelli, nonostante fosse all'oscuro delle leggi dell'ereditarietà sviluppate da Mendel, capì che con la semplice selezione entro popolazioni non era possibile conseguire risultati significativi e diede quindi inizio a un vasto programma di incroci tra linee di frumento italiane e straniere, oltre che tra frumento e altre specie, quali *Secale cereale* e *Dasypyrum villosum*, al fine di trasferire entro uno specifico genotipo i caratteri di interesse. Passando attraverso i gruppi 5 (linee rilasciate negli anni '50), 6 (linee che coprono il ventennio successivo) e 7 (linee rilasciate tra il 1974 e il 1989), si arriva ai gruppi 8 (linee rilasciate nel decennio 1989-99) e 9 (linee sviluppate fino al 2006).

Le linee di monococco e frumento sono state coltivate in due distinte località, S. Angelo Lodigiano e Lodi, in file individuali lunghe un metro, e valutate per caratteristiche agronomiche, fenotipiche e qualitative.

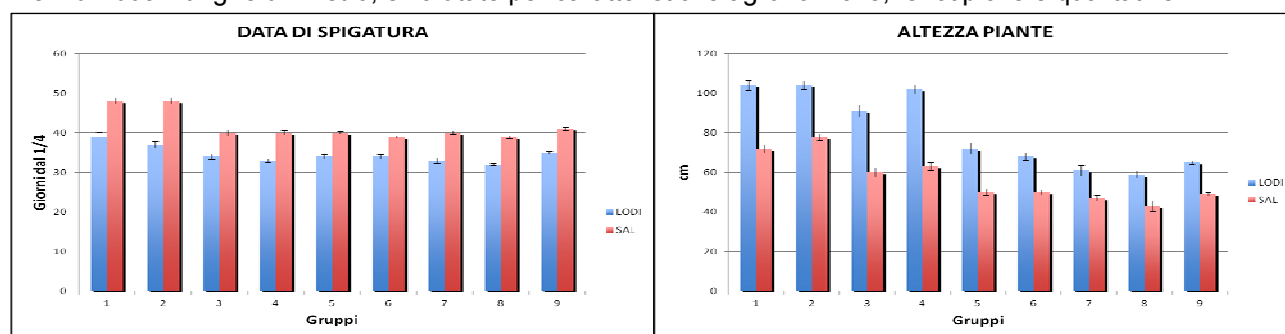


Fig. 1: Valori medi dei parametri "data di spigatura" e "altezza piante" nei gruppi di frumento tenero coltivati nelle località di Lodi e S. Angelo Lodigiano (SAL). Gli errori standard sono rappresentati mediante barre.

Sulle piante in campo sono stati rilevati portamento (all'accestimento), data di spigatura, altezza della pianta ed eventuali fitopatie. Dopo la raccolta, sono invece stati raccolti dati relativi alla spiga e alla cariosside tramite alcuni descrittori specifici sviluppati dall'*International Board for Plant Genetic Resources* (IBPGR, 1985). Un'ulteriore serie di attività, svolte in laboratorio, ha riguardato le analisi qualitative semplici, effettuate sullo sfarinato integrale, e l'indagine biochimica sulle proteine di riserva, in particolare gliadine e glutenine, che sono i principali determinanti della qualità tecnologica del frumento.

Si presentano di seguito i risultati della caratterizzazione fenotipica della *working collection* di frumento tenero.

Per quanto riguarda i rilievi fenologici, l'analisi della varianza ha evidenziato in generale differenze significative tra le località (L) e i gruppi (G), nonché l'esistenza di una interazione significativa "L x G". In particolare, passando dalle varietà più vecchie a quelle più recenti, si osserva la tendenza verso una spigatura più precoce e un graduale abbassamento della taglia (Fig. 1): questi sono due degli aspetti su cui si è concentrato il miglioramento genetico del frumento nel corso degli ultimi cento anni, al fine di allungare il periodo di riempimento della cariosside e creare varietà che, grazie alla taglia ridotta, superassero i problemi di allettamento e avessero una migliore ripartizione della sostanza secca tra organi vegetativi e riproduttivi, a favore di questi ultimi, con il conseguente aumento dell'indice di raccolta.

Per ciò che riguarda la struttura della spiga, si osserva che mediamente le linee più antiche, appartenenti ai gruppi 1 e 2, hanno forma oblunga, lasca o molto lasca, con reste anche molto evidenti, mentre nei gruppi più recenti si osservano anche spighe fusiformi e, più raramente, clavate, più compatte (densità lasca o

intermedia) e con reste tendenzialmente più corte. Per il carattere “semi/spiga” si osserva un incremento, a partire dalle varietà più antiche fino al gruppo 5 (dove si registrano una media di 50 a S. Angelo Lodigiano e di 54 a Lodi) seguito da un graduale decremento fino a valori di 45 per SAL e 51 per Lodi nelle varietà più moderne (gruppo 9).

Tutti i parametri qualitativi sono risultati statisticamente diversi tra località e gruppi. Per quanto riguarda il peso di 1000 semi, in entrambe le località si osserva una riduzione progressiva del valore a partire dalle varietà più vecchie e fino al gruppo 8, per poi registrare un leggero incremento nelle varietà più recenti (gruppo 9). Per quanto riguarda i dati medi dell'*hardness* si osserva un incremento nelle varietà più recenti,

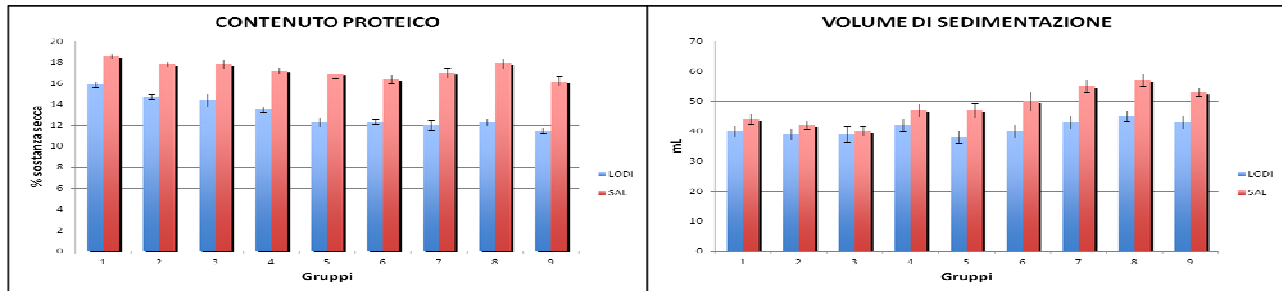


Fig. 2: Valori medi dei parametri “contenuto proteico” e “volume di sedimentazione” nei gruppi coltivati nelle località di Lodi e S. Angelo Lodigiano (SAL). Gli errori standard sono rappresentati mediante barre

che si attestano in generale sui valori delle classi *medium* e *hard*. Tale tendenza è stimolata dalle esigenze dell'industria di trasformazione: le varietà a granello *medium* e *hard*, infatti, sebbene richiedano più energia e tempo per la macinazione, possiedono caratteristiche tecnologiche ottimali per la produzione di pane e prodotti da forno lievitati. Il dato medio delle proteine sulla sostanza secca evidenzia una riduzione del contenuto, dai gruppi più vecchi verso quelli più recenti, passando da un valore medio di 17,2% del gruppo 1 a 13,9% del gruppo 9 (Fig. 2). La diminuzione del contenuto proteico non è tuttavia associata, come potrebbe essere atteso, a una minore qualità. Infatti il volume di sedimentazione (Fig. 2) che fornisce buone indicazioni sulla qualità del glutine, aumenta gradualmente dalle varietà più vecchie fino alle più recenti, con i valori maggiori nei gruppi 7, 8 e 9 (valori medi di 48,8, 51,4 e 48,1 mL rispettivamente). Questo indica chiaramente una migliore qualità delle proteine presenti nelle linee di più recente costituzione.

Al fine di analizzare complessivamente i dati morfologici, agronomici e qualitativi è stata condotta l'Analisi delle Coordinate Principali di Gower (Gower, 1966). Tale tecnica di ordinamento ha la proprietà di preservare al meglio le distanze originali fra gli oggetti nello spazio ridotto definito dagli assi principali.

Sono stati utilizzati i dati medi delle due località, che permettono di compensare eventuali effetti ambientali specifici. E' stata trascurata l'influenza delle interazioni tra località e gruppi (“L x G”) le cui varianze, quand'anche significative, sono tuttavia sempre risultate molto inferiori a quelle dei due fattori principali.

Legenda:

- B: Data spigatura
- C: Altezza pianta
- D: Intensità allattamento
- H: Peso 1000 semi
- I: *Hardness*
- J: Contenuto proteico
- K: Volume di sedimentazione
- M: Densità della spiga
- N: Aristatura
- P: Pelosità glume
- R: Dimensione cariosside
- S: n. semi/ spiga
- T: n. spighe/ spiga

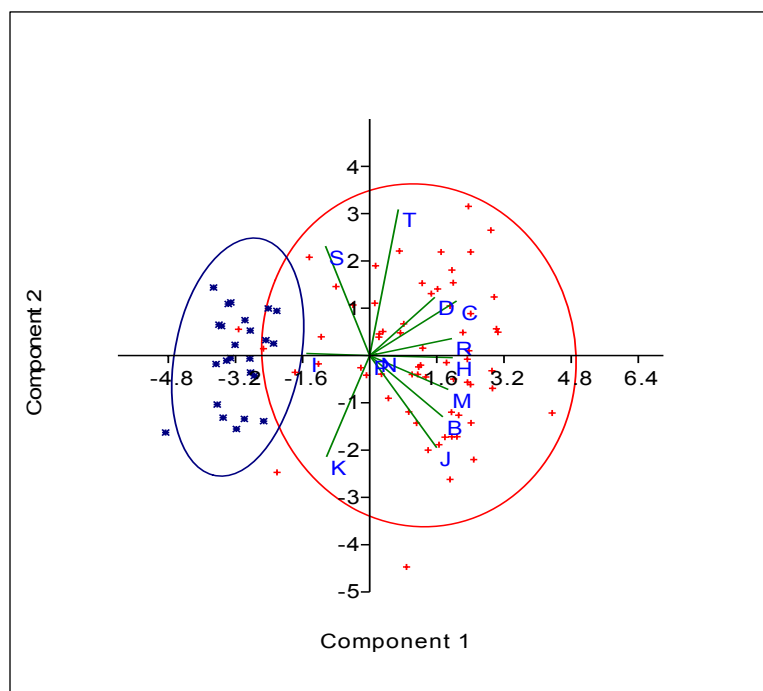


Fig. 3: Analisi delle Componenti Principali (PCA). I gruppi 1 e 2 sono identificati dai simboli rossi, i gruppi 8 e 9 dai simboli blu.

Le prime quattro coordinate spiegano oltre il 50% della varianza totale. In particolare la coordinata 1 rappresenta il 27% della varianza totale e permette di separare nettamente i gruppi 1 e 2, rappresentati dalle antiche popolazioni e dalle loro selezioni, da tutte le altre linee. La coordinata 2 distingue, seppure in maniera meno evidente, i gruppi 3, 4, 5 e 6 dai gruppi 7, 8 e 9 (riconducibili fondamentalmente ai genotipi rilasciati negli ultimi 30 anni).

Al fine di visualizzare la rilevanza dei parametri originali sulle coordinate derivate è stata condotta inoltre l'Analisi delle Componenti Principali (PCA) utilizzando solamente i gruppi estremi, riunendo da una parte le popolazioni locali e le linee da esse direttamente selezionate (gruppi 1 e 2) e dall'altra le varietà rilasciate negli ultimi vent'anni (gruppi 8 e 9). I risultati sono riportati nella fig. 3. La componente 1 permette di distinguere nettamente i due gruppi. I parametri H (peso dei 1000 semi), R (dimensione cariosside) e, in misura minore C (altezza pianta), D (intensità allettamento) ed M (densità spiga), che risultano i più affini alla coordinata 1, rappresentano i principali caratteri sottoposti a selezione dai *breeder* nel corso del centenario processo di miglioramento genetico del frumento.

Le due sub-collezioni sono state riseminate sia a S. Angelo Lodigiano che a Lodi anche per la corrente annata agraria, in modo da ottenere un altro anno di osservazioni. Le indagini molecolari sono state avviate.

Bibliografia

BROWN A.D.H. 1989. The case for core collections. In: Brown AHD, Frankel OH, Marshall DR, Williams JT, eds. The use of plant genetic resources. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 136–156.

BRESEGHELLO F., SORRELLS M.E. 2006. Association mapping of kernel size and milling quality in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Genetics* 172:1165–1177.

GOWER JC 1966. Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis. *Biometrika* 53: 325-338.

Caratterizzazione e valorizzazione di una collezione di *Triticum dicoccum*, *T. spelta* e di *Avena*

CRA-QCE Unità per la valorizzazione qualitativa dei Cereali, Roma

• Conservazione e caratterizzazione di accessioni di farro (*Triticum dicoccum* Schubler) e di spelta (*T. spelta* L.)

ANDREINA BELOCCHI, CRISTINA CECCHINI, MAURO FORNARA, STEFANO PUCCIARMATI, FABRIZIO QUARANTA, M. GRAZIA D'EGIDIO

L'attività del CRA-QCE di Roma relativa alla “conservazione e caratterizzazione di una collezione di farro (*Triticum dicoccum* Schubler) e di spelta (*T. spelta* L.)” è iniziata nel 1999/2000, a partire da un'ampia collezione di genotipi di *Triticum dicoccum* e *T. spelta*, derivante da scambi con altre Istituzioni, in particolare con l'Istituto di Genetica Vegetale del CNR di Bari.

La caratterizzazione dei genotipi è stata avviata per valutare la resistenza al freddo (in semina autunnale) e il grado di alternatività (in semina primaverile) di tutto il materiale disponibile. 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 2003/2004 le prove sono state effettuate nell'altopiano di Leonessa (RI), a un'altitudine di circa 1.000 m s.l.m., in un ambiente marginale tipico per la coltivazione del farro. A partire dalla stagione 2004/2005 il materiale è stato seminato nei campi dell'azienda Inviolatella di Roma, al fine di seguire più da vicino le prove.

Nel 2010/2011 l'attività di mantenimento e caratterizzazione del materiale disponibile è proseguita effettuando le due epoche di semina previste: il 5/11/2010 (semina autunnale) e il 9/2/2011 (semina primaverile).

Nella semina autunnale sono state utilizzate 185 accessioni di *T. dicoccum* e 126 di *T. spelta*; nella semina primaverile 284 accessioni di *T. dicoccum* e 213 di *T. spelta*. Tra i genotipi in prova, 159 accessioni di *T. dicoccum* e 116 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 l'altezza media delle piante all'apice della spiga. Il materiale è stato raccolto tra il 14 e il 15 luglio 2011; le principali analisi merceologico-qualitative sono in corso di svolgimento e in questa relazione si riportano i dati attualmente disponibili (Tab. 1).

Tab. 1: Roma 2010-2011. Caratterizzazione delle accessioni di *T. dicoccum* e di *T. spelta* in due epoche di semina.

Tab. 1. Roma 1976-1977. Caratterizzazione delle accessioni di <i>Triticum dicoccum</i> e <i>T. spelta</i> in due specie di semina.												
		<i>Triticum dicoccum</i>					<i>Triticum spelta</i>					
Semina	acc. n.	ciclo (n. gg dal 1° aprile)					n. acc	ciclo (n. gg dal 1° aprile)				
		media	err. st.	min	max	dev. st.		media	err. st.	min	max	dev. st.
aut.	185	30	0,5	8	40	6,1	125	36	0,3	24	43	3,5
prim.	284	52	0,4	37	64	6,5	212	61	0,2	45	70	3,2
		<u>altezza pianta (cm)</u>						<u>altezza pianta (cm)</u>				
		media	err. st.	min	max	dev. st.		media	err. st.	min	max	dev. st.
aut.	184	113	0,8	85	139	10,2	125	134	0,8	105	156	8,6
prim.	284	97	0,9	58	143	15,4	212	118	1,0	58	146	14,3
		<u>peso 1000 cariossidi (g)</u>						<u>peso 1000 cariossidi (g)</u>				
		media	err. st.	min	max	dev. st.		media	err. st.	min	max	dev. st.
aut.	92	38	0,9	25	58	8,2	115	42	0,4	32	52	4,3
prim.	261	36	0,4	21	51	6,4	203	40	0,4	23	57	5,7

Semina: Aut = autunnale; Prim = primaverile

Nei confronti del ciclo, alla spigatura, le accessioni di *T. dicoccum* hanno mostrato una gamma di valori compresi tra il 9 aprile e l'11 maggio in semina autunnale (intervallo di 32 giorni tra le accessioni più precoci e le più tardive) e tra l'8 maggio e il 4 giugno in semina primaverile (intervallo di 27 giorni). I valori medi di altezza sono risultati più elevati nella semina autunnale; le altezze massime sono risultate uguali nelle due epoche di semina mentre notevolmente più basse sono state le altezze minime registrate in semina primaverile. Leggermente più elevato il peso delle 1000 cariossidi (sia nei valori massimi che nei minimi) in semina autunnale.

Un intervallo più ristretto nelle spigature è stato registrato per le accessioni di *T. spelta*, in particolare nella semina autunnale (19 giorni), con spigature comprese tra il 16 maggio e il 10 giugno. Mediamente le accessioni di spelta sono risultate più alte di quelle del dicocco di circa 20 cm, con comportamento analogo al dicocco nelle due epoche di semina. Notevole la variabilità evidenziata per questo carattere, in particolare nella semina primaverile.

Il peso 1000 semi di spelta ha fatto registrare valori leggermente superiori rispetto al dicocco (+ 4g) in entrambe le semine, con un range più ampio di valori nella semina primaverile.

Sono stati rilevati i dati delle singole accessioni, separatamente per specie ed epoca di semina. Una volta disponibili tutti i dati delle analisi ancora in corso, sarà cura del gruppo di lavoro individuare le accessioni con le caratteristiche più interessanti al fine di incrementarne la disponibilità di seme per effettuare confronti in prove parcellari ripetute.

• Caratterizzazione e valorizzazione di accessioni di avena

DANIELA SGRULLETTA¹, GIULIA SCALFATI¹, RITA REDAELLI², SILVIA BELLATO¹, GIOVANNA TERRACCIANO¹, ROBERTO CICCORITTI¹, ESTER DE STEFANIS¹

¹CRA-QCE, Roma, ²CRA-MAC, Bergamo

Nell'ambito di un più ampio progetto sull'avena nuda che ha l'obiettivo di caratterizzare il materiale genetico disponibile e di individuare le condizioni agronomiche e/o ambientali adatte a ottimizzare l'accumulo nel seme dei composti bioattivi di interesse per l'alimentazione umana, è stata valutata la variabilità nel contenuto in fibra totale e in componenti della fibra (β -glucano totale e solubile, e arabinoxilano), in un gruppo di tre varietà moderne di avena nuda che sono state raggruppate in "meno recenti" (iscritte al rispettivo registro nazionale entro il 2004) e tre "recenti" (iscritte dopo il 2004). Sono inoltre state utilizzate sei varietà di avena nuda di diversa provenienza e iscritte al relativo registro nazionale tra il 1983 e il 2009. Il gruppo delle varietà meno recenti comprendeva: 'Nave' (registrata in Italia nel 1983), 'Expression' e 'Grafton' (registrate in Inghilterra nel 2000 e nel 2004, rispettivamente). Le varietà recenti erano rappresentate dalla varietà 'Zuton' (Inghilterra, 2006) e da due varietà italiane, 'Irina' e 'Luna' (2009). Le prove agronomiche sono state condotte in annate agrarie caratterizzate da differenti condizioni climatiche sia per quanto riguarda le temperature che le precipitazioni. Infatti, nel 2007-08 si sono registrate temperature medie inferiori sia nei valori minimi che nei valori massimi a quelle del 2006-07; inoltre, le precipitazioni avvenute (326 mm vs 626 mm, rispettivamente nel primo e secondo anno) hanno determinato una significativa differenza nella disponibilità di acqua in tutto il ciclo vegetativo della pianta.

Risultati

Resa e contenuto proteico

Come atteso, l'analisi della varianza sulla resa in granella e il contenuto proteico hanno evidenziato significativi effetti genetici, un forte effetto attribuito all'anno di coltivazione così come significative interazioni "genotipo x ambiente" (dati non riportati). In particolare, è stata osservata una differente risposta tra i due

gruppi di varietà. Infatti, in media, il gruppo delle varietà di costituzione più recente presentava valori più elevati per la resa in granella e il contenuto proteico rispetto al gruppo delle varietà meno recenti (1,69 vs 1,34 t/ha e 19,29 vs 17,73 %s.s., rispettivamente, dati non riportati). Tra tutti i genotipi analizzati, Luna è risultata quella con la maggiore produzione (1,81 t/ha), mostrando, inoltre, il contenuto proteico più elevato (20,50 %s.s.) e il migliore peso ettolitrico (56,5 vs un valore medio di 52,1 kg/hL).

Fibra dietetica totale (TDF) e sue componenti

I risultati dell'ANOVA per TDF e le sue componenti hanno evidenziato come l'anno sia il principale fattore di variabilità per i parametri considerati, mentre le differenze tra le varietà sono state marcatamente significative solo per gli arabinoxilani e la fibra dietetica totale. Le diverse condizioni climatiche riscontrate nei due anni di prova hanno, inoltre, influenzato differenzialmente l'accumulo nella granella dei composti bioattivi di interesse: si sono evidenziati, infatti, effetti ambientali significativi e significative interazioni "genotipo x ambiente" (dati non riportati).

La tabella 2 presenta le percentuali di TDF e sue componenti separando le varietà nei due gruppi omogenei in relazione all'anno di iscrizione al relativo registro nazionale; come si può osservare, le differenze riscontrate tra i due gruppi di varietà sono meno nette rispetto a quelli precedentemente discussi, in particolare per il contenuto in Arabinoxilani Totali (AX). In media, la varietà 'Nave' presenta il più elevato contenuto in TDF con un'alta concentrazione in AX (rispettivamente, 14,09 e 1,74 %s.s.), mentre 'Luna' mostra i valori più bassi (rispettivamente, 11,91 e 1,35 %s.s.). Il β -glucano totale presenta un range di variabilità compreso tra 3,85 ('Luna') e 4,43 %s.s. ('Expression'), mentre per la sua frazione solubile si evidenzia un valore minimo di 3,35 ('Luna' e 'Irina') e un valore massimo di 3,69 %s.s. ('Expression'). Per questi composti, le varietà di meno recente costituzione presentano la tendenza ad accumulare quantità più elevate mentre la percentuale di solubile rispetto al totale è simile nei due gruppi (85,0 vs 84,7, dati non riportati).

Tabella 2. Contenuto (%s.s.) in Fibra Dietetica Totale (TDF), Arabinoxilani totali (AX) e β -glucano totale e solubile nei due gruppi di avene nude analizzati.

Accessione	<u>TDF</u>			<u>AX</u>			<u>β-glucano</u>					
							totale			solubile		
	2007	2008	M ⁽¹⁾	2007	2008	M	2007	2008	M	2007	2008	M
Varietà meno recenti												
Nave	13,2	15,0	14,1	1,35	2,14	1,74	4,33	4,03	4,18	3,86	3,22	3,54
Expression	11,7	15,7	13,7	1,04	2,14	1,59	4,07	4,79	4,43	3,28	4,09	3,69
Grafton	11,9	12,2	12,0	1,27	2,04	1,66	3,93	4,35	4,14	3,38	3,83	3,61
Media	12,2	14,3	12,9	1,22	2,11	1,70	4,11	4,39	4,25	3,62	3,52	3,57
Varietà recenti												
Luna	10,3	13,6	11,9	1,54	1,16	1,35	3,53	4,18	3,85	3,13	3,58	3,35
Irina	10,9	14,8	12,9	1,65	2,06	1,85	3,92	4,04	3,98	3,34	3,37	3,35
Zuton	10,9	13,6	12,3	2,11	1,15	1,63	3,84	4,28	4,06	3,25	3,49	3,37
Media	10,7	14,0	12,8	1,76	1,45	1,57	3,76	4,16	3,96	3,24	3,48	3,36
Media generale	11,5	14,1	12,8	1,49	1,78	1,64	3,94	4,28	4,10	3,43	3,46	3,46

⁽¹⁾ M = media dei due anni

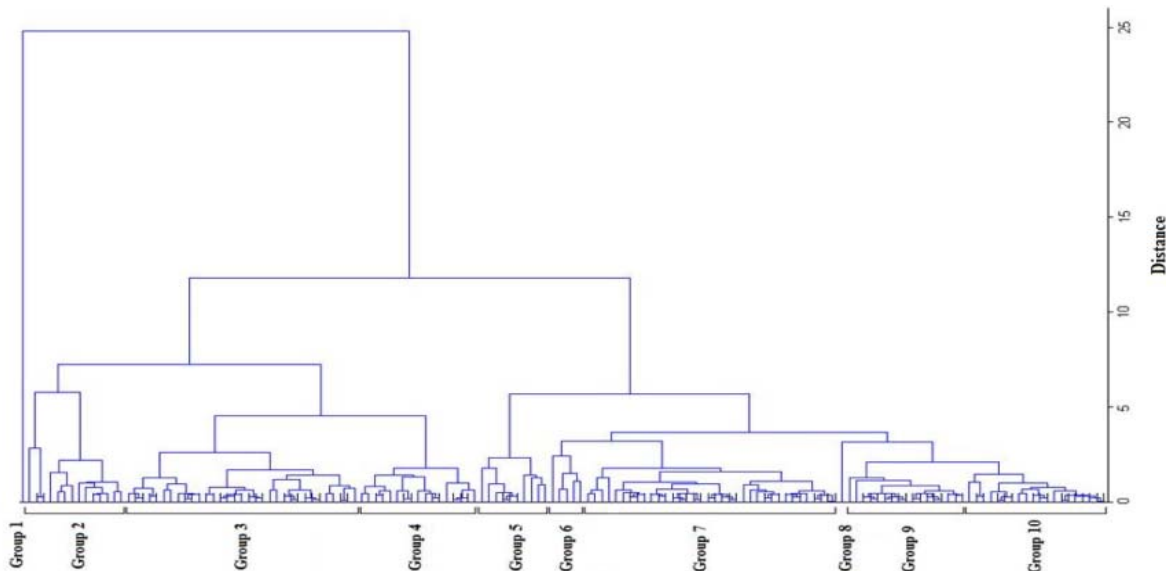
Come riportato nella Tabella 2, nel 2008, in tutte le varietà di avena nuda considerate sono significativamente più elevati, rispetto al 2007, l'accumulo di TDF e il contenuto in AX nelle varietà meno recenti. Tra le varietà recenti, i campioni di 'Zuton' e 'Luna' raccolti nel 2008 presentano un contenuto inferiore in AX, mentre 'Irina' mostra un significativo incremento (20%). In media, nel 2008, le condizioni climatiche appaiono favorire l'accumulo di β -glucano totale nei due gruppi di varietà, con risposte diverse in relazione alle caratteristiche intrinseche varietali. Per quanto riguarda l'accumulo della frazione solubile del β -glucano, un impatto importante è dovuto all'interazione tra genotipo e ambiente.

Dai dati discussi è emerso come il lavoro di miglioramento genetico degli ultimi anni abbia portato alla costituzione di nuovi genotipi significativamente più produttivi e abili nell'utilizzare i nutrienti anche per produrre cariossidi a più elevato contenuto proteico. È stato inoltre confermato come l'ambiente giochi un ruolo fondamentale sull'accumulo delle fibre e delle sue componenti, in presenza comunque di significative interazioni "genotipo x ambiente". In sintesi, la forte interazione fra genotipo e condizioni climatiche, in particolare per i composti legati alla qualità nutrizionale dell'avena, è una chiara indicazione che un'efficiente valutazione dei genotipi in selezione dovrebbe essere effettuata in differenti condizioni ambientali.

Screening del germoplasma di avena per il contenuto in β -glucano totale e solubile

L'analisi *cluster* (*hierarchical clustering*) è stata utilizzata per la valutazione dei risultati della caratterizzazione per il contenuto in β -glucano totale e solubile di 154 genotipi di avena presenti nella collezione CRA e provenienti da diversi Paesi europei. Sono stati così creati 10 gruppi relativamente omogenei utilizzando tre variabili come criterio di classificazione: β -glucano totale e solubile e il rapporto percentuale tra le due misure. (Fig. 1).

Fig. 1: Caratterizzazione di genotipi di avena per il contenuto in β -glucano totale e solubile (n = 154)



Considerando la percentuale di frazione solubile, si osserva un incremento di questo valore muovendosi lungo il *cluster* dal gruppo 1 (50,7%) al gruppo 10 (82,4%); questo risultato indica che la percentuale della frazione solubile è il fattore predominante nel determinare il raggruppamento delle accessioni di avena.

La sola eccezione è rappresentata dal gruppo 5, che mostra il valore medio più elevato e in cui tutte le accessioni presenti presentano valori superiori all'80%; verosimilmente, in questo caso, altri fattori oltre la percentuale del solubile influenzano la classificazione di questi genotipi.

La Tabella 3 mostra le accessioni di avena presenti in ogni gruppo, i valori medi e il *range* di variabilità per il β -glucano totale per il rapporto % solubile/totale.

Tab. 3: Caratterizzazione di genotipi di avena per il contenuto in β -glucano totale e solubile

Gruppo	n. accessioni	β -glucano % s.s.	Media $\pm$ SD	Range di variazione
1	1	Totale	6,23	-
		Solubile/totale (%)	50,7	-
2	14	Totale	4,31 $\pm$ 0,6	3,40 – 5,22
		Solubile/totale (%)	62,9 $\pm$ 2,6	57,5 – 65,9
3	33	Totale	4,24 $\pm$ 0,5	3,46 – 5,01
		Solubile/totale (%)	68,6 $\pm$ 1,4	66,2 – 70,7
4	17	Totale	4,20 $\pm$ 0,5	3,43 – 5,11
		Solubile/totale (%)	73,0 $\pm$ 0,9	71,5 – 74,6
5	10	Totale	4,01 $\pm$ 0,7	2,85 – 5,22
		Solubile/totale (%)	85,2 $\pm$ 1,0	83,9 – 87,0
6	5	Totale	6,03 $\pm$ 0,6	5,47 – 6,77
		Solubile/totale (%)	76,9 $\pm$ 1,1	75,1 – 78,1
7	36	Totale	3,97 $\pm$ 0,6	3,21 – 5,72
		Solubile/totale (%)	78,2 $\pm$ 0,8	76,8 – 79,5
8	1	Totale	6,28	-
		Solubile/totale (%)	80,3	-
9	17	Totale	4,08 $\pm$ 0,4	3,28 – 4,87
		Solubile/totale (%)	80,4 $\pm$ 0,3	80,0 – 81,0
10	20	Totale	4,19 $\pm$ 0,5	3,59 – 5,46
		Solubile/totale (%)	82,4 $\pm$ 0,4	81,7 – 83,1

Caratterizzazione morfo-fisiologica di accessioni di peperone e pomodoro: omogeneità e distinguibilità di varietà da conservazione

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

N. TROTTA, G. ROFRANO, G. FESTA, A. VIVONE, P. TEDESCO, G. DE VIVO, R. PEPE

Introduzione

L'attività svolta in seno al progetto RGV/FAO a Pontecagnano presso il CRA-ORT ha riguardato il recupero di nuove accessioni vegetali, la messa in allevamento e la loro caratterizzazione morfologica.

In questo contesto saranno presentati i risultati inerenti le prove sperimentali RGV/FAO 2011 per la caratterizzazione morfo-fisiologica di accessioni di pomodoro e peperone.

L'obiettivo della prova ha riguardato la verifica della stabilità morfologica di alcuni genotipi, sia di peperone che di pomodoro, nonché la descrizione morfo-fisiologica di quel germoplasma di cui erano noti solo alcuni aspetti di qualità.

Materiali e metodi

Genotipi e allevamento piante

La popolazione di pomodoro è composta da otto varietà locali di cui tre pomodori da serbo "piennoli gialli", tre da industria, uno da mensa e un altro a duplice attitudine, da mensa e da industria (Tab.1).

Tab. 1: Accessioni di pomodoro caratterizzate nell'anno 2011 – RGV/FAO

Accessioni caratterizzate	Codice identificativo	Attitudine
Pummarola gialla Sala	POM108	da serbo
Pomodoro giallo Caggianese	POM11/A; POM11B	da serbo
Pomodoro a Sole quadrato SGM Grippo	POM 13	da serbo
S. Marzano Salese	POM 109	da industria
Pomodoro rosso Buccinese	POM 118	da mensa e da industria
Riccia di Rofrano	POM 1	da industria
Pomodoro sig.ra Maria tipo tondo	POM 7	da mensa

Per il peperone la caratterizzazione ha interessato nove accessioni, riportate in tabella 2, appartenenti alla categoria dei peperoni dolci.

Tab. 2: Accessioni di peperone dolce caratterizzate nell'anno 2011 – RGV/FAO

Denominazione accessione	Codice identificativo	Forma del frutto
Pupanetto all'in su	ACC 1007	moderatamente triangolare
Buccino corto	ACC 1207	cordiforme
Papaccella di Buccino	ACC 1300	cordiforme
Chiochiera Mario	ACC 1301	mescolanza
Cornetto dolce Sala	ACC 1401	triangolare stretta
Cornetto all'in su	ACC 1403	a corno
Sciuscillone ECO 7	ACC 1500	a corno
Sciuscillone ECO 3	ACC 1502	a corno
Sciuscillone Giovanna Mazza	ACC 1504	a corno

Per entrambe le specie, la semina è stata eseguita intorno alla prima quindicina di marzo, in contenitori alveolari di polistirolo e posti a germinare in ambiente protetto.

La prova sperimentale è stata realizzata in due serre, una per specie. In entrambi i casi le serre metalliche sono state ricoperte con telo trasparente per uso serricolo, chiuse lateralmente con rete anti-insetto 0,75 x 0,39 mm di colore bianco trasparente e, infine, si è ricorsi alla pacciamatura con film di PVC di 0,15 mm di spessore.

Ai primi di maggio, allo stadio della 4^a-5^a foglia, le piantine sono state trapiantate realizzando la prova secondo uno schema a blocco randomizzato con tre repliche, composte da 15 piante ognuna e adottando un distanza d'impianto di 1x1 m per i pomodori e 70x70 cm per i peperoni. I rilievi sono stati eseguiti solo sulle 13 piante interne al filare costituenti la parcella. L'intera area destinata alla prova è stata circondata con piante di pomodoro o peperone, a seconda della specie saggiata, non destinate alla caratterizzazione, ma solo alla protezione delle piante in prova da eventuale effetto bordo del campo.

Descrittori e rilievi

Le caratteristiche morfologiche rilevate durante la prova corrispondono a un set di descrittori riportati nella linea guida CPVO TP_044_3 del 21 marzo 2007 per il pomodoro e al documento UPOV TG/76/8 del 5/4/2006 per il peperone. In aggiunta sono stati rilevati anche: pH, gradi Brix, numero di frutti per pianta e produzione per pianta e per parcella. I dati rilevati sono stati registrati direttamente in campo mediante l'uso di un palmare (HP, ipaq214) per una rapida e più sicura archiviazione su supporto informatico.

Criteri di ordinamento

Tutte le informazioni raccolte sono state organizzate al fine di analizzarle da un punto di vista statistico mediante un'Analisi Esplorativa dei Dati (EDA). Sono stati utilizzati metodi descrittivi per dati multivariati, al fine di studiare le somiglianze e le differenze tra gli individui da un punto di vista multidimensionale. Quindi, sia un'Analisi Fattoriale per componenti Multidimensionali (AFM), che attraverso un metodo di un *clustering* gerarchico (HCPC), mediante l'indice di Gower e il metodo agglomerativo di Ward.

Per l'elaborazione dei dati e la rappresentazione dei risultati è stato utilizzato l'ambiente R (R Development Core Team, 2011) con le estensioni "FactorMinerR" (Husson *et al.*, 2010), "RcolorBrewer" (Neuwirth, 2011), "Colorspace" (Ihaka *et al.*, 2011) e "Cluster" (Martin Maechler *et al.*, 2012).

La procedura adoperata, per ogni genotipo, è stata quella di creare una matrice di dati "n x p". Il numero n di individui non è stato identico per tutti i genotipi poiché dal dataset sono state eliminate le informazioni inerenti le piante malate e i soggetti che si possono definire "O.T." in maniera palese per quanto concerne gli aspetti fenologici facilmente evidenziabili sotto controllo visivo. Fatta questa epurazione si è eseguita l'AFM: l'interpretazione dei risultati è basata sulle correlazioni tra fattori e descrittori e si fa in termini di questi ultimi. La soglia di piante fuori tipo consentite è stata del 10%. Non esistendo per le ortive ancora una legislazione in merito ai requisiti da rispettare per l'ammissione all'iscrizione al Registro delle Varietà da Conservazione, ci si è posti come punto di riferimento la soglia prefissata dalle specie agrarie, che per l'appunto è del 10% (D.M. del MiPAAF del 17/12/2010, pubblicato in G.U. n°39 del 17 febbraio 2011. "Disposizioni applicative del D.L. n° 149 circa le modalità per l'ammissione al registro nazionale delle varietà da conservazione di specie agrarie"). Dopo tale elaborazione, solo per gli individui considerati statisticamente "simili" o "prossimi" entro tale soglia, sono stati mediati i valori dei singoli descrittori e utilizzati per produrre una scheda descrittiva per ogni genotipo, inclusa in un *report* annuale con tutte le indicazioni in merito all'allevamento delle piante, all'esecuzione della prova e ai risultati statistici ottenuti.

Risultati

Varietà locali di pomodoro

L'omogeneità dei singoli genotipi da serbo è perfettamente rispettata. Sono piante a sviluppo indeterminato, con foglie bipennate, frutti circolari, gialli esternamente, con polpa arancio-rosa alla raccolta che vira maggiormente verso il rosso dopo la conservazione. L'analisi fattoriale, in questo contesto, è stata applicata maggiormente per scoprire se fosse presente una eventuale similitudine tra i tre genotipi in osservazione. Dalla figura 1 si evince che ogni genotipo, fatta eccezione per due individui, mantiene perfettamente la sua identità. Quindi tra i tre gruppi c'è sufficiente

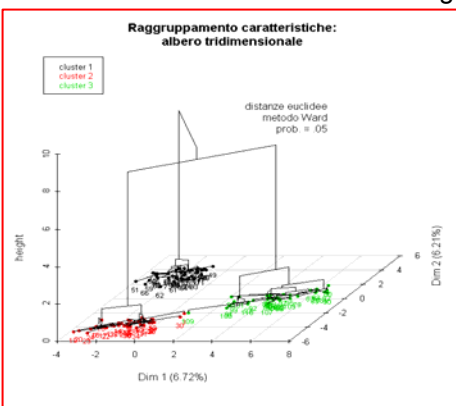


Fig. 2: Raggruppamento delle caratteristiche vegeto-produttive dei tre "piennoli gialli". Distanza euclidica, metodo di Ward, prob=0,05

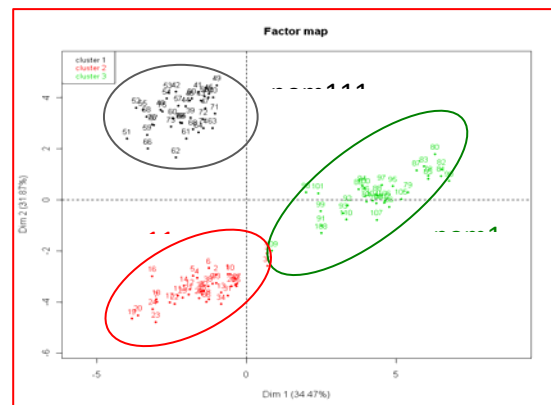


Fig. 1: Mappa dei fattori e posizione degli individui dei "piennoli gialli" nello spazio delle prime due componenti fattoriali

eterogeneità statistica, così come emerge sufficiente omogeneità statistica interna ai gruppi (figura 2).

La varietà POM108 si differenzia per la taglia del frutto (più grande), infatti ha un volume medio di 46 cm³ contro i 26 e 28 cm³ rispettivamente dei frutti della POM111A e della POM111B. I genotipi POM 111A e POM 108, hanno foglie più grandi della terza varietà, inoltre sono più brillanti e presentano una intensità del colore verde più forte. Fra le tre varietà locali la POM 111B è caratterizzata da un più basso grado zuccherino (6,5°Brix) e da un contenuto di sostanza secca più alto (7,4%) delle restanti accessioni. Sotto l'aspetto produttivo le differenze sono pressoché inesistenti. I genotipi da industria, piante a frutto cilindrico (POM109 e POM1 e POM13), si differenziano tra loro per alcune caratteristiche primarie:

la POM13 è a sviluppo determinato e i rispettivi frutti verdi non presentano colletto ante-maturazione; le altre due sono a sviluppo indeterminato, ciò che le contraddistingue è la sufficiente omogeneità interna della POM109, contro la forte mescolanza che si registra fra le piante della POM1. Infatti in quest'ultima sono stati individuati tre *cluster* oltre un O.T. Un gruppo distinguibile per il frutto a forma cilindrica e non costoluto, gli altri due gruppi comprendono piante con frutti rettangolari e leggermente costolati, ma un gruppo ha piante più precoci di circa 6 giorni, sia in termini di fioritura che di maturazione e, nel contempo, sono meno produttive (una produzione media per pianta di 1.600 g con un numero medio di frutti pari a 24, contro i 3.100 g mediamente prodotte dalle singole piante dell'altro *cluster* e con 39 frutti per pianta).

La POM 118 è anch'essa una varietà a frutto rettangolare di un colore rosso molto delicato, quasi tendente al rosa. È risultata una popolazione molto omogenea e si differenzia dalle altre piante a frutto rettangolare (POM1_2*cluster* e POM1_3*cluster*), per il tipo di sviluppo della pianta (determinato), per avere una infiorescenza principalmente multipara e una taglia più piccola del frutto (84cm³ contro i 154 e i 146 cm³ rispettivamente della POM1_2tipo e POM1_3tipo) e una consistenza non forte. E' la varietà locale più precoce fra tutte le saggiate, sia in termini di fioritura (7-8 gg di anticipo), che di maturazione dei frutti: rispetto ai "piennoli" 55 giorni prima, rispetto alle altre in media 20 giorni.

Infine la POM7: Pomodoro sig.ra Maria tipo tondo, è un pomodoro da mensa morfologicamente molto omogeneo, una tipologia molto produttiva (4,0 kg pt⁻¹) e a maturità scalare. Buono il livello zuccherino (6,8°Brix), non eccessivamente alto il contenuto di sostanza secca.

Varietà locali di peperoni

L'omogeneità è stata sufficiente per ben 7 accessioni, solo due varietà locali sono state definite eterogenee: l'Acc1207, poiché su 21 piante saggiate, 15 presentavano caratteristiche non conformi a quanto dichiarato dall'agricoltore custode e a quanto verificato all'atto del prelevamento del campione; l'Acc1301 è risultato un campione totalmente eterogeneo per la presenza di svariati genotipi (piante a frutti moderatamente triangolari, strettamente triangolari, cordiformi e trapezoidali).

Le tipologie a corno sono molto simili fra loro, eccetto l'Acc1502 che risulta meno produttiva delle altre 3 varietà locali (600 g in meno), gli altri 37 descrittori risultato espressi nella stessa modalità all'interno di questo gruppo.

Conclusione e Discussione

Pomodori: Dai risultati conseguiti, si desume che per i pomodori le varietà locali più apprezzabili morfologicamente sono stati i "piennoli gialli", il tipo da mensa Pom 7: 'Pomodoro sig.ra Maria tipo tondo' e il tipo a duplice attitudine 'POM118: Pomodoro rosso Buccinese'. Poiché esiste la volontà dell'iscrizione al Registro Varietale di questo germoplasma, si è programmato di riprovarli per un secondo anno di attività (nel 2012), sia nell'azienda sperimentale del CRA-ORT, rispettando le stesse condizioni di allevamento del 2011, al fine di confermare la stabilità morfologica, che in aziende esterne al Centro, in cui agricoltori locali si sono mostrati disponibili ad allevare i genotipi, eseguire, sotto la supervisione dei tecnici del CRA-ORT, i rilievi morfo-fisiologici, valutare la produzione, nonché il livello di gradimento dei consumatori.

Solo ad esito positivo si potrebbe procedere alla domanda di iscrizione al Registro e a stipulare con ditte sementiere accordi per il mantenimento della purezza varietale dei genotipi che saranno eventualmente iscritti.

Per i peperoni occorre un accertamento più accurato delle peculiarità dei genotipi in conservazione, non tanto per l'omogeneità delle accessioni, quanto sulla consistente similitudine riscontrata fra essi, per cui un ulteriore anno di attività *in situ* ed *ex situ* servirà per un maggiore controllo e verifica di questo aspetto peculiare.

Bibliografia

BIOVERSITY INTERNATIONAL, 2007. Guidelines for the development of crop descriptor lists. Bioversity Technical Bulletin n.13. Bioversity International, Rome, Italy.

DECRETO DEL PRESIDENTE DELLA REPUBBLICA N. 1065 dell' 8 ottobre 1973, e successive modificazioni: Regolamento di esecuzione della Legge 25 novembre 1971, n. 1096, concernente la disciplina della produzione e del commercio delle sementi.

DECRETO LEGISLATIVO N. 1096 del 25 novembre 1971: Disciplina dell'attività sementiera

DECRETO LEGISLATIVO N. 176 del 1976: Sementi per le colture erbacee, ortive, materiali di moltiplicazione da fiore e da orto. Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana, 124

DECRETO MINISTERIALE N. 4604 del 20/02/2009: Criteri e procedure tecniche per l'iscrizione al registro Nazionale di varietà di specie ortive.

DECRETO LEGISLATIVO N.149 del 29 ottobre 2009: "Attuazione della direttiva 2008/62/CE concernente deroghe per l'ammissione di ecotipi e varietà agricole naturalmente adattate alle condizioni locali e regionali e minacciate di erosione genetica, nonché per la commercializzazione di sementi e di tuberi di patata a semina di tali ecotipi e varietà. (09G0166)", pubblicato sulla Gazzetta Ufficiale n. 254 del 31 ottobre 2009

DOCUMENTO UPOV TG/8/1: Use of statistical procedures in Distinctness, Uniformity and Stability testing. Trial design and techniques used in the examination of distinctness Uniformity and Stability

IHAKA R.; MURRELL P.; HORNIK K.; ZEILEIS A., 2010. colorspace: Color Space Manipulation. R package version 1.1-0 1.4

LINEA GUIDA DELL'INTERNATIONAL UNION FOR THE PROTECTION OF NEW VARIETIES OF PLANTS (UPOV) TG/076/2 del 05 aprile 2006

MARTIN MAECHLER, 2012. Cluster Analysis Extended Rousseeuw *et al.* R package 'cluster' version 1.14.2

NEUWIRTH E., 2011. RColorBrewer: ColorBrewer palettes. R package version 1.0-5. 1.4

QUADERNO ENSE n.6. La produzione di sementi di pomodoro, melanzana e peperone (1958), a cura di Roberto Anderlini

R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0 1.4

Recupero, conservazione e valorizzazione di alcune orticole in Lombardia

CRA-ORL, Montanaso Lombardo.

Massimo Schiavi, Filippo Salamone

- **Prosecuzione della selezione conservativa delle varietà locali di cipolla 'Rossa di Breme' e 'Paglierina di Sermide'.**

Cipolla 'Paglierina di Sermide'

E' una cipolla a giorno intermedio (semina da settembre a febbraio) molto coltivata sino agli anni '80 nei comuni di Sermide, Felonica Po' e limitrofi; il bulbo è di forma trottola-globosa e di colore giallo paglierino



Foto 1 e 2: Cipolla 'Paglierina di Sermide': popolazione originale (sinistra) e migliorata (destra)

presenta notevoli dimensioni (anche superiori a 1 kg). Tra i principali difetti spiccano la forte disformità per i principali caratteri morfologici (forma, colore, vestitura del bulbo) e l'eccessiva dimensione dell'attaccatura delle foglie al bulbo ("bull neck") che favorisce

la penetrazione di funghi (Botrite) e batteri che ne pregiudicano la conservabilità.

Nella primavera 2011 sono stati prodotti i bulbi da utilizzare per il terzo ciclo di selezione ricorrente con valutazione di progenie S_1 . I bulbi raccolti sono stati essiccati in serra e selezionati per forma a trottola globosa, colore paglierino intenso e buona vestitura. I bulbi selezionati (circa 100) sono stati messi in vaso nell'autunno 2011 e posti in allevamento in serra. Nel 2012 al momento della fioritura si procederà all'esecuzione delle autofecondazioni.

Cipolla 'Rossa di Breme'

Si tratta di uno dei pochi esempi di cipolla a giorno corto autoctona dell'Italia settentrionale. Sebbene non esista una documentazione specifica sull'inizio della coltivazione di questa cultivar, la tradizione popolare vuole sia antichissima facendola risalire ad alcuni monaci della Novalesa che si insediarono a Breme (PV) nel X secolo. Attualmente coltivata su poche migliaia di m^2 da parte soprattutto di agricoltori amatoriali dà 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 a crudo.

La pianta è molto vigorosa, caratterizzata da foglie ricche di cera e sensibile alle principali malattie dell'apparato fogliare.

L'attività svolta nel 2011 ha riguardato la produzione di bulbi per l'esecuzione di un nuovo ciclo di selezione massale che mira a uniformare forma, colore e vestitura del bulbo. I bulbi raccolti sono stati selezionati per forma piatta, colore rosso intenso e buona vestitura. Nell'ambito dei bulbi raccolti è stato ritrovato anche un bulbo di colore giallo su cui saranno eseguite analisi per verificarne la provenienza.



Foto 3: Bulbi della cipolla 'Rossa di Breme'

• Selezione conservativa di due varietà locali di radicchio mantovano

I radicchi appartengono alla famiglia delle *Asteraceae*, genere *Cichorium*, specie *intybus*. Sono piante biennali con radice fittonante che nel primo anno formano una rosetta di foglie più o meno compatta (grumolo) e nel secondo anno emettono lo scapo florale. Il radicchio è pianta tipicamente allogama che presenta spesso fenomeni di autoincompatibilità di tipo sporofitico. La fecondazione è prevalentemente entomofila.



Foto 4: Radicchio 'Bianco Mantovano'

In provincia di Mantova, da tempo immemorabile, viene coltivata una tipologia molto pregiata dal punto di vista organolettico denominata 'Radicchio Bianco Mantovano' o 'cicoria capotta'. Questo radicchio è caratterizzato da colore bianco privo di screziature, lamina fogliare molto sottile e basso contenuto di composti che determinano il sapore amaro. L'elevata eterozigosi della specie, la coltivazione promiscua delle generazioni a seme di diversi ecotipi effettuata dai singoli coltivatori, nonché la mancanza di interventi di selezione conservativa, ha portato alla perdita dell'uniformità morfologica e della tipicità del prodotto. Un'altra tipologia meno diffusa ma ugualmente pregiata è il 'Radicchio Rosa' caratterizzato da una pregevole colorazione non riscontrabile su altri ecotipi coltivati in Italia.

Gli obiettivi del lavoro sono riconducibili alla ricostituzione e

valorizzazione delle cv 'Bianco Mantovano' e 'Rosa Mantovano' caratterizzate dalle seguenti caratteristiche:

- Forma del cespo: a rosetta
- Colore: uniforme di colore bianco o rosa intenso, vivo e lucente.
- Precocità: molto accentuata.
- Uniformità: elevata e stabile nel tempo.

Per il radicchio bianco, nel marzo 2011, dal campo allestito nel 2010, sono state selezionate 40 piante dotate delle caratteristiche oggetto di selezione (uniformità, tendenza a formare il grumolo, colore bianco lucente, buono stato fitosanitario). Le piante selezionate sono state invasate e allevate in serra sino all'inizio dell'antesi quando sono state poste sotto isolatore per la produzione del seme. Considerando la quasi completa autoincompatibilità nell'isolatore sono state introdotte pupe di mosca carnaria per assicurare la fecondazione incrociata. Nell'agosto 2011, col seme raccolto, è stato allestito un campo di valutazione che servirà per l'avvio di un nuovo ciclo di selezione massale.

Il radicchio rosa è parzialmente autocompatibile e ciò ha permesso la produzione nel 2010 di 30 progenie da autofecondazione. Nel marzo 2011 si è provveduto alla selezione delle migliori linee S1 (in base a uniformità, colore e dimensione del cespo). Sono state individuate due tonalità di colore: rosa chiaro e rosa scuro. Le piante delle linee scelte sono state allevate in vaso e successivamente poste in isolatore mantenendo separate le due tonalità di colore. Anche in questo caso per assicurare l'interincrocio negli isolatori sono state introdotte pupe di mosca.



Foto 5: Autofecondazione in isolamento di individui del Radicchio Mantovano

Come per il radicchio bianco, col seme raccolto è stato allestito un campo di valutazione che servirà per l'avvio di un nuovo ciclo di selezione ricorrente.



Foto 6-8: Diverse tonalità di colore del radicchio 'Rosa Mantovano' e selezione delle migliori linee S1

Reperimento, conservazione, caratterizzazione agronomica e molecolare, miglioramento genetico e diffusione in coltura di specie orticole autoctone dell'Italia centro-meridionale

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

VALENTINO FERRARI, ALDO BERTONE, MARCELLO CAIONI, ENRICO PICCININI

L'attività ha interessato 5 specie ed è stata incentrata sulle seguenti tematiche:

- **Pomodoro**

a) Caratterizzazione biochimica e molecolare di una varietà locale migliorata di pomodoro da mensa denominata 'Antico Abruzzo'.

Ultimata l'attività di miglioramento genetico dalla quale si è ottenuta la varietà denominata 'Antico Abruzzo', si è provveduto a una sua caratterizzazione biochimica e molecolare. Da un punto di vista biochimico, sono stati valutati i componenti volatili caratteristici responsabili della nota di pomodoro fresco (esanale, 2(E)-esenale, isobutiltiazolo) e contributori, responsabili della "nota verde" o "erbacea" dell'aroma di pomodoro (alcoli, composti carbonilici ossia aldeidi e chetoni, solfuri, terpeni e derivati fenolici), il licopene, la vitamina C, gli zuccheri (glucosio, fruttosio) e gli acidi organici (acido citrico e malico). Inoltre sono stati analizzati altri parametri chimico-fisico-nutraceutici quali pH, acidità titolabile e residuo secco. Poiché alla costituzione dell'aroma concorrono sia i componenti volatili caratteristici sia quelli contributori, si può dedurre che la varietà 'Antico Abruzzo' è dotata di buona aromaticità, come mostrano i dati di seguito riportati:

Dalle figure 1 e 2 è possibile osservare che i componenti volatili caratteristici e contributori sono presenti in maggior misura nella varietà 'Antico Abruzzo' rispetto alla varietà 'Centobuchi'. Questo risultato appare evidente sia per i singoli componenti del profilo aromatico (tranne che per 2(E)-esenale, solfuri e derivati

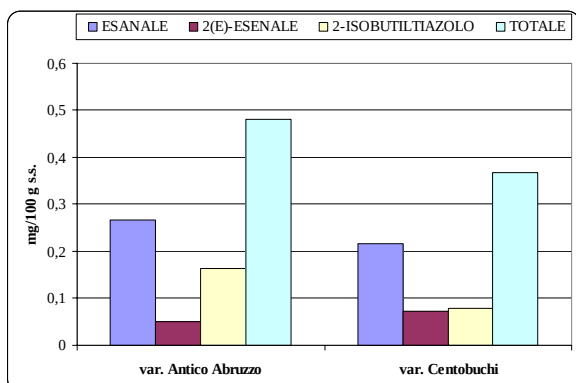


Fig. 1: Contenuto in mg/100g s.s. dei componenti volatili caratteristici nelle varietà 'Antico Abruzzo' e 'Centobuchi'

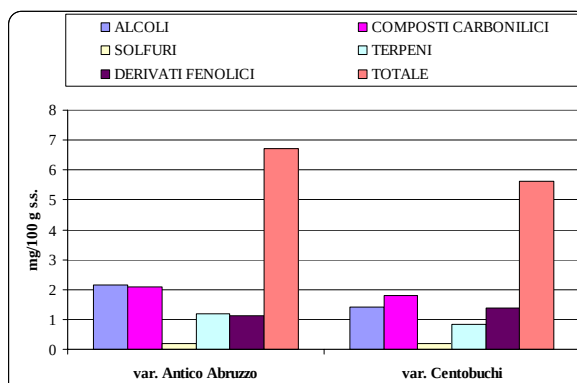


Fig. 2: Contenuto in mg/100g s.s. dei componenti volatili contributori nelle varietà 'Antico Abruzzo' e 'Centobuchi'

fenolici, di poco inferiori in 'Antico Abruzzo') ma soprattutto a livello di contenuto totale.

Per quel che riguarda i parametri biochimici della 'Antico Abruzzo', il licopene si attesta sui 4,90 mg/100 g p.f., mentre la vitamina C (molecola biologicamente attiva in particolare per la sua azione antiossidante) raggiunge un contenuto medio che è circa 1/3 di quello riscontrato nell'arancia. Relativamente agli zuccheri, la concentrazione del fruttosio supera, anche se di poco, quella del glucosio. Gli acidi organici, e in particolare l'acido citrico e malico, si distribuiscono con valori che sono circa il doppio per il primo rispetto al secondo (362,84 contro 113,16 mg/100 p.f.). Nei confronti della varietà 'Centobuchi' non sono emerse differenze significative se non per quel che riguarda il contenuto in glucosio, più ridotto in 'Antico Abruzzo'.

Tab. 1 Parametri biochimici delle varietà 'Antico Abruzzo' e 'Centobuchi' (valori in mg/100 g p.f.)

Varietà	Licopene	Vitamina C	Glucosio	Fruttosio	Ac. citrico	Ac. malico
Antico Abruzzo	4,90 a	18,05 a	1386,01 b	1662,97	362,84 a	113,38 a
Centobuchi	4,80 a	26,50 a	1573,34 a	1829,53	355,33 a	127,25 a

A lettere differenti corrispondono valori statisticamente diversi per $p = 0,05$

Il buon contenuto in zuccheri e acidi organici e l'equilibrio fra essi, assicura comunque alla cultivar di nuova costituzione un ottimo sapore e una notevole stabilità batterica nel momento della trasformazione domestica in passata di pomodoro.

Altri parametri importanti sia per il consumo diretto delle bacche che per un'eventuale trasformazione domestica o industriale sono il pH, l'acidità titolabile e il residuo secco. La conoscenza del pH è fondamentale in particolare quando i pomodori sono destinati alla trasformazione, poiché dal suo valore si stabilisce l'intensità dei trattamenti per la stabilizzazione batterica dei derivati. In generale, più basso è il pH migliore è il prodotto e quindi 'Antico Abruzzo' è sicuramente in grado di garantire una maggiore stabilità biologica nel tempo. L'acidità titolabile è in funzione del pH, nel senso che a valori di acidità più alti corrispondono pH più bassi e viceversa.

Tab. 2

Varietà	pH	Acidità titolabile (meq/100 g p.f.)	R.S. (%)
Antico Abruzzo	4,60 b	7,98 a	5,75
Centobuchi	5,34 a	6,29 b	4,79

A lettere differenti corrispondono valori statisticamente diversi per $p = 0,05$

Relativamente al residuo secco (R.S.) va detto che valori al di sotto di 4,5 sono considerati scarsi, accettabili quelli compresi tra 4,5 e 5,5 ed infine buoni quelli superiori a 5,5. Anche in questo caso, con 'Antico Abruzzo', si è avuto

un guadagno genetico significativo rispetto alla varietà 'Centobuchi' confermando la validità del lavoro di selezione e miglioramento genetico svolto.

La ricerca ha incluso, inoltre, una caratterizzazione molecolare delle accessioni di "pomodoro a pera" studiate, al fine di definire la diversità genetica presente tra ed entro accessione, il rapporto filogenetico delle accessioni abruzzesi rispetto a tipologie simili provenienti da Toscana e Liguria, e in ultima analisi, la distinguibilità del pomodoro "A pera abruzzese" e in particolare della varietà 'Antico Abruzzo'.

A tale scopo sono state analizzate 25 accessioni a pera con descrittori morfologici e molecolari insieme a campioni di varietà locali simili come 'Canestrino di Lucca' e 'Cuore di bue di Albenga' (qui definito per brevità 'Albenga') (Mazzucato *et al.*, 2010). Le accessioni di tipo abruzzese sono state classificate in tre gruppi a seconda della forma della bacca, cioè appiattita, rotonda e piriforme (obovoide), mentre i controlli 'Canestrino' e 'Albenga' hanno mostrato unicamente bacche di tipo piriforme. L'analisi molecolare, condotta su di una pianta rappresentativa per accessione e basata su 11 marcatori microsatelliti (*Simple Sequence Repeats*, SSR) polimorfici, ha potuto differenziare le accessioni abruzzesi dai tipi 'Canestrino', ma non da quelli appartenenti al tipo 'Albenga' (Mazzucato *et al.*, 2010).

La caratterizzazione molecolare è stata quindi approfondita con il rilevamento del fenotipo molecolare al locus "ovate" che può risultare discriminante nella distinzione di varietà a bacca piriforme da quella a bacca tonda. Le analisi sono state eseguite con un marcatore molecolare di tipo CAPS (Sabatini *et al.*, 2006) e hanno confermato che i tipi a bacca tonda (Liu *et al.*, 2002), così come quelli a bacca piatta e cuoriforme, contengono l'allele "wild type", mentre quelli a bacca piriforme contengono la mutazione "ovate". Quindi 'Antico Abruzzo' si distingue a livello molecolare dalle varietà locali 'Canestrino' e 'Albenga', nonché dalle tipologie abruzzesi a bacca piriforme (come 'Centobuchi'), per avere l'allele "wild type" al locus "ovate".

Un'ulteriore analisi con i marcatori microsatellite più informativi identificati sulla base degli studi precedenti (Mazzucato *et al.*, 2010) è stata condotta su tre accessioni abruzzesi rappresentanti le tre tipologie di bacca riscontrate nell'ecotipo, a pera ('Centobuchi'), appiattita ('Loreto Aprutino') e rotonda ('Giulianova', 'Belisari Ernesto', 'Antico Abruzzo'). Sono stati inclusi, come controllo, campioni appartenenti alle tipologie 'Albenga' (seme commerciale Olter e Esasem), 'Canestrino' (accessione di Lucca) e 'Cuore di bue' (seme commerciale Bavicchi). Le analisi dei marcatori sono state eseguite tramite sequenziatore CEQ 8000 dopo amplificazione con *primer* marcati con cromofori fluorescenti. Mentre un *locus* è risultato completamente monomorfo, per gli altri è stato rilevato polimorfismo sia tra diversi ecotipi sia entro ecotipo. Entro accessione, invece, nella maggior parte dei casi gli alleli sono fissati (90,4%). Al fine di rilevare elementi utili alla distinguibilità della

varietà 'Antico Abruzzo', è apparso di estremo interesse il marcatore LEEF1Aa per il quale questa selezione presenta un "allele privato" (209 bp), non riscontrabile nelle altre tipologie, nemmeno in quelle geneticamente più vicine. Questo marcatore, che si basa su una sequenza ripetuta (TA)₈(ATA)₉ nel gene che codifica per l'*elongation factor 1-alpha*, è stato già descritto per l'elevato polimorfismo in pomodoro (Garcia-Martinez *et al.*, 2006) e in altre specie.

L'attività di caratterizzazione morfo-molecolare del pomodoro locale "A pera abruzzese" ha quindi prodotto informazioni utili ai fini della tutela e della valorizzazione dell'ecotipo. In particolare, le analisi molecolari volte a definire la distinguibilità della varietà selezionata 'Antico Abruzzo' hanno rivelato descrittori idonei a identificare, in combinazione con i dati morfologici, in maniera univoca il genotipo candidato all'iscrizione.

Nel gennaio 2011 sono inoltre stati consegnati all'ARSSA Abruzzo 200.000 semi pari a 800 g della varietà 'Antico Abruzzo' in stadio genetico S₇, trasferiti a un vivaista di fiducia per poi smistare le piantine agli operatori aderenti al protocollo di intesa.

b) Recupero, caratterizzazione bio-morfologica e produttiva di un ecotipo locale di pomodoro abruzzese denominato 'Mezzo Tempo'.

L'attività di ricerca ha interessato 10 accessioni S₀ afferenti alla popolazione locale 'Mezzo Tempo' proveniente dell'areale Vastese. Il materiale è stato acquisito in collaborazione con l'ARSSA Abruzzo presso agricoltori locali possessori del germoplasma e allo stesso tempo conoscitori della popolazione originaria, da sempre apprezzata per il prelibato gusto delle sue bacche. Su tale ecotipo, dismesso dai piani colturali delle aziende agricole e relegato a un ruolo di semplice collezione visto il suo insostituibile impiego nella preparazione del "brodetto alla Vastese", si è proceduto nel primo anno di attività al recupero, alla caratterizzazione morfologica e a una selezione finalizzata a eliminare i fenotipi con i difetti più grossolani. Parallelamente sono stati attuati dei piani di incrocio tra alcune delle accessioni più interessanti con il fine di aumentare la variabilità e conseguentemente di favorire la ricombinazione di caratteri qualitativamente apprezzabili, osservati nelle singole popolazioni.



Foto 1: Le tipiche bacche schiacciate e costolute della varietà "Mezzo Tempo"

Nonostante l'ideotipo ricercato fosse a sviluppo indeterminato, su molte popolazioni osservate si è potuta constatare un'elevata incidenza di piante a sviluppo semideterminato e determinato. Ad ogni modo, la caratteristica comune alla maggior parte dei fenotipi in studio, è stata quella di possedere un primo palco fruttifero altamente produttivo (dalle 10-15 bacche) a discapito dei successivi palchi, spesso improduttivi o con pezzature dei frutti estremamente ridotte. Questo aspetto non è dovuto ad una carenza di fiori bensì a una ridottissima percentuale di allegagione, infatti, mediamente, in quasi tutti i palchi fioriferi si sono osservati dai 30 ai 50 fiori.

La scelta dei fenotipi è stata in primo luogo indirizzata verso quelle tipologie che mostravano un'uniforme distribuzione delle bacche sull'intera pianta oltre che l'assoluta assenza di un frequente difetto osservato in molte di esse e cioè la suberificazione nella porzione stilare dei frutti, meglio conosciuta come "muso di gatto".

Un altro aspetto determinante per la scelta delle piante è stata la conformazione delle bacche. Le informazioni fornite dagli agricoltori locali riportavano frutti di media pezzatura, schiacciati, costoluti di colore arancio-rosso a piena maturazione, con epicarpo sottile, polpa molto densa e con assenza di scatolature.

Nel primo anno di prova, la forte pressione selettiva operata sul germoplasma visionato, ha fatto sì che solo all'interno di 3 popolazioni sulle 10 complessive venissero scelti dei fenotipi potenzialmente rispondenti all'ideotipo ricercato.

Allo stesso tempo, dal piano di incroci effettuati sono stati ottenuti complessivamente 4,8 g di seme F₁ con i quali sarà possibile osservare l'effetto ricombinante dei caratteri ricercati e fissarli nelle generazioni successive attraverso la selezione genealogica.

• **Fagiolo:** Valutazione delle discendenze derivanti dall'incrocio delle varietà di fagiolo denominata 'Solfi' con la varietà 'Niveo' appartenente alla tipologia "Tondino bianco".

Sul fagiolo è stata ultimata un'attività di miglioramento genetico avviata tempo addietro con altri progetti di ricerca con i quali si intendeva ottenere discendenze dotate delle particolari caratteristiche organolettiche del fagiolo 'Solfi' e di quelle produttive, proprie di una varietà a granella tonda e bianca denominata 'Niveo'. L'autofecondazione della progenie F₁ ha portato all'acquisizione di numerose linee F₂ diversificate per forma e colore della granella. La selezione genealogica ha portato, nell'arco di 6 anni, all'acquisizione di 2 nuove varietà denominate 'Occhio di luna' e 'Rosso d'oriente' che saranno, a partire da quest'anno, oggetto di diffusione presso cooperative di produttori marchigiani.

Nel 2011 per queste due linee è stata eseguita una semina anticipata (febbraio) in tunnel al fine di realizzare due cicli di selezione.

La varietà 'Occhio di Luna' simile per forma, colore e contenuto allo 'Zolfino', si distingue da quest'ultimo per la presenza di un fattore marcatore che comporta la pigmentazione della corona ileale in blu. Tale carattere costituisce un elemento distintivo della varietà e pertanto utile per la tracciabilità delle produzioni.

• **Roveja: Valutazione delle progenie di roveja derivanti dall'autofecondazione di materiale S₁ ottenuto da semi di colore rosso-mattone e grigio.**

L'attività di miglioramento genetico svolta nell'anno 2011 ha avuto l'obiettivo di valutare le progenie derivanti dall'autofecondazione del materiale S₁ ottenuto da semi di colore rosso-mattone e grigio.

Il germoplasma è stato seminato in vaso e posizionato su semenzai in cemento con microirrigatori gocciolanti per un controllato apporto idrico e nutritivo. La scelta del vaso singolo è stata adottata con l'intento di evitare la commistione di rami fioriferi appartenenti a piante contigue, fattore questo che rende spesso difficoltoso l'isolamento di gruppi di fiori appartenenti alla stessa pianta.

Parallelamente, in pieno campo è stato seminato un lotto di seme a colori misti afferente alla tipologia "Ente Falconi" per la moltiplicazione di materiale S₃.

Al momento della fioritura i rametti contenenti uno o più fiori sono stati isolati con piccole reti di nylon per evitare possibili incroci ad opera di insetti pronubi; gli stessi isolatori sono poi stati rimossi ad allegagione avvenuta in corrispondenza della formazione dei baccelli.

Il germoplasma S₂ osservato (50% di omozigosi) ha fornito risultati inaspettati: Infatti, dall'originale colore grigio si è ottenuto seme con fondo variabile dal nero al verde al giallo-verde con screziature talvolta assenti o con tonalità molto scure (marrone e nero); interessante è stato inoltre rilevare pezzature decisamente superiori e certamente atipiche nelle progenie con semi a fondo completamente nero. Stesso discorso vale per le piante derivanti da seme rosso-mattone che hanno fornito invece una granella con fondo prevalentemente verde con tonalità variabili dal rosso al marrone.

Lo stesso materiale S₂, al fine di guadagnare un anno di ricerca, è stato subito riseminato in data 3 giugno 2011 all'interno di semenzai in cemento con una distanza tra i semi di circa 50 cm tra le file e 20 cm sulla fila. Nelle fasi iniziali di accrescimento, le piantine, naturalmente raggruppate in parcelle diverse, sono state separate mediante dei teli posti in verticale in grado di garantire ogni possibile forma di contatto tra le stesse. Lo sviluppo vegetativo è stato piuttosto rapido ma la percentuale di allegagione dei fiori è risultata pressoché nulla a causa delle alte temperature del periodo. Arrivati ai primi di settembre, si è passati a temperature sicuramente più favorevoli ma al tempo stesso l'antesi si è bloccata a causa del ridotto numero di ore di luce per l'induzione a fiore. Di conseguenza si è deciso di trasferire tutto il materiale genetico all'interno di una serra riscaldata e dotata di lampade. La fioritura è iniziata nella seconda decade di novembre e si è protratta per tutto il mese di dicembre.

• **Patata: Reperimento, moltiplicazione, suddivisione in classi di calibro e caratterizzazione di tuberi di patata originari del Comune di Montecopiolo (PU).**

Nell'areale di Montecopiolo (PU) è stata reperita una patata che nel passato veniva coltivata con successo in particolare nella frazione di Monteboaggine, a 950 m s.l.m.. L'obiettivo della ricerca è quello di recuperare la tipologia originale, risanarla dalla presenza di virus e moltiplicarla per prove di adattamento e produzione negli areali di Montecopiolo.

A seguito del reperimento del materiale genetico, si è provveduto ad acquisire notizie storiche sulla tipologia, attraverso interviste ad amministratori e agricoltori del comprensorio, nonché attraverso notizie storiche reperite negli archivi comunali. Le informazioni acquisite hanno portato a individuare l'ideotipo che corrisponderebbe a una patata di lunga conservazione, piccola, a pasta gialla, di forma allungata con buccia rosata la cui raccolta avviene dalla fine di settembre agli inizi di ottobre e si adatta molto bene alle condizioni di freddo presenti alle altitudini di coltivazione.

Vista l'eterogeneità del materiale recuperato, tutte le accessioni in prova sono state sottoposte a una selezione clonale finalizzata all'ottenimento di germoplasma S₁ caratterizzato da una maggiore uniformità e soprattutto con una ridotta percentuale di tipologie non corrispondenti all'ideotipo ricercato.

In particolare, per aver una maggiore quantità di tuberi da studiare, si è provveduto inizialmente a moltiplicare tutto il materiale genetico acquisito (S₀). Il clone da esso derivato (S₁), è stato suddiviso in classi di calibro considerando come quote di scarto quelli aventi un diametro inferiore ai 45 mm.

La tecnica colturale adottata ha cercato di riproporre fedelmente quella applicata negli areali di origine, che non prevedono pratiche agronomiche spinte e un uso abbastanza ridotto di fertilizzanti inorganici.

Le produzioni ottenute a seguito della moltiplicazione effettuata sui cloni S₀ risultano piuttosto contenute. Tale aspetto è imputabile presumibilmente al fatto che il CRA-ORA giace a 48 metri s.l.m. in una zona contraddistinta da un clima mite e marino il cui andamento climatico è risultato nell'annata in corso particolarmente calda, tale da favorire un forte attacco di patogeni.

La patata di Montecopio è risultata infine essere una tipologia particolarmente predisposta all'attacco di Patata Y Virus (PYV); tale suscettibilità determina una sostanziale riduzione delle rese con raccolte caratterizzate da pezzature estremamente ridotte.

A tal proposito $\frac{3}{4}$ del materiale moltiplicato è stato sottoposto a un'azione di risanamento attraverso termoterapia e colture *in vitro*.

• **Carciofo: Caratterizzazione morfo-produttiva di una cultivar di carciofo reperita nella Regione Abruzzo e impianto della stessa su terreno certificato in biologico.**

In virtù delle numerose cv di carciofo rinvenibili nell'areale marchigiano e abruzzese, il CRA-ORA ha avviato un'attività di reperimento, caratterizzazione, moltiplicazione e valorizzazione delle stesse, finalizzata all'acquisizione di informazioni di ordine agronomico, genetico ed economico. L'obiettivo è quello di ottenere, attraverso la selezione clonale, varietà uniformi, stabili nel tempo e con elevati standard qualitativi e, contemporaneamente, di avviare un'attività di risanamento attraverso termoterapia, in grado di fornire cloni virus-esenti data l'elevatissima incidenza di piante affette da virosi e *Verticillium*.

Nel comprensorio di Cupello (CH) è stato reperito un clone appartenente alla tipologia "Romanesco". Esso veniva descritto dagli operatori locali come una cultivar altamente produttiva e in grado di garantire anche una produzione di 15-17 capolini per pianta.

Le caratteristiche fenotipiche riguardanti lo sviluppo, il portamento della pianta, la tipologia delle foglie e del capolino centrale sono di seguito riportate:

- *Pianta*: Altezza: 80-85 cm compreso il capolino centrale; Diametro: 120-130 cm

- *Foglie*: Pennatosette, presentano un lembo molto inciso già dallo stadio giovanile. Il colore è verde non molto intenso, con una leggera sfumatura grigiastra ed è visibile una lieve pubescenza sulla pagina superiore. Presentano un elevato numero di lobi di diversa dimensione, con totale assenza di bollosità e di spine. Allo stadio di decima-dodicesima foglia assumono un portamento orizzontale con sezione del lobo "V"

- *Capolino centrale*: E' lungo circa 10 cm con un diametro di 11 cm, ed è afferibile alla tipologia "Romanesco" con il tipico foro centrale. Le brattee esterne sono di medie dimensioni, con una pronunciata depressione dell'apice e di colore prevalentemente viola. Sulle brattee interne la pigmentazione antocianica è pressoché assente e le stesse sono mediamente appressate le une alle altre.

Le dimensioni della pianta allo stadio adulto consentono mediamente una densità di investimento pari a 7.000 piante/ha.

Nel mese di marzo 2011, dal campo di prova sono stati prelevati e spediti al Centro di Patologia Vegetale di Roma parti di foglie appartenenti a tutte le piante, per verificare quali di esse fossero affette da virosi e/o *Verticillium*; l'analisi ha evidenziato un numero di piante virosate pari all' 80% del totale. Nel mese di settembre, dalle piante risultate sane, sono stati prelevati dei carducci per la costituzione di una carciofaia virus-esente.

Bibliografia

MAZZUCATO A., FICCADENTI N., CAIONI M., MOSCONI P., PICCININI E., SANAMPUDI V.R.R., SESTILI S., FERRARI V.; 2010 – Genetic diversity and distinctiveness in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces: The Italian case study of "A pera Abruzzese" Scientia Horticulturae 125 (2010). PP 55-62.

SABATINI E., G.L. ROTINO, S. VOLTATTORNI, N. ACCIARRI; 2006 - A novel CAPS marker derived from the ovate gene in tomato (*L. esculentum* M.) is useful to distinguish two Italian ecotypes and to recover "pear" shape in marker assisted selection. European Journal of Horticultural Science, 71 (5): 193-198.

LIU, J., J. VANECK, B. CONG, S.D. TANKSLEY; 2002 - A new class of regulatory genes underlying the cause of pear-shaped tomato fruit. Proceedings of the National Academy of Science of the USA 99, 13302–13306.

GARCIA-MARTINEZ S., ANDREANI L., GARCIA-GUSANO M., GEUNA F., RUIZ J.J. ; (2006) - Evaluation of amplified length polymorphism and simple sequence repeats for tomato germplasm fingerprinting: utility for grouping together closely related cultivars. Genome 49:648–656

Polifenoli e attività antiossidante in drupacee e pomacee

CRA-FRU Centro di Ricerca per la Frutticoltura, Roma – Gruppo Nutraceutici

DANILO CECCARELLI, ALESSIO TAFURI, CAROLINA TALENTO, TERESA ROSATO, PAOLO NOTA, EMILIA CABONI

Nel corso del 2011 l'attività di ricerca ha riguardato la caratterizzazione del contenuto in sostanze con proprietà salutistiche di frutti di drupacee e pomacee conservate presso il Centro Nazionale del Germoplasma del CRA-FRU di Roma.

In particolare, le indagini sono state orientate alla valutazione delle proprietà e delle componenti nutraceutiche di 9 varietà di ciliegio (*Prunus avium*), 18 varietà di susino (*Prunus domestica*, *P. salicina* e *P. insititia*), 3 varietà di pesco (*Prunus persica*), 14 varietà di melo (*Malus domestica*) e 6 varietà di pero (*Pyrus communis*).

A seconda della specie e delle varietà oggetto di indagine le attività sono state mirate alla determinazione qualitativa e quantitativa del contenuto in sostanze antiossidanti nella polpa, nella buccia o nel frutto intero.

In generale le analisi effettuate hanno riguardato:

- la valutazione del contenuto in solidi solubili totali (TSS) e dell'acidità totale (AT);
- la misura dell'attività antiossidante (CAT);
- la determinazione del contenuto dei fenoli totali (TPH);
- la determinazione del contenuto in antociani totali (ANT);
- la separazione dei singoli composti fenolici delle cultivar più interessanti mediante cromatografia in fase liquida ad alta risoluzione (HPLC);
- l'elaborazione statistica dei dati ottenuti.

• Ciliegio

Sono state ripetute le analisi spettrofotometriche per valutare fenoli totali, antociani totali e capacità antiossidante totale su frutti interi di 9 varietà di *Prunus avium* già oggetto di indagine nel corso del precedente anno di raccolta ('Bertiello', 'Bolognese di Susa', 'Durancino di Costasavina', 'Ferrovia', 'Galuciu', 'Giapponese', 'Maggese', 'Pagliaccio' e 'Ravenna').

Tab. 1: Ciliegio, valori di AT, SS, CAT, TPH e ANT

Genotipi	Acidità totale		Solidi solubili totali		Capacità antiossidante totale $\mu\text{g Tx/mg f.w.}$		Polifenoli totali		Antociani totali	
	meq/l	err. std	° Brix	err. std		err. std	mg ACE/100 g f.w.	err. std	mg Cy3Og/100g f.w.	err. std
Bertiello	68,66	0,97	16,13	0,03	0,38	0,01	213,43	4,93	19,00	0,04
Bolognese di Susa	103,52	0,68	13,83	0,12	0,47	0,01	257,18	5,85	27,78	0,00
Durancino di Costasavina	106,63	0,47	16,67	0,03	0,65	0,01	302,62	6,37	56,15	0,28
Ferrovia	105,63	0,10	18,67	0,35	0,53	0,02	258,19	7,03	74,39	0,22
Galuciu	122,32	1,26	20,57	0,67	0,79	0,01	411,15	14,04	75,11	0,11
Giapponese	91,01	0,68	15,17	0,12	0,38	0,01	249,94	8,73	27,23	0,09
Maggese	114,60	2,12	15,60	0,57	0,78	0,01	418,39	14,51	49,84	0,18
Pagliaccio	192,60	0,50	17,03	0,77	0,77	0,02	353,72	8,85	42,15	0,06
Ravenna	112,70	--	21,37	0,87	0,65	0,02	411,45	6,21	77,47	0,12

meq: milliequivalenti di NaOH 0,1 M; **Tx:** equivalenti in Trolox; **ACE:** acido clorogenico equivalenti

Si è, inoltre, proceduto alla determinazione del contenuto in solidi solubili totali e dell'acidità totale, nonché alla valutazione qualitativa e quantitativa del contenuto dei principali composti fenolici mediante cromatografia liquida ad alta risoluzione (HPLC).

I valori di acidità totale sono variati da un minimo di 68,66 meq/l di 'Bertiello' a un massimo di 192,60 meq/l di 'Pagliaccio'.

Il contenuto in TSS ha mostrato il valore minimo in 'Bolognese di Susa' con 13,8° Brix e massimo in 'Ravenna' con 21,3° Brix e 'Galuciu' con 20,57° Brix.

Per quanto riguarda la CAT, le cv 'Galuciu', 'Maggese' e 'Pagliaccio' hanno mostrato i valori più alti con 0,79, 0,78 e 0,77 μg Trolox equivalenti/mg peso fresco ($\mu\text{g Tx/mg pf}$), rispettivamente; per il contenuto in TPH si sono distinte 'Maggese' con 418,39 mg di acido clorogenico equivalenti (ACE)/100g di peso fresco, 'Ravenna' (411,45 mg ACE/100g pf) e 'Galuciu' (411,15 mg ACE/100g pf); per il contenuto in ANT, 'Ravenna', con 77,47mg di cianidina-3-O-glucoside/100g di pf, 'Galuciu' (75,11) e 'Ferrovia' (74,39) (Tabella 1).

Le analisi cromatografiche effettuate mediante HPLC hanno consentito di individuare e quantificare i principali composti fenolici presenti nelle ciliegie fra cui l'acido clorogenico, il neoclorogenico e il

paracumarilquinico, tra gli acidi idrossicinnamici, e la cianidina rutinoside come composto principale tra gli antociani (Tabella 2).

Tab. 2: Principali composti fenolici (mg/100 g pf $\pm$ DS) determinati con HPLC in due cultivar di ciliegio

Cultivar	Acido neoclorogenico	Acido clorogenico	Acido p-cumarilquinico	Cianidin-3-O-glucoside	Cianidin-3-O-rutinoside	Altri antociani
Durancino di Costasavina	25,1 $\pm$ 0,4	1,4 $\pm$ 0,1	10,1 $\pm$ 0,1	1,3 $\pm$ 0,1	25,0 $\pm$ 1,1	0,7 $\pm$ 0,1
Ravenna	6,5 $\pm$ 0,4	3,8 $\pm$ 0,1	11,8 $\pm$ 0,5	0,1 $\pm$ 0,01	6,3 $\pm$ 0,4	0,3 $\pm$ 0,1

• Susino

Per il susino sono state caratterizzate complessivamente 18 varietà valutandone l'AT e il contenuto in TSS nonché la CAT, il contenuto in TPh e in ANT, mediante analisi spettro- fotometriche.

In particolare sono state effettuate analisi su matrici di buccia, polpa e/o frutto intero (tabella 3):

Per le varietà caratterizzate a frutto intero le indagini hanno messo in evidenza che:

- i valori di acidità totale variano da un minimo di 65,27meq/L di 'Stanley' a un massimo di 364,45meq/L di 'Brignone';
- il tenore dei TSS varia da 11,3° Brix di 'Black Gold' a 25,1° Brix di 'D'Ente 707';
- la cultivar 'Italian Prune' ha una mostrato la più elevata CAT (1,75 μ g Tx/mg p.f.) e il più alto contenuto in TPh (629,95mg ACE/100 g pf);
- 'Brignone' (16,42mg di cianidina-3-O-glucoside/100 g pf), 'Black Gold' (13,61) e 'Italian Prune' (12,07) si sono distinte per i più elevati contenuti in ANT.

In generale i risultati ottenuti nel 2011 hanno sostanzialmente confermato quanto riportato l'anno precedente e nel complesso la cv 'Italian Prune' ha mostrato i valori più interessanti.

Per le varietà caratterizzate per la buccia e la polpa, le analisi hanno mostrato che:

Tab. 3: Analisi effettuate per AT, SS, CAT, TPh e ANT in cultivar di susino

Varietà	Buccia	Polpa	Frutto intero
Anna	x	x	x
Aridi Cori			x
Black Diamond	x	x	x
Black Gold		x	x
Blu Belle Plum	x	x	
Brigne del Colle Blu Scuro			x
Brignone			x
Coglie 'e Pecore Nere			x
D'Ente 707			x
Firenze 90	x	x	x
Friar	x	x	
Italian Prune			x
Marocco			x
Perdigone			x
Prugna di Drò			x
Ramassin del Roero			x
Stanley	x	x	
Zucchella			x

- per la polpa la cultivar più interessante si è confermata 'Friar' sia per la CAT (1,74 μ g Tx/mg pf) che per i TPh (379,64 mg ACE/100 g pf), mentre 'Black Diamond' (2,97mg cy3Og/100g pf) si è distinta, insieme a 'Black Gold' (2,49), per gli ANT;

- per la buccia 'Friar' ha mostrato i valori più alti di CAT (2,70 μ g Tx/mg pf), TPh (926,20 mg ACE/100 g pf) e ANT (144,91 mg di cy3Og/100 g pf).

In questo gruppo di susine la cv 'Friar' ha, nel complesso, evidenziato i valori più interessanti.

• Pesco

Sono state considerate 3 cultivar ('Redhaven Bianca', 'Crizia' e 'Natasha') per le quali sono stati determinati AT, contenuto in TSS, TPh, ANT e CAT. Inoltre, mediante HPLC, sono state effettuate le analisi qualitative e quantitative dei principali singoli fenoli e antociani.

Le cultivar analizzate hanno mostrato valori di AT che variano da 118,87 meq/ l di 'Crizia' a 130,44 meq/ l di 'Redhaven Bianca'. Il più alto contenuto in TSS è stato registrato per 'Redhaven Bianca' (12,40° Brix).

Le analisi spettrofotometriche hanno riguardato sia la buccia e che la polpa.

Nella buccia i valori più interessanti sono stati espressi da 'Crizia' con 1,371 μ g Tx/mg pf per la CAT, 104,79 mg ACE/100 g pf per i TPh e 3,11 mg/100g pf in cianidina-3-O-glucoside per il contenuto in ANT; nella polpa, 'Redhaven Bianca' ha mostrato i valori più alti per la CAT con 0,263 μ g Tx/mg pf e per i TPh con 53,05 mg ACE/100 g pf, mentre 'Crizia' per gli ANT (1,11 mg cy3Og/100 g pf /100).

Con le indagini cromatografiche sono stati individuati l'acido neoclorogenico e clorogenico tra gli acidi idrossicinnamici; catechina, epicatechina e procianidina tra i flavan-3-oli; quercetina rutinoside tra i flavonoli; la cianidina glucoside e rutinoside tra le antocianine. L'acido clorogenico è risultato il composto più abbondante e la cultivar 'Crizia' ne ha mostrato il più alto contenuto.

• Melo

Per il melo sono state caratterizzate per la buccia e la polpa le varietà 'Abbondanza Rossa', 'Belladonna', 'Carbone', 'Fiamma a Gambo Lungo', 'Fuji', 'Gamba Fina Lunga', 'Golden Delicious', 'Golden Delicious Emla', 'Imperatore Dallago', 'Permain Doré', 'Pum Binel', 'Rus Giaie', 'San Piero Rosso' e 'Sanguinella'.

Il tenore in AT è risultato compreso tra 49,39 meq/l di 'Gamba Fina Lunga' e 257,21 meq/l di 'Sanguinella'. Il contenuto più elevato in TSS è stato mostrato da 'Pum Binel' con 18,1° Brix. La varietà 'Sanguinella' ha mostrato i valori più alti in termini di CAT sia nella buccia che nella polpa rispettivamente con 1,39 e 0,25 µg Tx/mg pf; per il contenuto in TPh le cv 'Fuji' - nella buccia - e 'Rus Giaie' - nella polpa - hanno evidenziato i valori più interessanti rispettivamente con 458,67 e 166,97 mg ACE/100 g pf.

'Abbondanza Rossa' ha il contenuto più alto in ANT sia nella buccia che nella polpa (32,38 e 1,03 mg in cianidina-3-O-glucoside/100 g pf).

• Pero

I frutti delle cultivar 'Conference', 'Coscia', 'Decana', 'Mastantuoni', 'Pera Angelica' e 'Santa Lucia' sono stati caratterizzati per la buccia e la polpa.

Per la buccia, la cv 'Santa Lucia' ha mostrato i valori più alti in CAT (1,21 µg Tx/mg pf), in TPh (587,59 mg ACE/100 g pf) e antociani totali (3,112 mg cy3Og/100 g pf).

Per la polpa, la cv 'Decana' ha evidenziato il più alto contenuto in CAT (0,165 µg Tx/mg pf), in TPh (83,29 mg ACE/100 g pf) e ANT (0,350 mg cy3Og/100 g pf).

Interessanti anche i valori espressi globalmente nella buccia dalla varietà 'Angelica' e nella polpa dalla varietà 'Mastantuoni'.

L'AT è risultata compresa tra 24,45 meq/l di 'Coscia' e 35,96 meq/l di 'Conference'.

Il contenuto più elevato in solidi solubili è stato mostrato da 'S. Lucia' con 16,4° Brix.

Individuazione di SSR a sequenza ripetuta tri, tetra o penta-nucleotidica per la caratterizzazione molecolare di cultivar di ciliegio dolce.

CRA-FRU, Centro di Ricerca per la Frutticoltura, Roma – Gruppo Genetica Molecolare

JESSICA GIOVINAZZI, IGNAZIO VERDE, MARIA TERESA DETTORI

Introduzione

Il confronto fra mappe genetiche di diverse specie appartenenti al genere *Prunus* ha evidenziato un'ampia colinearità e sintonia del genoma all'interno del genere (Dirlewanger *et al.*, 2004; Illa *et al.*, 2011). Il primo aprile 2010, nell'ambito dell'*International Peach Genome Initiative* (<http://www.rosaceae.org/peach/genome>) è stata resa pubblica l'intera sequenza del genoma di pesco [*Prunus persica* (L.) Batsch] aprendo così la possibilità di individuare un gran numero di marcatori molecolari SSR utilizzabili anche in altre specie appartenenti al genere. Gli SSR individuati tramite il software "Sputnik" nella sequenza *Prunus persica* v1.0 sono disponibili sul sito dell'Istituto di Genomica Applicata (IGA) di Udine come singolo file (<http://services.appliedgenomics.org/projects/drupomics/files/SSR.gff3.bz2>) o come traccia nel Gbrowse (http://services.appliedgenomics.org/fqb2/iga/prunus_public/gbrowse/prunus_public/).

Il gruppo di Genetica Molecolare del CRA-FRU, che nel terzo triennio del progetto RGV-FAO si occupa della caratterizzazione molecolare di ciliegio dolce (*Prunus avium* L.), avvalendosi di queste sequenze microsatelliti si è posto l'obiettivo di selezionare un set di almeno 16 marcatori SSR polimorfici in ciliegio, distribuiti omogeneamente negli 8 gruppi di associazione che costituiscono il genoma diploide di *Prunus*, indipendenti fra loro, a singolo locus e costituiti dalla ripetizione di sequenze tri, tetra, o penta-nucleotidiche. Quest'ultima caratteristica, nonostante sia noto che gli SSR caratterizzati da ripetizioni di un numero di nucleotidi superiore a 2 sono meno frequenti e polimorfici (Cipriani *et al.*, 2008), è stata scelta per facilitare la lettura e l'interpretazione dei dati. Questa infatti, per il sommarsi di errori nella polimerasi o nella separazione elettroforetica, può talvolta risultare problematica negli SSR dinucleotidici soprattutto se il gran numero di campioni da analizzare impone di lavorare su corse separate. Inoltre, con l'obiettivo di ampliare l'uso del set finale di SSR a varie specie di *Prunus*, la capacità discriminante degli SSR selezionati è stata saggiata, oltre che sul ciliegio, anche su cultivar appartenenti a pesco, susino cino-giapponese (*P. salicina* L.), mandorlo (*P. dulcis* L.) e albicocco (*P. armeniaca* L.).

Materiali e metodi

In via preliminare sono state scelte due sequenze per ogni pseudocromosoma, 3 per lo pseudocromosoma 1 e 4, più lunghi degli altri. La scelta è stata effettuata in funzione dell'affidabilità del sequenziamento (*score*), della qualità delle sequenze fiancheggianti, del tipo di ripetizione nucleotidica e della posizione sugli 8

pseudocromosomi, privilegiando le 2 estremità (ma utilizzando anche la regione centrale per gli pseudocromosomi 1 e 4).

Avvalendosi della funzione "BLAST" del "G-Browser PHYTOZOME", è stata verificata, sull'intero genoma di pesco, la presenza in singola copia di ciascuna sequenza scelta; le sequenze con allineamenti multipli sono state scartate. Successivamente, sulle estremità fiancheggianti le sequenze ripetute sono stati disegnati tramite il software "PRIMER" 3 i *primer* per l'amplificazione, scegliendo la coppia migliore in funzione di parametri preimpostati (lunghezza frammento amplificato: 100-300 bp, lunghezza sequenza *primer* 18-24 bp, temperatura *annealing* 56-58 °C, % CG nel *primer* 40-80, etc). Ogni *primer* di ciascuna coppia ottenuta è stato confrontato con tutto il genoma di pesco tramite PHYTOZOME, per verificarne la presenza in singola copia.

Scegliendo le varietà in modo da massimizzare il più possibile la distanza genetica, ove precedenti studi effettuati al CRA-FRU o informazioni reperite in letteratura lo permettevano, sono state individuate 8 cultivar di ciliegio (Wunsch and Hormaza, 2002), 8 cultivar di pesco, 3 di susino, 3 di mandorlo e 2 di albicocco (Tabella 1) da utilizzare per il saggio dei *primer* così disegnati.

Tab. 1: Cultivar di drupacee scelte per l'analisi genetica

Ciliegio dolce	Pesco	Mandorlo	Susino giapp.	Albicocco
Adriana	Redhaven	Tuono	Larry Ann	Tardive de Bonardeil
Ferrovia spur	Snow Queen	Ferragnes	Black Star	Pinkot
Isabella	Duchessa d'Este	Texas	Friar	
Lapins	Elegant Lady			
Rainier	Royal Moon			
Stella	Gialla di Verona			
Van	Maycrest			
Vittoria	Yumyeong			

Nel Centro di Conservazione del Germoplasma afferente al CRA-FRU sono stati prelevati gli apici fogliari delle cultivar da esaminare; i campioni sono stati liofilizzati con "Freeze Dryer Modulo" (Edwards) e trituriati con bilie di acciaio. Il DNA è stato estratto con "DNeasy Plant Minikit" (Qiagen).

Le amplificazioni di DNA con le coppie di *primer* selezionate sono state effettuate secondo le condizioni riportate in tabella 2, avendo precedentemente calcolato per ciascuna coppia la temperatura di *melting* e di *annealing*.

Tab. 2: Protocollo di amplificazione DNA

Denaturazione iniziale		94° 5 min	
Amplificazione	Denaturazione	94° 30 s	10 cicli
	<i>Annealing</i>	T _m °C 45 s	-0,5°C
	Sintesi	72°C 1 min	a ciclo
Amplificazione	Denaturazione	94°C 30 s	
	<i>Annealing</i>	T _a °C 45 s	25 cicli
	Sintesi	72°C 1 min	
Sintesi finale		72°C 30 min	

Gli amplificati sono stati separati mediante corsa elettroforetica in gel d'agarosio Metaphor al 3% in TBE 1X. Dopo la colorazione in bromuro d'etidio dei gel, i frammenti amplificati sono stati rilevati tramite

irradiazione UV e acquisizione dell' immagine con "Gel Logic 100 Imaging System" (Kodak).

Risultati

La tabella 3 riporta la distribuzione delle 124 coppie di *primer* scelte per pseudocromosoma e per tipo di ripetizione.

A fine 2011 erano state saggiate 58 coppie di *primer* disegnate sui gruppi di associazione 5, 6, 7, 8 per identificare i polimorfismi all'interno delle cultivar afferenti alle 5 specie di *Prunus* prese in esame permettendo di individuare i polimorfismi intraspecifici presentati in tabella 3 (Tabelle 4-7).

Tab. 3: Distribuzione delle 124 coppie di *primer* scelte per pseudocromosoma e per tipo di ripetizione

	Pch1	Pch2	Pch 3	Pch 4	Pch 5	Pch 6	Pch 7	Pch 8
n. SSR trinucleotidici	6	4	4	6	4	6	4	4
n. SSR tetranucleotidici	6	4	4	6	4	6	4	4
n. SSR pentanucleotidici	6	4	4	12	4	6	4	8
TOT	18	12	12	24	12	18	12	16

2 coppie di *primer* sono state in grado di individuare almeno un polimorfismo in tutte le specie esaminate, nonostante il numero esiguo di varietà saggiate in mandorlo, albicocco e susino.

Entro la fine del primo anno di progetto verrà completato il saggio delle ulteriori 66 coppie di *primer*, mentre l'utilizzo dei nuovi *primer* sviluppati per la vera e propria caratterizzazione di cultivar di ciliegio dolce inizierà nell'estate del 2012.

Tab. 4 Riconoscimento polimorfismo da parte dei primer all'interno dei pseudocromosomi 5, 6, 7, 8

Pseudochromosoma 5					
SSR	Ciliegio	Pesco	Mandorlo	Susino giapponese	Albicocco
Sc5(5)-1JF	0	0	0	0	0
Sc5(5)-2JF	0	0	0	1	1
Sc5(5)-3JF	0	0	0	1	0
Sc5(5)-4JF	1	0	0	0	0
Sc5(4)-5JF	0	0	0	0	0
Sc5(4)-6JF	0	0	0	?	0
Sc5(4)-7JF	0	1	0	0	0
Sc5(4)-8JF	1	0	1	1	0
Sc5(3)-9JF	0	0	1	?	0
Sc5(3)-10JF	0	1	1	0	0
Sc5(3)-11JF	0	no	no	no	no
Sc5(3)-12JF	0	0	1	1	0
Pseudochromosoma 6					
Sc6(5)-1JF	0	0	1	0	0
Sc6(5)-2JF	no	no	no	no	no
Sc6(5)-3JF	1	0	0	1	0
Sc6(5)-4JF	0	0	0	0	0
Sc6(5)-5JF	1	0	0	1	no
Sc6(5)-6JF	0	0	0	0	0
Sc6(4)-7JF	0	0	0	1	0
Sc6(4)-8JF	0	0	1	0	0
Sc6(4)-9JF	?	0	0	0	0
Sc6(4)-10JF	1	1	0	0	0
Sc6(4)-11JF	0	0	1	1	1
Sc6(4)-12JF	0	0	0	1	0
Sc6(3)-13JF	0	0	1	0	0
Sc6(3)-14JF	0	1	1	?	?
Sc6(3)-15JF	0	1	1	0	0
Sc6(3)-16JF	0	0	0	0	0
Sc6(3)-17JF	1	0	1	no	?
Sc6(3)-18JF	0	0	0	0	0
Pseudochromosoma 7					
Sc7(5)-1JF	0	0	1	0	1
Sc7(5)-2JF	0	0	0	0	1
Sc7(5)-3JF	0	0	0	0	0
Sc7(5)-4JF	1	1	1	1	1
Sc7(4)-5JF	0	1	1	1	?
Sc7(4)-6JF	1	1	1	1	1
Sc7(4)-7JF	0	0	0	0	0
Sc7(4)-8JF	?	0	0	1	0
Sc7(3)-9JF	?	0	1	1	0
Sc7(3)-10JF	0	?	1	1	1
Sc7(3)-11JF	0	0	1	0	0
Sc7(3)-12JF	1	1	1	0	1
Pseudochromosoma 8					
Sc8(5)-1JF	0	1	1	1	0
Sc8(5)-2JF	0	0	0	0	0
Sc8(5)-3JF	0	0	0	?	?
Sc8(5)-4JF	0	no	0	0	0

Sc8(5)-5JF	1	0	0	?	0
Sc8(5)-6JF	0	0	0	0	0
Sc8(5)-7JF	0	1	1	1	0
Sc8(5)-8JF	0	0	0	1	0
Sc8(4)-9JF	0	0	0	0	0
Sc8(4)-10JF	no	0	1	0	0
Sc8(4)-11JF	0	0	0	?	0
Sc8(4)-12JF	0	0	0	1	0
Sc8(3)-13JF	1	1	?	?	0
Sc8(3)-14JF	0	0	1	0	0
Sc8(3)-15JF	1	1	0	0	0
Sc8(3)-16JF	0	0	1	1	0

0: assenza polimorfismo; 1: presenza polimorfismo; ?: difficoltà di interpretazione; no: mancata amplificazione

Bibliografia

CIPRIANI G., MARRAZZO M.T., DI GASPERO G., PFEIFFER A., MORGANTE M. E, TESTOLIN R. 2008: A set of microsatellite markers with long core repeat optimized for grape (*Vitis* spp.) genotyping. BMC Plant Biology, 8:127

DIRLEWANGER E., GRAZIANO E., JOOBEUR T., GARRIGA-CALDERÉ F., COSSON P., HOWARD W. E ARUS P. 2004. Comparative mapping and marker-assisted selection in Rosaceae fruit crops. Proc.Natl.Acad.Sci.

ILLA E., SARGENT D.J., GIRONA E. L., BUSHAKRA J., CESTARO A., CROWHURST R., PINDO M., CABRERA A., VAN DER KNAAP E., IEZZONI A., GARDINER S., VELASCO R., ARÚS P., CHAGNÉ D. E TROGGIO M. 2011: Comparative analysis of rosaceous genomes and the reconstruction of a putative ancestral genome for the family. BMC Evolutionary Biology 2011, 11:9

WUNSCH A. E HORMAZA J. I. 2002: Molecular characterisation of sweet cherry (*Prunus avium* L.) genotypes using peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] SSR sequences, Heredity 89, 56–63

Recupero e valorizzazione di accessioni frutticole *in situ* ed *ex situ*

CRA-FRU Centro di Ricerca per la Frutticoltura, Roma – Gruppo Collezione germoplasma e valutazione agronomica

DE SALVADOR F.R., SOLIGO F., IRIONE V.

La valutazione agronomica delle risorse genetiche costituisce una parte importante nell'attività di salvaguardia delle risorse genetiche nei fruttiferi. Tale attività si è esplicata con continuità nelle diverse fasi che caratterizzano la prospezione delle accessioni *in situ*, la loro immissione e validazione nella collezione *ex situ* del Centro Nazionale Germoplasma Frutticolo e successivamente la loro valorizzazione, in collaborazione con i gruppi di ricerca di biochimica e genetica.

Anche nel 2011 le azioni connesse alla valutazione agronomica hanno riguardato:

- missioni in aree frutticole tradizionali per l'individuazione di accessioni frutticole autoctone;
- la raccolta del materiale vegetativo e propagazione dello stesso per via agamica, allevamento dello stesso in vivaio.
- messa a dimora delle piante nelle collezioni
- la descrizione delle accessioni: acquisizione dei dati fenologici, vegetativi, agronomici, carpologici
- l'organizzazione, inserimento dei dati nel database, l'elaborazione delle informazioni e loro utilizzazione.

• **L'attività di prospezione** ha portato al reperimento di ulteriori accessioni da introdurre nelle collezioni conservative dell'albicocco (n° 26), ciliegio (n° 14), melo (n° 79), pero (n° 33), susino (n° 9), di cui sono state prelevate le gemme ed effettuati gli innesti per la produzione di astoni da mettere a dimora nell'inverno 2012-2013.

Nella primavera del corrente anno sono state messe a dimora le accessioni reperite e propagate nel 2010, in particolare per albicocco (n° 8), ciliegio (n° 15), fico (n° 49), melo (n° 30), noce (n° 97), pero (n° 1), pesco (n° 67), susino (n° 11).

La valutazione agronomica delle accessioni è consistita nell'acquisizione dei dati di tipo fenologico, vegetativo, carpologico e più in generale agronomico, effettuata sulla base di apposite schede descrittive-

morfologiche elaborate dal “Gruppo di Lavoro Biodiversità Agricola” del Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali

• **Relativamente all'acquisizione, organizzazione e elaborazione dei dati**, considerato che tali attività possono comportare vari ostacoli, quali imprecisione nell'individuazione delle piante in campo, lenta compilazione delle schede cartacee e successivo trasferimento delle informazioni su supporto informatico etc, in collaborazione con il Consorzio Roma Ricerche si è studiato e realizzato un sistema basato su tecnologia di identificazione a radiofrequenza (RFID=*Radio Frequency IDentification*) per il tracciamento delle accessioni frutticole e la realizzazione dei servizi connessi.

L'“etichetta elettronica” della pianta è un *tag* applicato alla pianta e costituito fisicamente da tre componenti: un micro-chip che contiene la parte logica e la memoria, un'antenna che raccoglie e trasmette i segnali radio da e verso il lettore (*reader*), e un supporto fisico che collega e protegge i due componenti citati. Il sistema si compone di un'interfaccia di *front-end*, per la fruizione dell'applicazione da parte dell'operatore sul campo e in laboratorio e di un'interfaccia di *back-end* per la gestione, l'aggiornamento e l'estrazione dei dati. (Figura 1).

Lato Front-End:

l'operatore è provvisto di *tablet* PC dotato di lettore RFID, con il quale può:

- rilevare una pianta, ottenere e aggiornare sul campo i dati inerenti all'esemplare in questione
- inserire in inventario nuovi esemplari
- spostare un esemplare da un luogo a un altro e segnalare l'evento al sistema centrale
- effettuare l'inventario e la catalogazione attraverso fasi di lavoro prefissate
- scambiare con il sistema centrale dati attraverso operazioni di sincronizzazione

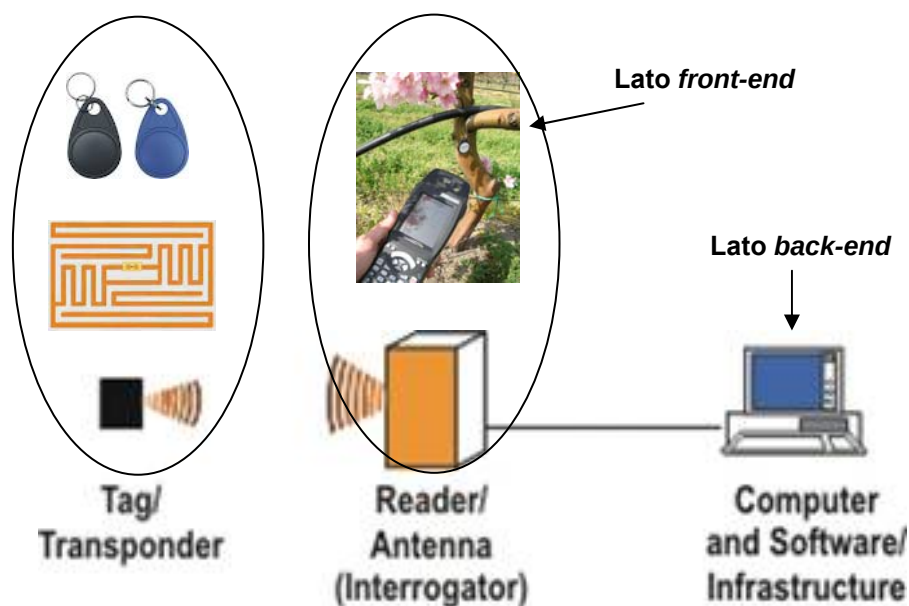


Fig. 1: Gli elementi che costituiscono il sistema RFID

Lato Back-End: il gestore da PC desktop è in grado di:

- inserire nuove accessioni in banca dati e aggiornare o modificare le informazioni collegate
- approvare e registrare lo spostamento di un esemplare all'interno della collezione
- visualizzare lo stato e la posizione degli esemplari all'ultimo censimento
- consultare lo storico e lo stato di inventario e catalogazione delle piante



Fig. 2: Esempi di schede descrittive pre-fissate da compilare per ogni accessione (identificazione attraverso codice pianta)

Architettura del sistema

Il sistema è composto da alcuni moduli software descritti di seguito:

Modulo di gestione dell'amministrazione

Il modulo consta di un pannello di controllo, accessibile tramite un browser web (da un qualsiasi PC nella LAN) e permette la gestione dei dati per:

- il tracciamento della pianta, quale associazione "codice identificativo-nome/numero inventario pianta";
- l'inserimento o l'aggiornamento delle informazioni associate alla pianta;
- le funzioni di statistica.

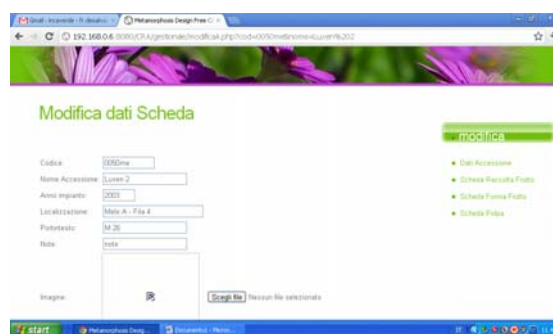


Fig. 3: Scheda di gestione amministrativa di un'accessione

Modulo RFID di rilevazione/inserimento

Il modulo è il cuore del sistema, che consente la rilevazione del tag RFID e le operazioni connesse, come ad esempio:

- l'inserimento di un nuovo tag associato a una pianta all'interno della banca dati del complesso
- la rilevazione dell'associazione tag-pianta, quindi risalire attraverso la rilevazione del tag alle informazioni relative alla pianta.

Non è possibile associare lo stesso tag a un altro esemplare, evitando così la duplicazione dei dati e problemi di inconsistenza. Il modulo di rilevazione/inserimento funziona sul tablet PC. I dati inseriti sono modificabili dal pannello di controllo dell'Amministrazione.

Modulo di trasmissione dati

Il modulo si occupa di gestire il traffico dati tra i tablet PC e l'archivio dati centrale, assicurando tempi minimi di caricamento delle informazioni. La trasmissione dei dati avviene all'inizio e al termine del lavoro (fasi di sincronizzazione).

Modulo per l'inventariazione degli esemplari

Questo elemento consiste nella realizzazione del sistema ad albero e della banca dati inventario. Inoltre il modulo raccoglie l'engine per il filtraggio e il recupero dei dati richiesti.

L'architettura si basa su una piattaforma client/server. Questa distinzione può intendersi nel seguente modo: Client → Applicativo che gira su tablet PC che mostra i dati della pianta e ne permette la modifica attraverso l'identificazione tramite lettura RFID.

Server → Database e interfacciamento di rete a supporto di tutti i moduli che dovranno interagire con i dati. La banca dati sarà strutturata per garantirne l'estensione, in previsione di sviluppi futuri.

Pubblicazioni

DE SALVADOR F.R., ENGEL P., FIDEGHELLI C. 2011: La Collezione di ciliegio presso il Centro Nazionale di Germoplasma Frutticolo del CRA-FRU di Roma: Caratterizzazione, Ricerca e Valorizzazione di varietà autoctone. Convegno Nazionale Ciliegio. Vignola, 8-10 giugno.

FIDEGHELLI C., ENGEL P. 2011. L'attività di raccolta, caratterizzazione, valorizzazione e conservazione della biodiversità vegetale di interesse agricolo in Italia con particolare riguardo alle risorse genetiche frutticole. *Italus Hortus* 18 (3) – Review n. 14:33-45

FIDEGHELLI C.; ENGEL P. 2011. Il Progetto “Risorse Genetiche Vegetali” del MiPAAF: Implementazione del Trattato Internazionale della FAO sulle RGVA. Poster presentato al Convegno ARSIAL “La biodiversità agricola del Lazio custodita dalle comunità locali”, Grottaferrata, 17-18 novembre.

IRIONE V., DE SALVADOR F.R., SOLIGO F., CHIERICO M., DELLA STRADA G., PAVIA R. 2011. Schede descrittive varietali. Mostra Pomologica, Roma 23 luglio.

IRIONE V., DE SALVADOR F.R., SOLIGO F., CHIERICO M., DELLA STRADA G., PAVIA R. 2011. Schede descrittive varietali. Mostra Pomologica, Roma 24 settembre.

Messa a punto di tecniche *in vitro* di conservazione del germoplasma per la salvaguardia della biodiversità di specie da frutto.

CRA-FRU Centro di Ricerca per la Frutticoltura, Roma. Gruppo Crioconservazione e “slow growth”

E. CABONI, A. FRATTARELLI, E. CONDELLO, A. SQUEGLIA, M. CARAMONI*, C. FORNI*

* Università di Tor Vergata, Dip.to Biologia Vegetale ed Evoluzionistica

• Allestimenti di nuove accessioni

Nel 2011 sono state allestite le colture asettiche delle cultivar antiche di susino (*Prunus domestica*), ‘Prugna di Gallinaro’, ‘Coscia di Monaca’, ‘Recinella’ e della cultivar di ciliegio (*Prunus avium*) ‘Ravenna precoce’ effettuando una valutazione delle migliori condizioni di sterilizzazione e di crescita *in vitro*.



Foto 1 e 2: ‘Prugna di Gallinaro’: Germogli nella prima fase di coltura *in vitro* (sinistra) e durante la fase di moltiplicazione

• Conservazione in crescita rallentata (*Slow growth*)

Le prove effettuate per individuare le migliori condizioni per la conservazione in crescita rallentata *in vitro* sono state effettuate sulla cultivar antica di melo (*Malus domestica* Borkh.) ‘Cerina’. Questo studio è stato effettuato in collaborazione con la prof. Cinzia Forni del Dipartimento di Biologia Evoluzionistica ed Ecologia dell’Università di Tor Vergata, nell’ambito della tesi di Laura specialistica dello studente Marco Caramoni.

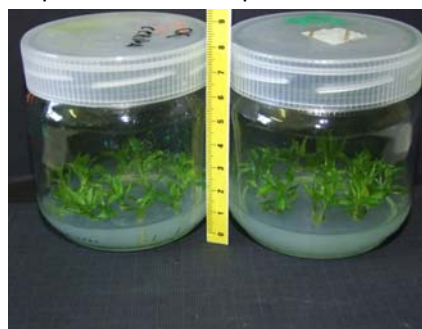


Foto 3: Germogli della cultivar ‘Cerina’ conservati in presenza di saccarosio 45 g/l, dopo una subcoltura in condizioni standard

Le colture *in vitro* di germogli di questa cultivar sono state conservate a 4° C al buio su terreno standard con 30 g/l saccarosio (controllo), in presenza di saccarosio 45 g/l, di acido salicilico (69 mg/l) o di L-glutammina (730 mg/l).

Dopo 3 e 6 mesi di conservazione sono stati valutati: % sopravvivenza degli espianti, condizione degli espianti (presenza di necrosi con calcolo indice di McKinney). Inoltre, è stata valutata la capacità proliferativa (calcolo tasso di moltiplicazione) degli espianti dopo il trasferimento in condizioni standard per una subcoltura. Dopo 6 mesi tutti gli espianti erano vitali ma presentavano necrosi fogliari più o meno

estese in base ai trattamenti.

Il trattamento con 45g/l di saccarosio è risultato il migliore, in quanto riguarda il mantenimento della capacità proliferativa e il contenimento dei fenomeni di necrosi fogliare.

• Applicazione sperimentale della crioconservazione al fine di mettere a punto protocolli per le diverse specie frutticole

Gelso bianco (*Morus alba*). E' proseguita l'ottimizzazione del protocollo di crioconservazione in questa specie comparando il metodo della *encapsulation-dehydration* con il metodo della *vitrification*. Fra i vari trattamenti applicati i migliori risultati sono stati ottenuti con un trattamento degli apici vegetativi con una soluzione contenete 0,75M saccarosio per 3 giorni e un successivo trasferimento per 9 h in silica gel, utilizzando il metodo *encapsulation-dehydration*, e con il metodo della *vitrification*, mantenendo gli espianti per 30 min. in soluzione vitrificante PVS2. La comparazione finale dei due protocolli ha permesso di mettere in evidenza una maggiore efficienza del protocollo di *encapsulation-dehydration* rispetto al metodo della *vitrification* nel garantire una ricrescita degli apici.

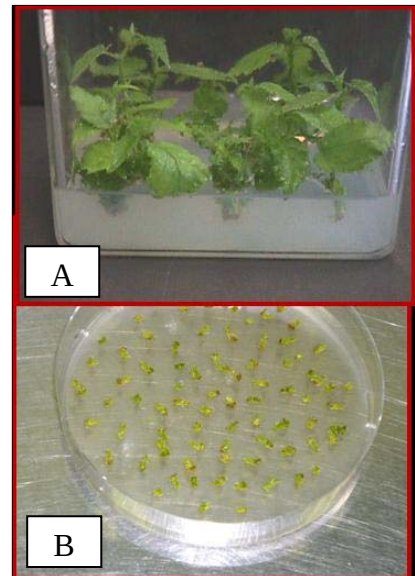
Tab. 1: Confronto di due metodi di crioconservazione di Gelso (*Morus alba*)

Metodo	Migliore trattamento	Sopravvivenza (%)	Ricrescita (%)
<i>Encapsulation- dehydration</i>	0,75 M sacc for 3 h in silica gel	80a	66a
<i>Vitrification</i>	30 min PVS 2	80a	45b

(Duncan's test, $P < 0,05$, $n = 60$)

Nocciolo, cv 'Montebello' e 'Tonda Romana'. E' stato valutato il ruolo dell'enzima SOD (superossidodismutasi) nella risposta degli espianti al processo di crioconservazione. Negli espianti in ricrescita di nocciolo provenienti dalla crioconservazione si è osservato un incremento sia della Cu-Zn SOD che della Mn SOD negli espianti crioconservati rispetto al controllo, che sembra essere direttamente correlato alla capacità di ricrescita degli espianti dopo il trattamento in azoto liquido. L'incremento nell'attività dell'enzima SOD, che è stata evidenziata negli espianti con più alta ricrescita, suggerisce un'azione di *scavenging* (pulitura) dell'enzima che svolgerebbe un ruolo di difesa cellulare detossificando le specie altamente reattive dell'ossigeno (ROS) prodotte dallo stress indotte dal processo di crioconservazione.

Foto 4 e 5: Nocciolo. A) colture *in vitro* di germogli in moltiplicazione. B) Preparazione degli espianti.



Pubblicazioni

CABONI E., FRATTARELLI A., CONDELLO E., MONTICELLI S., SGUEGLIA A., DAMIANO C. 2011. Messa a punto di tecniche di crioconservazione del germoplasma per la salvaguardia della biodiversità di specie da frutto. Notiziario Risorse Genetiche Vegetali 11: 1/2 pp.16-17.

CONDELLO E., CABONI E., ANDRÈ E., PIETTE B., DRUART P., SWENNEN R., PANIS B. 2011. Cryopreservation of apple *in vitro* axillary buds using droplet-vitrification. Cryo Letters Volume 32, No. 2 March/April. pp.175-185

CONDELLO E., RUŽIĆ D., PANIS B., CABONI E. 2011. Raspberry cryopreservation by droplet vitrification technique. Acta Horticulturae 918: 965-969.

DAMIANO C., CABONI E., FRATTARELLI A., CONDELLO E., ARIAS M., ENGELMANN F. 2011. Cryopreservation of fruit tree species through encapsulation-dehydration at the CRA - Fruit Research Centre of Rome. Acta Horticulturae 908: 187-190.

DAMIANO C., SGUEGLIA A., ARIAS M., FRATTARELLI A., CONDELLO E., CABONI E. 2011. Cryopreservation of peach shoot tips by encapsulation-dehydration. ISHS Acta Horticulturae 918: 121-124.

Attività divulgative CRA-FRU

Organizzazione Mostra Pomologica, Roma 23 luglio 2011

Organizzazione Mostra Pomologica, Roma 24 settembre 2011

CRA-Day: Visite guidate per i campi sperimentali e laboratorio del CRA-FRU. 26 ottobre.

Raccolta e caratterizzazione bio-agronomica, molecolare e nutrizionale del germoplasma frutticolo campano

CRA-FRC Unità di Ricerca per la Frutticoltura, Caserta

LAURA R. CAPUANO, TERESA MIGLIOZZI, MILENA PETRICCIONE, M.SILVIA PASQUARIELLO, PIETRO REGA

Introduzione

La Regione Campania, grazie alla sua ricchezza culturale e alla presenza di ambienti geografici molto differenziati, è una delle regioni italiane più ricche di germoplasma autoctono e nell'ultimo decennio sono stati effettuati numerosi studi mirati al recupero, alla caratterizzazione e alla valorizzazione di varietà ed ecotipi delle diverse specie frutticole campane (melo, pero, susino, melograno). Il lavoro di individuazione è abbastanza complesso e durante il reperimento delle accessioni bisogna affrontare anche il problema delle sinonimie ed omonimie. La caratterizzazione agronomica e pomologica sarà poi affiancata da analisi biochimiche e molecolari che permetteranno di acquisire nuove informazioni sulle accessioni in studio.

Materiali e metodi

Per la caratterizzazione delle nuove accessioni e di quelle già individuate il CRA-FRC ha condotto uno studio distinto in diverse linee di ricerca:

Sopralluoghi sul territorio regionale per individuare nuove accessioni delle varie specie frutticole campane.

Analisi agronomiche in azienda, valutando la diversa capacità vegeto-produttiva (habitus vegetativo, epoca di ripresa vegetativa, fioritura e maturazione) delle varie accessioni presenti all'interno dei campi di collezione del germoplasma realizzati presso le aziende sperimentali del CRA-FRC.

Analisi biometriche e qualitative: Per ogni accessione sono stati raccolti 30 frutti, sui quali sono state effettuate analisi pomologiche rispettando i descrittori previsti dal progetto per le diverse specie frutticole. Sono stati valutati i parametri fisico-chimici quali il contenuto dei solidi solubili, il pH e il contenuto di acidi totali. Infine è stato determinato il contenuto medio di polifenoli e flavonoidi.

Analisi molecolari: Al fine di evidenziare eventuali omonimie e sinonimie, utilizzando marcatori SSR (*Simple Sequence Repeats*), sono stati utilizzati cinque loci SSR. L'analisi delle distanze genetiche tra le accessioni è stata effettuata mediante il software "NTSYS-pc", (*Exeter Software*), elaborando una matrice binaria, indicante la presenza (1) e assenza (0) dell'allele di interesse. Le similarità genetiche sono state calcolate utilizzando l'indice di Jaccard e sono rappresentate con dendrogramma costruito mediante il metodo "Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages" (UPGMA).

Analisi biochimiche con l'obiettivo di valutare delle proteine che conferiscano un valore aggiunto alle accessioni ritenute interessanti alla valutazione agronomica e pomologica. Inoltre è stata studiata la composizione degli allergeni valutando le IgE su *microarray*, valutando poi nel siero dei pazienti allergici la capacità dell'estratto proteico di alcune accessioni di melo ('Bianca di Grottolella', 'Fierro', 'Sergente', 'Limoncella', 'Cassanese') di inibire il legame con le IgE.

Risultati e discussione

Pero: Sono state caratterizzate otto accessioni: 'Pera Reale', 'Coscia di Donna', 'S. Giovanni', 'Gialla di Roccaromana', 'Baia Latina 2', 'Baia Latina 5' e 'S. Maria del Soccorso'. Quest'ultima accessione è stata reperita nel comune di Castelfranci (AV), individuata come pianta singola in un terreno utilizzato per altre colture (Foto 2). Il frutto è di pezzatura piccola, sferoidale e simmetrico. La buccia è di colore giallo con un sovraccolore rosso sfumato. La polpa è di color crema, fondente e poco succosa. Scarso il sapore, apparentemente dolce con retrogusto astringente.

Susino: Complessivamente sono state valutate 20 accessioni di susino, 17 delle quali assimilabili al gruppo europeo ('Fiocco bianco', 'Fiocco rosa', 'Cape e piecore bianca', 'Botta a muro', 'Del Carmine', 'Fele', 'Ugliese', 'Pappagona', 'Genova Giallo verde', 'Riardo1', 'Rachele', 'S. Angiolese', 'S. Raffaele', 'S. Maria', 'Sila', 'Scarrafona', 'Zuccarina') e tre a quello cino-giapponese ('Marmulegna di Nardo', 'Pezza rossa' e 'S. Paola').



Foto 2: Pera 'S. Maria del Soccorso'

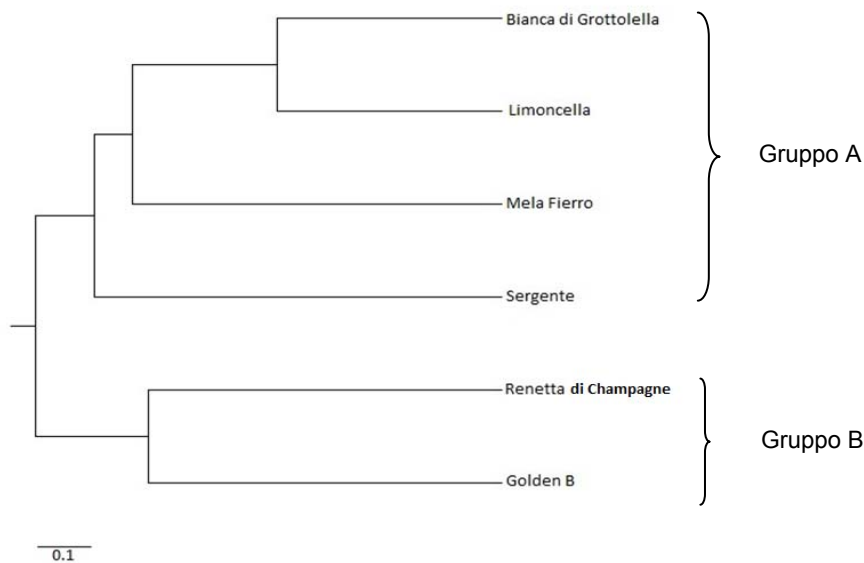


Foto 3: Melograno PR1

Melograno: È stata individuata e caratterizzata una nuova accessione (Foto 3), reperita nel comune di Pietravairano (CE). Il frutto è di pezzatura elevata, la buccia è di colore bianco con un sovraccolore rosso porpora. I grani sono di colore rosa, duri e dal sapore leggermente acidulo. Successivamente è stato effettuato uno studio comparativo tra la nuova accessione e quelle di origine siciliana precedentemente individuate ('Dente di Cavallo' e 'Profeta Partanna').

Melo: Le accessioni caratterizzate sono: 'Cassanese', 'Sergente', 'Fierro', 'Bianca di Grottolella' (Foto 1), e 'Limoncella'. La 'Bianca di Grottolella' e 'Renetta di Champagne' risultano due cultivar molto simili dal punto di vista pomologico; questi dati però non sono stati confermati dalle analisi molecolari SSR. Il dendrogramma (fig.1) ottenuto dalla *cluster* analisi mostra due principali raggruppamenti "A" e "B". Si può ben notare che la cultivar 'Bianca di Grottolella' è geneticamente più vicina alla 'Limoncella' mentre la 'Renetta di Champagne' risulta essere lontana dalla 'Bianca di Grottolella' ma geneticamente più vicina alla 'Golden B'.

Per quanto riguarda le analisi biochimiche, non è possibile stabilire una correlazione positiva tra contenuto



proteico e allergenicità di un frutto.

I frutti delle accessioni 'Fierro' e 'Cassanese' possono essere definiti ipoallergenici in quanto mostrano una più alta concentrazione di proteine e una bassa inibizione delle IgE in termini percentuali e di numero di allergeni inibiti; al contrario quelli della Bianca di Grottolella iperallergenici (Figure 2 e 3).

Fig. 1: Dendrogramma delle varietà di melo ottenuto mediante il metodo UPGMA usando il coefficiente di Jaccard.

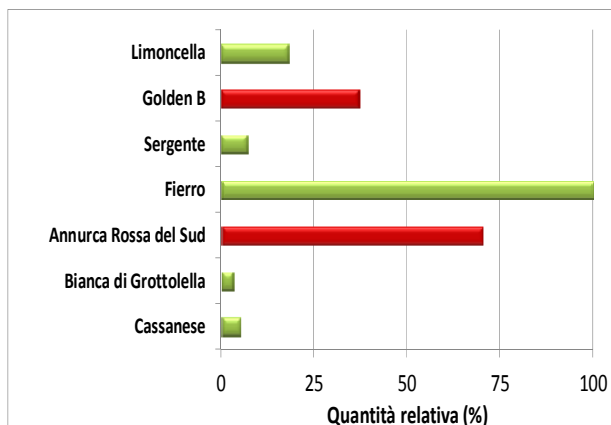


Fig. 2: Quantizzazione proteica dei campioni analizzati

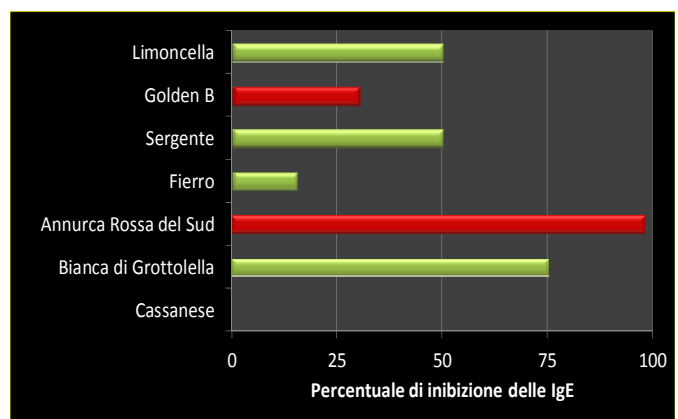


Fig. 3: Percentuale di inibizione delle IgE rispetto a Mal d 1.

Recupero, conservazione e valorizzazione del germoplasma frutticolo italiano e autoctono dell'Emilia-Romagna

CRA-FRF Unità di Ricerca per la Frutticoltura, Forlì

DANIELA GIOVANNINI, GIANLUCA BARUZZI, MAURO BERGAMASCHI, ALESSANDRO LIVERANI, MARIA LUIGIA MALTONI, SANDRO SIRRI, WALTHER FAEDI

• Ricerche storico-documentali su vecchio germoplasma locale e nazionale

E' stata condotta una ricerca documentale per identificare le vecchie varietà di melo coltivate in epoca storica sul territorio nazionale. In una fase iniziale sono stati consultati i volumi e le riviste della biblioteca specializzata in agricoltura del CRA-FRF (circa 650 volumi e riviste risalenti a prima del 1900, oltre 800 compresi nell'arco temporale 1900-1950, e oltre 2400 pubblicati dal 1950 ad oggi), in particolare i volumi che trattano della coltura del melo in Italia. La ricerca è proseguita su volumi d'epoca di altre biblioteche pubbliche, e su quelli resi disponibili su internet. Non è stata tralasciata neppure la consultazione di testi o riviste recenti, che riguardano la storia e la coltivazione del melo nei vari ambienti italiani, con la descrizione del germoplasma locale. Sono stati catalogati su foglio elettronico i nomi delle varietà di melo citate o descritte, i sinonimi riportati, scansionando le parti del testo che riportavano queste informazioni. Ad oggi sono stati catalogati oltre 2500 genotipi, descritti in 128 pubblicazioni di cui 62 risalenti a prima del 1900 (13 di queste sono anteriori al 1700). Si prevede di implementare un apposito *software* per specifiche interrogazioni.

• Recupero di vecchie varietà da frutto romagnole e di germoplasma di *Fragaria* spp.

L'attività di recupero di antiche varietà da frutto sul territorio romagnolo e/o presso repository pubblici è proseguita, con l'acquisizione delle accessioni di pesco 'Rossa di Lugo', 'Bella di Gambettola', 'Morellona', 'San Varano' (cloni 1, 2 e 3) che sono state propagate su specifico portainnesto. La "Collezione multicrop" del CRA-FRF di Magliano (FC) è stata ulteriormente ampliata con la messa a dimora degli astoni (3 per accessione) delle accessioni 'Zucchella' e 'Favorita del Sultano' (susino) e 'Mela Rosa 41', 'Mela Rosa 68', 'Francesca Romagnola' e 'Piatlaza' (melo) reperite e fatte propagare l'anno precedente. Attualmente, la "Collezione multicrop" raccoglie 17 accessioni di melo, 12 di pero, 26 di pesco, 6 di susino e 10 di ciliegio.

La collezione di *Fragaria* spp. è stata ampliata con l'inserimento di 17 vecchie varietà europee di *F. x ananassa* provenienti dalla collezione del Julius Kühn-Institut (JKI) di Dresda (Germania). Le accessioni sono state messe a dimora in pieno campo (2-5 piante per accessione) per i futuri rilievi fenologici e agronomici.

• Caratterizzazione agro-pomologica e molecolare del germoplasma di fruttiferi e fragola

Sono stati effettuati i rilievi fenologici (fioritura e maturazione) e agro-pomologici utili alla caratterizzazione delle vecchie varietà di fruttiferi e fragola. I rilievi hanno riguardato 49 accessioni di fragola, 28 di pesco, 49 di susino, 7 di ciliegio, 9 di pero, e 17 di melo. E' stato condotto uno studio di *fingerprinting* su diverse accessioni di pesco della medesima varietà (es. 'Bella di Cesena', 'Buco Incavato') acquisite nel corso di prospezioni territoriali e/o ottenute da repository pubblici. Lo studio aveva lo scopo sia di delineare i profili molecolari di queste vecchie varietà tradizionali della Romagna, sia di verificare la presenza di duplicati, di ecotipi diversi della medesima varietà, di errori di attribuzione. Allo scopo, sono stati impiegati 16 marcatori molecolari SSR. I risultati hanno consentito di evidenziare 1 omonimo (stesso nome, profilo diverso), 7 duplicati (nell'ambito di 'Buco Incavato', 'Bella di Cesena' 'Pesca carota' e 'Sant'Anna Balducci') e, infine, diversi genotipi con un profilo molecolare molto simile (coefficiente di similarità molto elevato) che sono probabilmente ecotipi afferenti al medesimo gruppo varietale. Il completamento della caratterizzazione morfo-fenologica consentirà di confermare o meno le risultanze molecolari.

• Caratterizzazione biochimica del germoplasma di fruttiferi e fragola in collezione

Le accessioni in collezione, entrate in fase produttiva, sono state campionate in concomitanza con la maturazione dei frutti. Sono state analizzate per il contenuto di solidi solubili e l'acidità titolabile, consistenza della polpa e colore dell'epidermide (17 accessioni di pesco, 43 di susino, 7 di ciliegio, e 5 di pero).

Su 9 vecchie accessioni di melo, oltre ai rilievi sopra indicati, sono stati determinati il contenuto di acido ascorbico, la capacità antiossidante totale e i polifenoli totali: la varietà 'Treccia' è risultata quella con il più elevato contenuto di acido ascorbico (13 mg/100 g di p.f.) e la più alta capacità antiossidante (8,3 µmol Trolox/g p.f.). Sono state inoltre campionate e analizzate 48 accessioni di *Fragaria* spp. Su 24 di queste è stato condotto uno studio finalizzato a delineare il profilo morfologico, qualitativo e nutraceutico del frutto di accessioni di diversa ploidia. Nel 2011 sono state completate le analisi dei frutti campionati nel 2010 e appartenenti ad accessioni diploidi (*F. vesca*), esaploidi (*F. moschata*) ed ottoploidi (*F. x ananassa* e *F. chiloensis*). Sono stati rilevati i seguenti caratteri qualitativi: coordinate colorimetriche CIE L* a* b*, contenuto

di solidi solubili, acidità titolabile, contenuto di acido ascorbico, polifenoli totali, antocianine totali e capacità antiossidante complessiva.

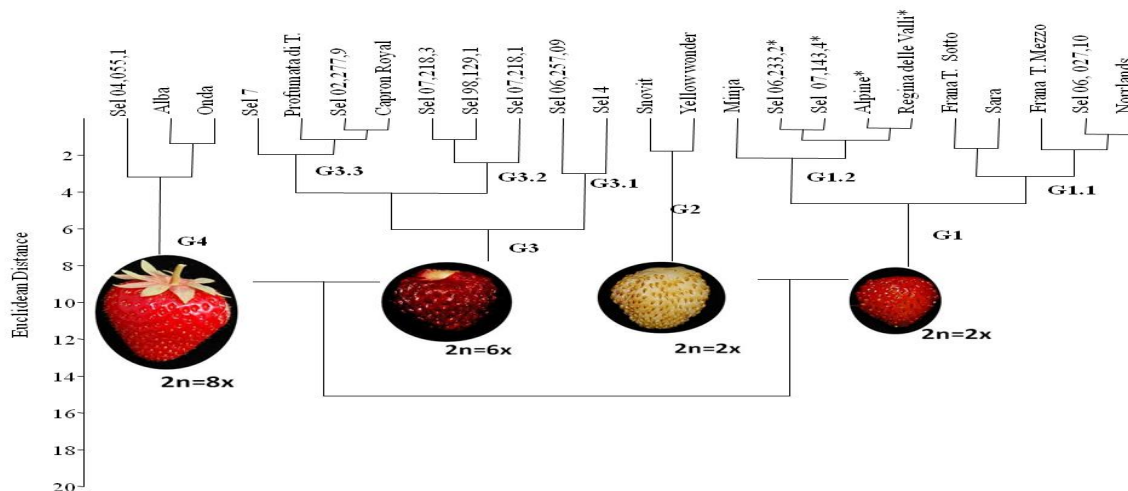


Figura 1. Dendrogramma UPGMA costruito sulla similarità delle 24 accessioni di *Fragaria* spp per i seguenti descrittori qualitativi del frutto: coordinate colorimetriche L* a* b*, contenuto di solidi solubili, acidità titolabile, contenuto di acido ascorbico, polifenoli totali, antocianine totali, capacità antiossidante complessiva.

I dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi multivariata (*cluster analysis*) per identificare l'esistenza di raggruppamenti di genotipi simili per caratteristiche qualitative e nutraceutiche, utili in programmi di miglioramento genetico finalizzati a migliorare questi aspetti in *Fragaria* spp. I risultati preliminari hanno rilevato l'ampio range di variazione per i tratti analizzati sia nei genotipi con medesima ploidia, sia, soprattutto, tra gruppi di ploidia diversa. La *cluster analysis* ha distinto chiaramente il pool in studio in 4 gruppi (Figura 1): i primi due hanno raggruppato le accessioni di *F. vesca* ("Fragolina di bosco") distinguendo quelle a frutto rosso (G1) da quelle a frutto bianco (G2). I gruppi G3 e G4 hanno, rispettivamente, raggruppato le accessioni di *F. moschata* (esaploidi) e quelle di *F. x ananassa* e *F. chiloensis* (ottoploidi). Il campionamento dei frutti è stato ripetuto sulle medesime accessioni nel 2011, allo scopo di determinare l'influenza del fattore "annata produttiva" sui caratteri suddetti.

• Uso del germoplasma in azioni di miglioramento genetico

Le varietà di pesco 'Giulla Tardiva' e 'Percoca di Romagna' sono state inserite nel programma di incroci in quanto portatrici, rispettivamente, di elevata tolleranza a monilia e putativa resistenza alla mosca della frutta. Le vecchie varietà italiane di pero 'Porporata' (per la buccia rossa), 'Passacrassana' (per l'epoca di maturazione tardiva), e le romagnole 'Cocomerina tardiva' e 'Briaca' (polpa rossa) sono state impiegate nel programma di incroci. I semi ottenuti nel 2011: 'Briaca' (579); 'Porporata' (258); 'Passacrassana' (92).

• Suscettibilità di campo del germoplasma alle avversità biotiche più diffuse e dannose

Sono proseguiti i rilievi di campo finalizzati alla caratterizzazione del germoplasma frutticolo per la suscettibilità a malattie fungine comuni per le diverse specie. Il vecchio germoplasma di pesco ha evidenziato



Fig. 4: Alcune vecchie varietà di melo hanno mostrato una buona tolleranza all'agente della ticchiolatura, carattere che verrà sfruttato dal CRA-FRF nelle azioni di miglioramento genetico per questo obiettivo.

una generale tolleranza agli agenti della bolla e/o dell'oidio. E' stata rilevata la suscettibilità di campo a ticchiolatura di 566 genotipi di **melo**, il 30% dei quali non ha evidenziato sintomi. Fra le vecchie varietà, 'Panaia', 'Rosa Renetta', 'Decio', 'Durello' e 'Permaindorè' non hanno evidenziato in campo attacchi di ticchiolatura. Su un totale di 50 varietà di **fragole** sono stati condotti rilievi sulla suscettibilità a oidio e vaiolature fogliari (scala di gravità dei sintomi 0-5). La varietà 'Patty', costituita dal CRA-FRF, è emersa per la resistenza a oidio e la limitata suscettibilità a vaiolature. Purtroppo è risultata molto suscettibile a batteriosi (*Xanthomonas fragariae*).

• Suscettibilità al virus della sharka (PPV) del vecchio germoplasma di pesco

Sono proseguite, in collaborazione con il CRPV di Cesena, le inoculazioni artificiali col ceppo M del virus della sharka al fine di saggiare la suscettibilità di alcune vecchie varietà di pesco. Sono stati attribuiti punteggi variabili da 0 a 3 (da 0 = assenza di sintomi a 3 = sintomi gravi su frutti, foglie e fiori) per quantificare la gravità dei sintomi su foglie, fiori, frutti. Due vecchie varietà italiane ('Capucci 18' e 'Pieri 81') non hanno mai mostrato sintomi (classe 0); altre del *pool* romagnolo ('Percoca di Romagna 7', 'Pesca carota' e 'Bella di Cesena') hanno manifestato una buona tolleranza (classe 1); altre infine ('Sanguinella', 'Buco Incavato') hanno manifestato sintomi mediamente gravi (classe 2).

Pubblicazioni

GIOVANNINI D., ENGEL P. 2011. ECPGR (Programma Cooperativo Europeo sulle Risorse Genetiche Vegetali) VIII meeting del Gruppo di Lavoro *Prunus*, Forlì, 7-9 settembre 2010. Notiziario Risorse Genetiche Vegetali, 1/2:2-3.

GIOVANNINI D., FAEDI W., LIVERANI A., BERGAMASCHI M., BARUZZI G., MALTONI M.L. 2011. Azioni di recupero, conservazione e valorizzazione del germoplasma frutticolo autoctono. Notiziario Risorse Genetiche Vegetali 1/2 : 20-23.

GIOVANNINI D., QUACQUARELLI I., LIVERANI A., SIRRI S. 2011. Caratteristiche pomologiche e biochimiche di accessioni di Corniola, varietà di punta della tradizione cerasicola romagnola. Riassunti Convegno nazionale "Innovazioni di prodotto e di processo per una cerasicoltura di qualità", Vignola, 8-10 giugno 2011, pag.23-24.

GIOVANNINI D., LEONE A., LIVERANI A., SIRRI S., TELLARINI S. 2011. Caratterizzazione molecolare e distanza genetica di vecchie varietà di ciliegio della tradizione romagnola. Riassunti Convegno nazionale "Innovazioni di prodotto e di processo per una cerasicoltura di qualità", Vignola, 8-10 giugno 2011, pag. 125-126.

BENEDIKOVÁ D., GIOVANNINI D. 2011. Review on Genetic Resources in the ECPGR *Prunus* Working Group. 'Second Balkan Symposium on Fruit Growing', Pitesti (Romania), 5-7 September 2011. Book of Abstracts.

LEONE A., DETTORI, M.T., LIVERANI A., SIRRI, S., VERDE, I., GIOVANNINI, D. 2011. Genetic variability and relationship of the heritage peach varieties of Emilia Romagna. XIII Eucarpia Symposium on Fruit Breeding and Genetics, September 11-15 2011. Book of Abstracts p. 220.

GIOVANNINI D., BABINI L., 2011. Antica ma attuale: Corniola, varietà di punta della tradizione cerasicola romagnola. <http://www.freshplaza.it>

Attività divulgative 2011

Il 25 maggio il CRA-FRF ha organizzato la mostra pomologica "Fragola in coltura di pieno campo in Romagna" presso l'azienda sperimentale Martorano 5 di Cesena (FC), in occasione della quale sono stati esposti alcuni campioni di vecchie varietà di fragola ottoploide (*F. x ananassa*), di *F. moschata* (esaploide) e di *F. vesca* (diploide).

Il 14 luglio, alla mostra pomologica "Incontri a Magliano" organizzata presso la sede CRA-FRF, sono stati presentati campioni di vecchie pesche romagnole ed illustrata l'attività condotta sulla conservazione e la valorizzazione del germoplasma frutticolo.

Caratterizzazione e valorizzazione di varietà di mandorlo autoctone pugliesi

CRA-SCA Unità di ricerca per i sistemi colturali degli ambienti caldo-umidi, Bari

DONATO DE GIORGIO

Nell'ambito della collezione varietale di mandorlo di 220 varietà del CRA-SCA di Bari, sono state individuate per produttività e caratteristiche carpologiche, 20 varietà autoctone di origine pugliese (Tabella 1) e 26 nuove costituzioni realizzate dalla stessa Unità di Ricerca (Tabella 2) e sottoposte a determinazioni sperimentali per la caratterizzazione fenologica, produttiva e carpologica.

Su ogni accessione è stata rilevata l'epoca di fioritura, distinguendo l'inizio quando il 10 % dei fiori era in antesi, la piena con l'intera chioma in fioritura e la fine con il 10 % di fiori ancora con petali. La caratterizzazione fenologica è di grande importanza per l'operatore che si accinge a realizzare nuovi impianti; la conoscenza dell'epoca di fioritura potrà consentire la scelta della varietà che meglio si adatta al proprio ambiente. La resistenza alle basse temperature, che frequentemente si verificano durante l'antesi e spesso condizionano negativamente l'esito produttivo, rappresenta un fattore di primaria importanza per la buona riuscita della coltura. Alla maturazione dei frutti, con il mallo in deiscenza, è stata effettuata la raccolta per varietà. Il prodotto, essiccato all'aria, è stato pesato e, successivamente, su un campione di 500 grammi sono stati effettuati i rilievi carpologici (peso della mandorla e del seme, % dei semi doppi e dei semi abortiti, resa in semi). Tutti i dati rilevati sono stati inseriti nel data set informatico. In parallelo è stato effettuato un monitoraggio continuo dei principali parametri climatici per valutare le interazioni tra le accessioni in collezione e l'andamento climatico.

Le basse temperature (+1 e -1 °C) tra l'ultima decade di gennaio e la prima di febbraio hanno ritardato sia l'inizio che la fine della fioritura di circa 15-20 giorni rispetto al normale andamento degli anni precedenti. Questo ha determinato un inizio fioritura nella prima decade di marzo e un raccorciamento della durata per il sopraggiungere delle temperature primaverili più elevate, sia per le varietà che per le selezioni. Durante l'antesi sono stati individuati i periodi con le temperature più critiche e le accessioni che in quei giorni erano in fioritura.

• Varietà autoctone pugliesi

L'intero gruppo delle varietà prescelte hanno mostrato una buona attitudine produttiva con valori compresi tra 5,5 kg della 'Barlettana' e la 'Montrone' con 2,6 kg di seme per pianta. La 'Barlettana' ha una resa in sgusciato del 39,74% e un'alta incidenza di semi gemellari. La 'Montrone' ha una resa in sgusciato del 26,4% e un 28% di semi gemellari. Seguono per produttività 4 varietà ('Filippo Ceo', 'Rana Gentile', 'Tenente' e 'Nocella') con valori superiori a 4 kg di seme per pianta e 6 varietà ('Viscarda', 'Catuccedda', 'Zanzanidde', 'Santoro', 'Caputo' e 'Chino') con produzioni tra 3,6 e 3,0 kg. Le produzioni delle restanti 9 varietà ('Cristomorto', 'Riviezzo', 'Mincacetta', 'Genco Laera', 'Irene Lanzolla', 'Marchione', 'Falsa Catuccia', 'Caporusso' e 'Montrone') sono simili fra di loro e comprese tra 2,9 e 2,6 kg di seme per pianta. Fra le varietà con una buona combinazione tra resa in sgusciato e produttività troviamo la 'Rana Gentile', la 'Viscarda', la 'Catuccedda', la 'Riviezzo' e la 'Marchione'. L'incidenza dei semi gemellari tende a essere più bassa nelle varietà a bassa resa, ad eccezione della 'Tenente' che ha una produttività superiore a 4 kg di semi per pianta, e delle varietà 'Zanzanidde' e 'Chino' con valori produttivi superiori a 3 kg che coniugano buona produttività e la completa assenza di semi gemellari.

Tab. 1: Produzioni e parametri carpologici delle varietà autoctone di origine pugliese

Nome accessione	Prod. Seme/ pianta (kg)	Resa (%)	Peso seme (g)	Semi gemellari (%)	Nome accessione	Prod. Seme/ pianta (kg)	Resa (%)	Peso seme (g)	Semi gemellari (%)
Barlettana	5,52	39,74	1,71	48	Caputo	3,06	29,39	1,67	20
Filippo Ceo	4,83	36,70	1,88	31	Chino	3,01	26,88	1,37	0
Rana Gentile	4,74	35,86	1,21	16	Cristomorto	2,92	34,14	2,14	48
Tenente	4,49	27,66	1,18	0	Riviezza	2,87	37,11	1,91	36
Ferrante	4,41	31,11	1,42	56	Mincacetta	2,76	28,81	0,84	8
Nocella	4,03	21,76	1,21	4	Genco	2,74	33,27	1,38	0
Viscarda	3,59	38,04	1,65	52	Irene Lanzolla	2,73	24,56	1,23	24
Catuccedda	3,54	38,90	2,26	64	Marchione	2,72	37,36	0,93	0
Zanzanidde	3,30	26,80	0,73	0	Caporusso	2,58	30,53	1,31	12
Santoro	3,07	32,35	1,62	16	Montrone	2,58	26,36	1,68	28

La varietà con fioritura più precoce è stata 'Occhio Rosso di Trani' con inizio il 17 febbraio (Fig. 1) e con una durata di 20 giorni; seguono 'Pettolecchia', 'Caporusso', 'Mincacetta' e 'Nocella', con un ritardo di 3-4 giorni di inizio fioritura rispetto alla più precoce. Le varietà con fioriture più tardive, con inizio tra il 15 e il 18 marzo, sono 'Pignatidde Tardiva', 'Tenente' e 'Rana Gentile', quest'ultima con una durata di 15 giorni, la più lunga di questo gruppo. Le varietà 'Barlettana', 'Occhio Rosso di Trani', 'Pettolecchia', 'Caporusso', 'Mincacetta' e

'Nocella', sia in piena che a fine fioritura hanno subito per più giorni, tra il 26 e 29 febbraio, basse temperature tra +1 e -1, mentre 'Pettolecchia' e 'Caporusso' solo in piena e la 'Reale' solo alla fine fioritura. Le restanti varietà, ad eccezione di quelle con fioritura tardiva ('Tuono', 'Zanzanidde', 'Caputo', 'Cristomorto', 'Pignatidde Tardiva', 'Tenente' e 'Rana Gentile'), la cui fioritura non è stata interessata da temperature critiche, hanno subito un abbassamento di temperatura solo nella fase di inizio fioritura tra il 9 e 11 marzo. In generale si può affermare che in questa annata un folto gruppo di varietà è stato interessato da temperature critiche, riuscendo a dare buoni risultati produttivi.

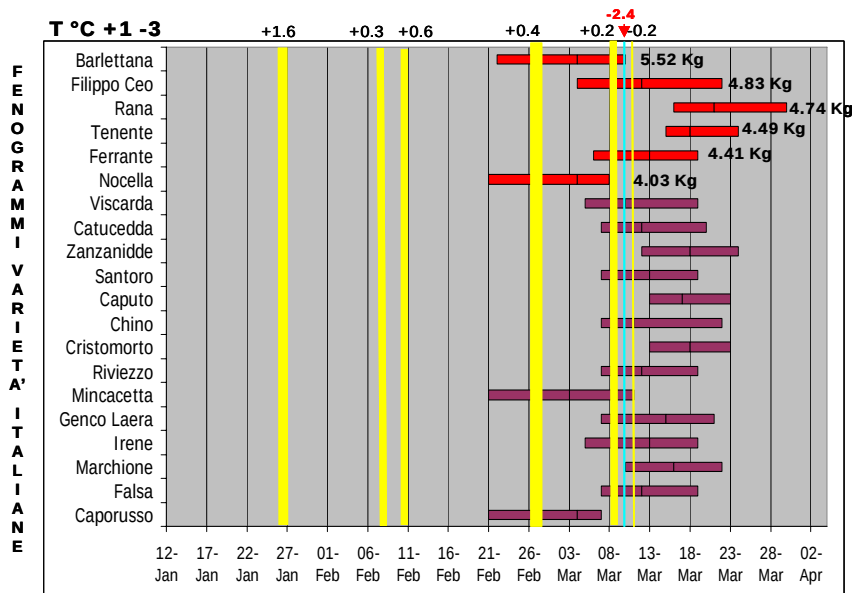


Fig. 1: Fenogrammi delle varietà autoctone in relazione alle temperature critiche

• Nuove costituzioni SAS e ISA

Questo gruppo comprende le nuove costituzioni realizzate in 2 differenti epoche, le cui sigle derivano dalle diverse denominazioni che l'istituzione di ricerca ha assunto nel tempo SAS (Stazione Agraria Sperimentale) e ISA (Istituto Sperimentale Agronomico) seguite da un numero.

Per ottima produttività si sono distinte SAS 125, SAS 140, ISA 420 e ISA 318 rispettivamente con 5,3, 4,9, 4,5 e 4,5 kg di seme per pianta. SAS 125, oltre ad avere una buona produttività, ha la resa più elevata (47.7%), ma con una elevata incidenza di semi gemellari (95%). ISA 420 ha guscio molto duro e una buona combinazione tra produttività e bassa incidenza di semi gemellari (4%). Nel range di produttività tra 4 e 3 kg di semi per pianta, troviamo 8 costituzioni SAS (SAS 33, SAS 50, SAS 120, SAS 26, SAS 2, SAS 15, SAS 6, SAS 85) e 3 costituzioni ISA (ISA 284, ISA 321, ISA 312). SAS 85 ha una buona combinazione tra produttività (3,3 kg di seme per pianta), resa in sgusciato del 39,4% e la completa assenza di semi gemellari. Le restanti costituzioni (SAS 27, SAS 89, SAS 45, SAS 12, SAS 74, SAS 29, SAS 60, SAS 115, SAS 54, SAS 7, SAS 52, ISA 237, ISA 312, ISA 318 e ISA 291) rientrano nel range di produttività tra 3 e 2 kg di semi per pianta. In questo gruppo troviamo SAS 60 che, se pur in quest'annata è stata di discreta produttività, nel lungo periodo è fra le più produttive, con la completa assenza di semi gemellari e un buon peso seme di oltre 1,6 g, caratteristica che la rende idonea per tutti gli usi in cui è richiesto il seme singolo.

Tab. 2: Produzioni e parametri carpologici delle costituzioni SAS e ISA - 2011

Sigla accessione	Prod. Seme/ pianta (kg)	Resa (%)	Peso seme (g)	Semi gemellari (%)	Sigla accessione	Prod. Seme/ pianta (kg)	Resa (%)	Peso seme (g)	Semi gemellari (%)
SAS 125	5,34	47,69	1,94	96	SAS 2	3,61	26,04	1,76	16
SAS 140	4,89	33,94	1,84	52	SAS 15	3,50	30,94	1,19	20
ISA 420	4,54	24,94	0,87	4	SAS 6	3,33	33,05	2,15	32
ISA 318	4,49	39,06	1,69	48	SAS 85	3,26	39,39	1,05	0
SAS 33	3,88	37,53	1,79	24	ISA 321	3,18	30,45	1,86	48
ISA 284	3,81	36,66	1,41	16	ISA 312	3,10	34,04	1,02	12
SAS 50	3,78	34,96	1,49	12	SAS 27	2,90	26,26	1,64	36
SAS 120	3,67	37,04	1,81	12	ISA 237	2,82	32,17	1,21	8
SAS 26	3,62	33,02	1,29	4	ISA 291	2,23	33,67	1,21	4

SAS 7 ha un buon peso dei semi (1,5 g) e insieme a SAS 54 e SAS 7 è priva di semi gemellari, mentre ISA 291 e ISA 312 hanno una bassa incidenza di semi doppi.

Fra le nuove costituzioni SAS 50 e SAS 115 sono le uniche 2 ad avere una fioritura molto precoce rispetto alle altre di questo gruppo, con un inizio tra il 21 e 22 febbraio e una durata di 15-16 giorni (Fig. 2).

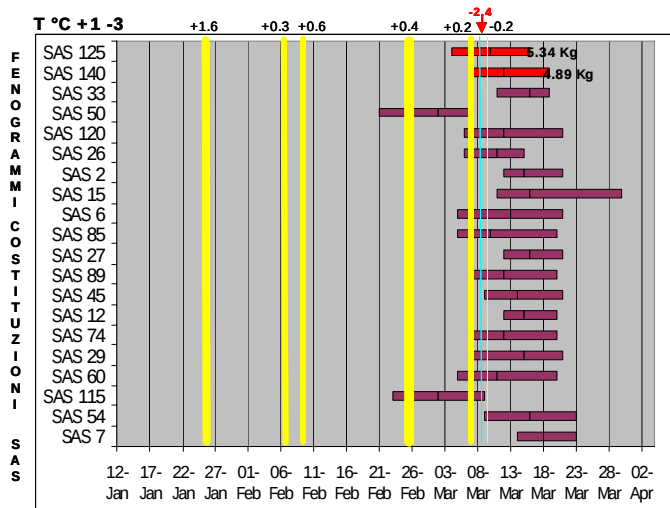


Fig. 2: Fenogrammi delle costituzioni SAS in relazione alle temperature critiche

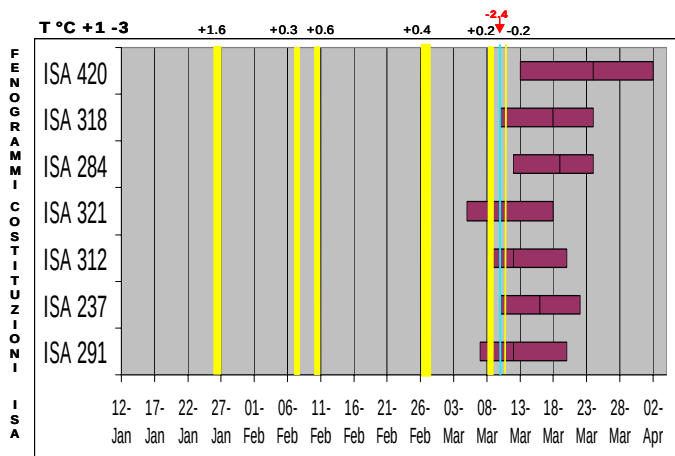


Fig. 3: Fenogrammi delle costituzioni ISA in relazione alle temperature critiche

Nonostante la loro precocità di antesi, entrambe hanno mostrato una buona resistenza a temperature di quasi 0°C in piena fioritura, pur con una diversa risposta produttiva: SAS 50 3,8 kg di seme per pianta e SAS 125 2,4 kg. Ad eccezione di SAS 2, SAS 12 e SAS 7, tutte le altre costituzioni sono state interessate, nella parte iniziale della fioritura, da temperature prossime a zero gradi centigradi nell'arco di 4 giorni, con una punta con la più alta criticità dell'annata di -2°C. E' da evidenziare la buona resistenza alle basse temperature anche di SAS 125 e di SAS 140 che, nonostante le temperature critiche si siano verificate rispettivamente nel pieno e all'inizio fioritura, sono state le più produttive con rispettivamente 5,3 e 4,5 kg di semi per pianta. La durata della fioritura varia dai 18 giorni di SAS 15 (con seme amaro) ai 9 giorni di SAS 7. Delle 6 costituzioni ISA, solo l'ISA 420, la più produttiva con 4,2 kg di semi per pianta e ISA 284 non sono state interessate dalle basse temperature. ISA 321, pur subendo il punto critico in piena antesi, è riuscita a dare una produzione di 3,10 kg di seme per pianta.

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, CONCETTA LICCIARDELLO, MARIA PATRIZIA RUSSO, PAOLA CARUSO, DONATA PIETRO PAOLO, FLORIANA CALDARERA

Nel 2011 l'attività effettuata da CRA-ACM ha riguardato:

- **aggiornamento dei descrittori di passaporto del genere Citrus** secondo le modifiche richieste dal *European Cooperative Programme for Plant Genetic Resources* (ECPGR). La Fig.1 rappresenta uno schema riassuntivo aggiornato delle accessioni presenti all'interno del germoplasma del CRA-ACM suddivise in generi, specie e cultivar.

- Nell'ambito della **ricostituzione del germoplasma proveniente da vecchie collezioni**, l'attività effettuata nel 2011 presso l'azienda sperimentale Palazzelli ha riguardato l'innesto in campo di 36 cultivar e selezioni di arancio biondo (Tab. 1).



Foto 1: Ibrido di kumquat ovale x cedro 'Mano di Budda'

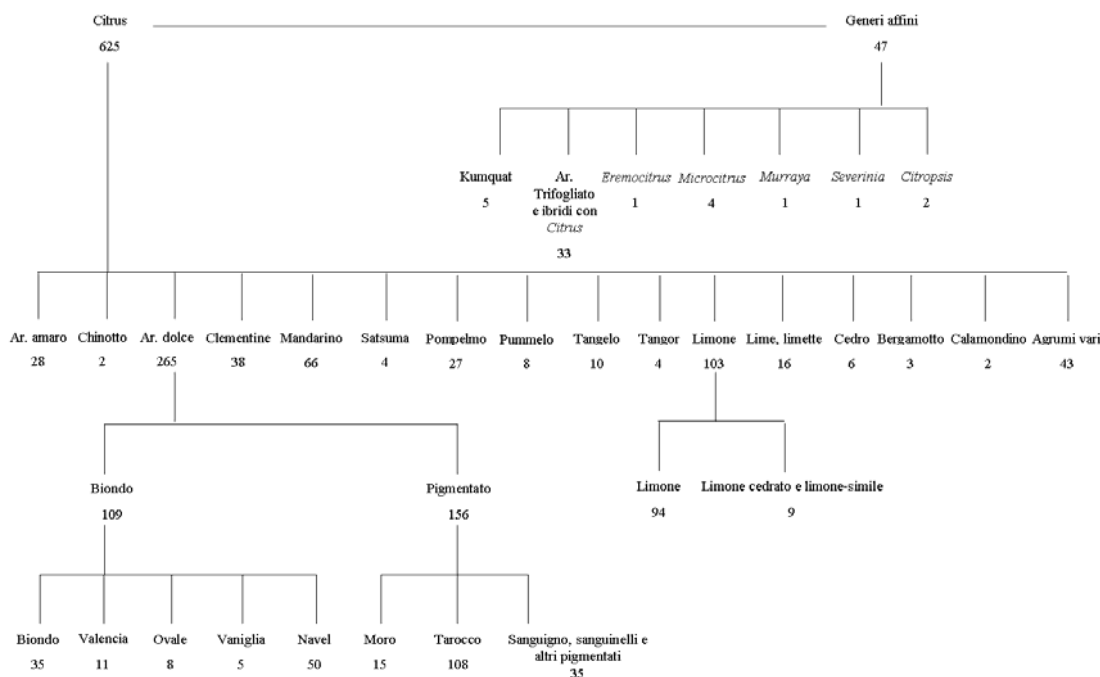


Fig. 1: Accessioni presenti presso le collezioni del CRA-ACM

• Il completamento dell'attività iniziata nel 2010 riguardante la **caratterizzazione con marcatori SNP di alcune accessioni di arancio (biondo e pigmentato) e di clementine**. La maggior parte delle cultivar all'interno delle diverse specie di *Citrus* ha un moderato livello di diversità dovuta alla selezione nucellare, la propagazione vegetativa e l'origine da mutazione spontanea. 540.000 EST di 20 specie di *Citrus* sono stati assemblati in circa 52.000 contig. La stragrande maggioranza di EST, contig e SNP è stata trovata in clementine e arancio dolce: 4.400 su 16.000 contigs (27%) di *C. clementina* e 4.100 su 17.000 contigs (24%) di *C. sinensis* contengono putativi SNP. La percentuale di affidabilità nel numero totale degli SNP è stata del 25% in clementine e 16% in arancio dolce. Un totale di 3.634 sequenze sono risultate associate agli enzimi appartenenti a 121 vie metaboliche, di cui 2.090 in arancio e 1.544 in clementine. Un totale di 163 SNPs provenienti da 52 geni di specifiche categorie funzionali sono stati convalidati. Dall'analisi di genotipizzazione sono stati individuati 78 siti polimorfici, di cui 36 eterozigoti. Le variazioni SNP sono state trovate tra le specie (33 in arancio dolce contro 17 in clementine), mentre una mancanza di variabilità intraspecifica conferma i risultati di precedenti lavori. Inoltre, il sequenziamento di 37 SNP ha confermato, nella maggior parte dei casi, il risultato della genotipizzazione. Questo lavoro ha consentito la realizzazione di una raccolta di 15.789 putativi marcatori SNP che possono essere utilizzati per l'analisi della diversità nucleotidica e la mappatura genetica nelle specie di *Citrus*. Il polimorfismo, identificato attraverso gli SNP validati e associato a specifici geni, costituisce una banca dati da utilizzare per studi genetici funzionali di analisi della diversità del germoplasma.



Foto 2: Ibrido di limone 'Meyer' x arancio 'Doppio Sanguigno'

Il ridotto costo dei nuovi sistemi di sequenziamento ("Illumina") sta rendendo possibile sequenziare interi genomi. Presso il CRA-ACM, in collaborazione con l'Istituto di Genetica Applicata di Udine, sono stati sequenziati tre mutanti di arancio dolce e tre di clementine. In questa fase si sta procedendo all'analisi bioinformatica, per evidenziare la base genetica responsabile delle differenze fenotipiche di ogni mutante.

• Valorizzazione del germoplasma riguardante l'aspetto ambientale

L'isolamento del gene "Ruby" e la dipendenza dal freddo per attivare la biosintesi dell'antocianina restringono la possibilità di coltivazione dell'arancio pigmentato. La specifica adattabilità all'ambiente pedoclimatico siciliano rappresenta pertanto un intrinseco punto di forza per questa coltura.

• Valorizzazione del germoplasma riguardante l'aspetto ornamentale

L'ampio patrimonio genetico di cui dispone questo Centro ha consentito in questi ultimi anni un lavoro finalizzato alla diffusione di genotipi con carattere di pregio ornamentale. Si ricordano il cedro 'Mano di Buddha', il 'limone Rosso ISA', l'ibrido 'AMOA 8', gli aranci amari saliciforme e a frutto corrugato, la lima rossa di Palestina e messicana (senza spine), il kumquat obovato (senza spine), l'ibrido 'Reale', il mandarinetto Sel. III e il *Microcitrus australasica* var. *sanguinea*. Anche di provenienza dall'attività di miglioramento genetico, la collezione di accessioni dotate di pregevoli caratteristiche ornamentali è stata recentemente inserita nel germoplasma esistente presso l'azienda sperimentale di Palazelli. In foto 1 si può vedere l'ibrido di kumquat 'Ovale' x cedro 'Mano di Buddha', che ha fioritura estiva, come quella del kumquat, frutti piuttosto piccoli, rotondi, di colore giallo intenso, molto profumati che persistono sugli alberi fino alla tarda estate. In foto 2 un ibrido ottenuto dall'incrocio tra il limone 'Meyer' e l'arancio 'Doppio sanguigno' con originali caratteristiche striate del frutto e in foto 3 la selezione di limone 'Rosso ISA' caratterizzata da intenso colore rosso della buccia che contribuisce notevolmente al suo valore ornamentale.



Foto 3: Limone 'Rosso ISA'

Tab. 1: Elenco delle cultivar e selezioni di arancio biondo innestate nel 2011

Ar. biondo Barile	Ar. biondo di Staccia	Ar. dolce Demmi
Ar. Belladonna	Ar. biondo di Tursi	Ar. dolce Zanzibar
Ar. biondo	Ar. biondo Golden di Montalbano	Ar. Duretta del Gargano n. 8 Nuc.
Ar. biondo apireno	Ar. biondo precoce Grimaldi	Ar. Hamlin
Ar. biondo apireno Corigliano sel. I	Ar. biondo precoce Xirumi	Ar. Ovale Nuc.
Ar. biondo apireno Corigliano sel. II	Ar. biondo Rossano	Ar. Pineapple
Ar. biondo Calabria	Ar. biondo Rossano Rizzuti	Ar. Precoce Grimaldi
Ar. biondo d'Atrassi	Ar. biondo salicifolia	Ar. Salustiana O.L.
Ar. biondo dell'Etna	Ar. biondo spina zona Allaro	Ar. Shamouti
	Caulonia	
Ar. biondo di Caccia	Ar. biondo Truppello	Ar. Vaniglia apireno Ribera
Ar. biondo di Ribera	Ar. Cadenera	Ar. Vaniglia biondo
Ar. biondo di San Giuseppe	Ar. CNR AT 1	Ar. Vaniglia Sanguigno

Reperimento, caratterizzazione, conservazione e valorizzazione del germoplasma olivicolo italiano

CRA-OLI CENTRO DI RICERCA PER L'OLIVICOLTURA E L'INDUSTRIA OLEARIA, RENDE E PESCARA

ENZO PERRI³, G. Sorrentino¹, M.P. Russo¹; A. Fodale², R. Mulè², I. Muzzalupo³, M. Alessandrino³, M. Pellegrino³, A. Patarino³, F. Greco³, C. Benincasa³,

¹CRA-ACM; ²CRA-SFM; ³CRA-OLI

Nel 2011, come previsto dal piano di attività, sono stati effettuati sopralluoghi e rilevamenti fotografici e cartografici di piante secolari di oleastro *Olea europaea* subsp. *europaea* var. *sylvestris* presenti sul territorio calabrese, con particolare riferimento alle province di Cosenza e Catanzaro. In diversi casi è stato possibile raccogliere la quantità di frutti sufficiente per l'estrazione dell'olio. I risultati sono in corso di elaborazione.

Sulle varietà di olivo *Olea europaea* subsp. *europaea* var. *europaea* presenti nel campo collezione, già in produzione da più anni, è stato estratto, al minifrantoio, l'olio monovarietale corrispondente e, mediante spettroscopia FT-NIR, sono state condotte tutte le analisi merceologiche sugli oli e i risultati analitici sono in corso di valutazione. Anche le analisi sensoriali sugli oli monovarietali sono in corso di completamento.

Di seguito si riportano i risultati finora ottenuti:

• Selezione e messa in campo di accessioni di olivo.

La classificazione delle varietà d'olivo è molto difficile a causa della ricchezza del suo germoplasma, associata alla mancanza di riferimenti certi e di probabili errori sulle denominazioni delle cultivar (Muzzalupo et al., 2009a; 2012). Vari studi sull'identificazione delle cultivar sono stati fatti negli ultimi 15 anni per mezzo di differenti marcatori molecolari (Baldoni et al., 2009; Muzzalupo et al., 2007, 2008, 2009a). Nel già vasto panorama olivicolo italiano, alcune cultivar di pregio che caratterizzano la produzione olivicola siciliana, sono

state utilizzate per l'effettuazione di incroci controllati, con prevalente destinazione per oliva da mensa. Allo scopo di ottenere un prodotto di pregio e precoce, e per compensare la rilevante quota d'importazione di olive da mensa, il CRA-OLI di Rende, in collaborazione con il CRA-ACM di Acireale e il CRA-SFM di Bagheria, ha effettuato su oltre 500 fiori, dai quali sono state ottenute 336 piante, che derivavano da 'Tonda Dolce Partanna' e 'Nocellara del Belice', al fine di sfruttare, da un lato, la precocità della prima varietà, dall'altro le ottime caratteristiche produttive della seconda. Parallelamente, negli anni '90 sono stati eseguiti incroci tra la 'Nocellara Messinese' (Bottari e Spina, 1952), particolarmente apprezzata per alcune caratteristiche ma con una legnosità della polpa eccessiva, e la 'Buscionetto', caratterizzata da una polpa molto fine.

In questo lavoro si fa riferimento a cinque nuove accessioni ottenute dai precedenti incroci, alcune delle quali, sono già da anni sottoposte a valutazione, e, dopo una prima fase di caratterizzazione primaria (Fodale *et al.*, 2001) mediante valutazione dei parametri agronomici e morfologici delle prime produzioni ottenute, sono ora sottoposti a caratterizzazione molecolare, per una verifica delle relazioni parentali. I marcatori molecolari scelti sono i microsatelliti che in molti recenti studi sono stati utilizzati sia per la discriminazione varietale e l'assegnazione dell'origine geografica (Muzzalupo *et al.*, 2009b), che per i test di paternità (Rekik *et al.*, 2008) in quanto altamente polimorfici e altamente riproducibili.



Foto 1: esemplare di oleastro (*O. europaea* ssp. *europaea* var. *sylvestris*) reperito in comune di Cetraro (CS)

Materiali e metodi

Il materiale vegetale utilizzato per l'estrazione del DNA è stato raccolto da piante presenti presso i campi sperimentali del CRA-ACM di Acireale (CT). I seguenti incroci sono stati oggetti dello studio:

- 'Nocellara del Belice' x 'Tonda Dolce Partanna':

3 A – TDxNB 1: precoce raggiungimento di elevati contenuti in olio;

3 B – TDxNB 3: peso elevato del frutto ed elevata resistenza alla compressione;

3 D – TDxNB 5: ridotto vigore della pianta;

3 E – TDxNB 4: peso elevato del frutto, eccellente rapporto polpa/nocciolo e facile distacco della polpa dal nocciolo, elevato contenuto in zuccheri riduttori e buona precocità;

- 'Nocellara Messinese' x 'Buscionetto':

3 C – NMxBU 1: produzione costante, distribuzione al 95% dei calibri tra 18 e 22, ottimo rapporto polpa/nocciolo e facile distacco della polpa, elevata resistenza alla compressione, ridotta legnosità della polpa, contenuto in zuccheri riduttori medio e contenuto in olio su sostanza secca medio alto.

Il DNA è stato estratto dalle foglie (100 mg) secondo il protocollo di Spreht *et al.* (1982). Le piante di olivo sono state genotipizzate a livello di nove loci SSR nucleari: GAPU59, GAPU71A, GAPU71B, GAPU103A, DCA09, DCA18, UDO12, UDO28 e UDO39 selezionati tra quelli presenti in letteratura e che sono risultati essere particolarmente ricchi di informazioni (Muzzalupo *et al.*, 2009b; Baldoni *et al.*, 2009). La reazione di PCR e le condizioni di amplificazione utilizzate sono descritte in Muzzalupo *et al.* (2009b), utilizzando *primers* marcati (6-FAM) e l'elettroforesi è stata condotta su un "3130 Genetic Analyzer" (ABI); per l'elaborazione statistica dei dati ottenuti sono stati utilizzati i software e le metodiche descritte in Rekik *et al.*, 2008.

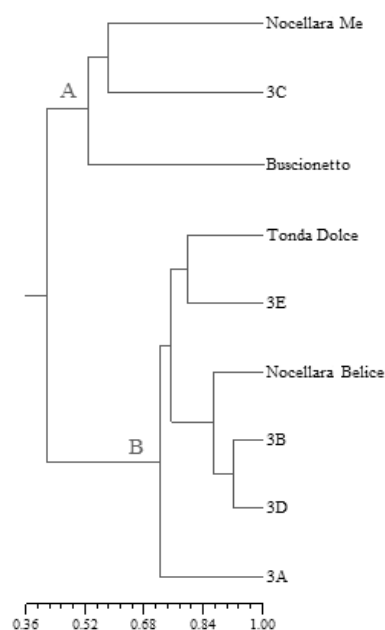


Fig. 1: Caratterizzazione SSR

Risultati e discussioni

I loci analizzati sono tutti polimorfi, con un numero di alleli che varia da 2 a 6 e un valore medio di 3,9. La variabilità genetica all'interno della popolazione totale, in considerazione del basso numero di varietà, è piuttosto elevata come indicato dagli indici di eterozigosità attesa e osservata. L'eterozigosità osservata varia fra 0,000 e 0,667 (valore medio di 0,310), mentre quella attesa varia tra 0,209 e 0,614. Da un confronto tra i loci analizzati si evince che il potere discriminato varia tra un minimo di 0,260 per UDO12 e un massimo di 0,875 per DCA09. L'analisi delle frequenze di ciascuno degli alleli individuati nei 9 loci ha evidenziato che i valori più elevati si osservano per l'allele di 212 bp del locus GAPU59 e per quello di 214 bp del locus GAPU71A (0,7778), mentre 5 alleli sono presenti una sola volta tra quelli individuati. Il metodo di analisi

dell'UPGMA (fig. 1) raggruppa tutti i campioni classificati in due gruppi principali, riconoscendo somiglianze genetiche ed eterogeneità all'interno e tra i campioni analizzati. All'interno dei due *cluster* troviamo nel primo (A) la 'Nocellara Messinese', la 'Buscionetto' e l'incrocio denominato '3C'; nel secondo (B) troviamo invece la 'Tonda Dolce', la 'Nocellara del Belice' e gli incroci denominati '3A', '3B', '3D' e '3E'. I valori di similarità tra le piante all'interno dello stesso raggruppamento sono piuttosto elevati e ciò conferma un alto grado di parentela tra le piante dello stesso *cluster*.

• **Caratterizzazione morfo-bio-molecolare delle varietà di olivo (*Olea europaea* L.) presenti nel campo collezione del CRA-OLI**

L'olivo (*Olea europaea* L.) annovera un germoplasma particolarmente ricco; l'intera variabilità genetica si è conservata pressoché intatta fino a oggi grazie alla particolare longevità delle piante, all'adattamento alle diverse condizioni micro-ambientali degli areali di coltivazione e alla mancata sostituzione delle varietà tradizionali con nuovi genotipi migliorati. Tale germoplasma è una fonte di variabilità di fondamentale importanza per la conservazione e il miglioramento genetico della specie (Muzzalupo et al., 2009, 2012, 2011; Sarri et al., 2006). Benché nel corso degli anni siano stati parecchi i lavori di descrizione delle varietà di olivo coltivate in Italia, essi non hanno certamente esaurito il panorama del germoplasma olivicolo nazionale. Inoltre, la stragrande parte di questi lavori di caratterizzazione effettuati in passato è stata eseguita utilizzando schede descrittive e/o marcatori molecolari molto diversi tra loro. L'elevato numero di cultivar e la



Foto 1: Veduta del campo di collezione del CRA-OLI a Mirto Crosia (CS)

loro eterogeneità rendono la loro caratterizzazione su base morfo-bioagronomica, indubbiamente utile, ma in molti casi non esaustiva e non sempre attendibile poiché basata su caratteri influenzabili dall'ambiente, dalle tecniche agronomiche e dalle fasi fenologiche della pianta. Con il proliferare dei campi collezioni e soprattutto di comparazione morfo-bio-agronomica è stato possibile risolvere questo problema. Infatti, il germoplasma olivicolo italiano è raccolto in diverse collezioni site in varie regioni italiane. La FAO nel 2010 assegna il primo posto alla collezione del CRA-OLI sita a Mirto Crosia (CS) per il numero di varietà di olivo presenti in campo, seguito in graduatoria da quella di Cordoba (Spagna). Il CRA-OLI dispone, infatti, di una collezione del germoplasma olivicolo in cui sono state introdotte in un unico ambiente e in condizioni agronomiche paragonabili, oltre 500 varietà di olivo provenienti da

tutte le zone olivicole nazionali e internazionali. Le attuali conoscenze scientifiche offrono la possibilità di introdurre nuovi sistemi di accertamento varietale basato non solo sui caratteri fenologici, normalmente adottati, ma anche sui caratteri genetici. Nel presente lavoro si riportano i risultati della caratterizzazione morfo-biomolecolare ottenuta di circa 150 cultivar con lo scopo di porre in essere una banca dati di confronto e definire un valido protocollo di campionamento e verifica.

Materiali e metodi

L'indagine ha riguardato 147 varietà del germoplasma olivicolo autoctono italiano. I rilievi in campo sono stati eseguiti per più di tre anni sulle piante (4-5 per ognuna delle varietà) messe a dimora nel campo collezione del CRA-OLI, ubicato a Mirto Crosia sul versante ionico della provincia di Cosenza.

• **Analisi morfologiche:** Per i parametri morfologici da esaminare si è fatto riferimento alla metodologia indicata dall'UPOV con alcune modifiche. I rilievi hanno riguardato: i rami fruttiferi (lunghezza internodi e portamento), la foglia (forma, curvatura longitudinale del lembo), l'infiorescenza (lunghezza, numero di fiori per mignola), il frutto (forma, posizione del diametro trasversale massimo, apice, base, mucrone, presenza lenticelle, dimensioni lenticelle, inizio invaiatura) e l'endocarpo (forma, posizione del diametro trasversale massimo, apice, base, superficie, numero dei solchi, terminazione dell'apice).

• **Analisi molecolare:** Da tessuti fogliari congelati in azoto liquido e conservati a -80°C è stato estratto il DNA secondo quanto riportato in Muzzalupo et al., 2006. e le piante sono state genotipizzate a livello di undici loci microsatelliti nucleari: GAPI59, GAPI71A, GAPI71B, GAPI103A, UDO01, UDO03, UDO12, UDO28, UDO39, DCA09 e DCA18 selezionati tra quelli presenti in letteratura e che sono risultati essere particolarmente informativi (Muzzalupo et al., 2009; Baldoni et al., 2009).

• **Analisi statistica:** I dati della caratterizzazione morfologica e molecolare sono stati utilizzati per creare una matrice qualitativa di presenza (1) o assenza (0) e usata per l'elaborazione statistica col programma NTSYS-PC (versione 2.1; Rohlf, 1999). Il programma utilizzando il coefficiente di Dice (1945) elabora una matrice di similarità che è utilizzata per la costruzione del dendrogramma con l'algoritmo UPGMA (Unweighted Pair-Group Method).

Risultati e discussione

I risultati della caratterizzazione (fig. 2) sono particolarmente interessanti in quanto mettono in evidenza diversi casi di identità tra cultivar coltivate in regioni italiane diverse e con nomi diversi, alcuni di questi casi sono già noti (Muzzalupo *et al.*, 2009; Sarri *et al.*, 2006), altri sono stati riscontrati per la prima volta, altri ancora necessitano di un'ulteriore verifica. I casi di identità genetica tra cultivar riguardano le coppie: 'Nera di Gonnos' - 'Tonda di Cagliari'; 'Mele' - 'Nolca'; 'Cima di Mola' - 'Ogliarola Salentina'; e il gruppo costituito da cinque cultivar che sono:

'Taggiasca', 'Frantoio', 'Casaliva', 'Correggiolo', 'Ogliarola barese' e 'Ogliarola Garganica'. Queste stesse cultivar, confrontate morfologicamente nelle stesse condizioni pedo-climatiche come il campo collezione del CRA-OLI, risultano essere indistinguibili le une dalle altre o molto simili. Infatti, nella figura 2 (B) viene riportato il dendrogramma costruito sulla base dei caratteri morfologici e anche in questo caso si osservano gli stessi accoppiamenti. Ciò vuol dire che le varietà sono sicuramente identiche tra loro, nel senso che certamente derivano dalla propagazione vegetativa di un capostipite unico, il che comunque, non può escludere, che possano aver subito mutazioni non rilevate con questo set di marcatori morfologici e molecolari. Particolarmente interessante è la coppia 'Nera di Villacidro' - 'Terza grande', che risultano indistinguibili da un punto di vista molecolare e molto vicine tra loro da un punto di vista morfologico, almeno per i caratteri analizzati. In conclusione, possiamo affermare che i marcatori molecolari utilizzati si sono rilevati particolarmente informativi e di grande utilità ai fini dell'identificazione varietale, ma che per fare chiarezza nel vasto germoplasma olivicolo sono necessarie nuove conferme dalla caratterizzazione morfo-bio-agronomica.

• Comparazione e valorizzazione dell'olio monovarietale ottenuto presso il CRA-OLI.

Le produzioni alimentari puntano sempre più verso prodotti qualitativamente superiori, grazie alla crescente richiesta di alimenti validi dal punto di vista salutistico e alle politiche messe in atto dall'Unione Europea (Reg. CEE 2081/92). Le benefiche proprietà degli oli extravergini di oliva, riconducibili

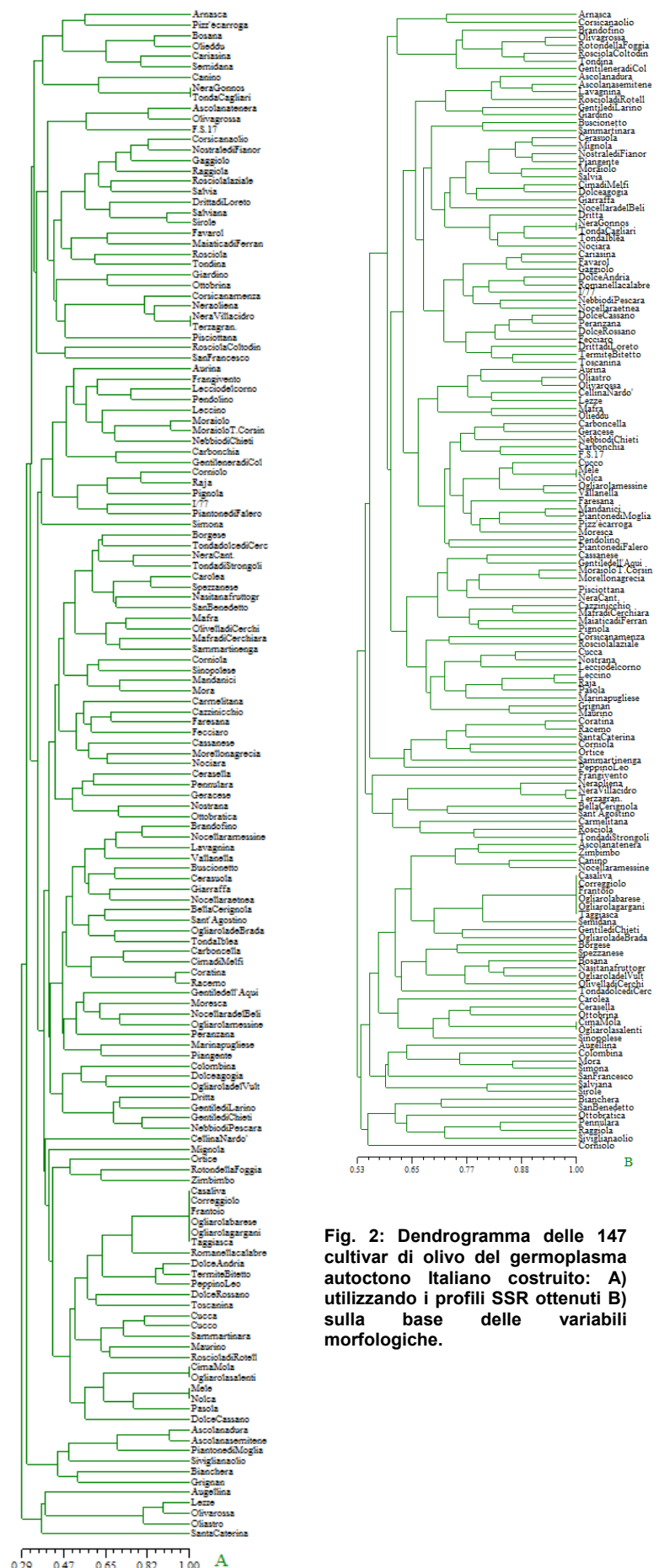


Fig. 2: Dendrogramma delle 147 cultivar di olivo del germoplasma autoctono italiano costruito: A) utilizzando i profili SSR ottenuti B) sulla base delle variabili morfologiche.

all'ottimale rapporto tra gli acidi grassi ω -9 (oleico), ω -6 e ω -3 (linoleico e linolenico) e al prezioso contributo di numerosi composti minori, derivano dal tipo di cultivar, dal suolo e clima in cui vive la pianta, dal sistema di irrigazione, dal grado di maturazione delle olive e dai metodi di estrazione dell'olio. L'olio extravergine è, infatti, ottenuto "soltanto mediante processi meccanici o fisici, in condizioni che non causano alterazioni dell'olio e non ha subito alcun trattamento diverso dal lavaggio, dalla decantazione, dalla centrifugazione e dalla filtrazione", senza l'intervento di processi chimici o biochimici. La qualità degli oli di oliva è definita attraverso alcuni parametri analitici, quali l'acidità libera, il numero di perossidi, gli indici spettrofotometrici e l'analisi sensoriale, che sono alla base della loro classificazione commerciale (Reg. UE N. 61/2011). La valutazione della composizione chimica degli oli (acidi grassi, alcoli, steroli, fenoli, aromi, etc.) mediante tecniche analitiche complesse, permette di classificare gli oli di oliva e individuare possibili frodi (adulterazioni, contraffazioni e sofisticazioni). Metodi analitici semplici e veloci sono essenziali per stabilire la qualità e verificare la rintracciabilità degli oli extra vergini di oliva e la loro tipicità (Papadia *et al.*, 2011). La spettroscopia NIR è un potente strumento che è stato ampiamente impiegato per il controllo della qualità di numerosi prodotti alimentari ivi inclusi quelli della filiera olivicola-olearia. Questa tecnica, non distruttiva, può ottenere risultati di analisi multiple e determinare le informazioni analitiche in pochi secondi (*out-line*) o in tempo reale (*on-line*). Lo scopo del seguente lavoro è di verificare l'applicabilità della tecnica analitica dell'FT-NIR al settore oleicolo-oleario, con uno strumento rapido e di facile utilizzo anche per il personale aziendale nella valutazione della qualità e delle caratteristiche degli oli.

Nell'anno 2011, presso il campo collezione del CRA-OLI, sono stati raccolti 5-15 kg di olive da 123 varietà di olivo italiane. Presso i minifrantoi del CRA-OLI sono stati estratti i rispettivi oli monovarietali su cui sono condotte le principali analisi qualitative. I campioni sono stati analizzati determinando i principali indici qualitativi secondo i metodi ufficiali di analisi riportati negli allegati del Reg. UE N. 61/2011: acidità libera, numero di perossidi, estinzioni specifiche K232, K270 e Δ K e composizione percentuale degli esteri metilici degli acidi grassi. Sui medesimi campioni è stato valutato anche il contenuto in composti fenolici e in tocoferoli. Le misure spettroscopiche di tutti gli oli sono state condotte utilizzando uno spettrometro FT-NIR (fornito dalla TermoFisher Scientific di Milano), dotato di un vano campione per misure in trasmissione su liquidi. Per l'analisi FT-NIR sono state utilizzate cuvette di vetro con passo ottico di 8 mm inserite nel vano campione.

Nelle condizioni non omogenee di raccolta dei 123 campioni, in base al Reg. UE N. 61/2011, solo 65 oli monovarietali (il 45%) su 123 campioni analizzati, sono classificabili come extravergine. Altri 50 campioni (il 35%), in base ai parametri dell'acidità libera, del numero dei perossidi e delle estinzioni specifiche sono classificabili come vergini. Tra questi il parametro maggiormente discriminante è l'acidità libera, 46 oli mostrano un'acidità compresa tra 0.9% e 1.5% di ac. oleico. Inoltre, i restanti 29 oli monovarietali (il 20%) che in base alla composizione percentuale degli acidi grassi risultano avere un limite maggiore da quello previsto dal Reg. UE N. 61/2011. Il contenuto di acido oleico varia in un *range* compreso tra 59.04% per la varietà 'Puntella' e 82.42% per l'Augellina', mentre il contenuto di acido linolenico è compreso tra 0.48% della 'Roggianella' a 1.26% della 'Colombina'. Infine, l'acido linoleico varia tra 3.13% della 'Rotondella di Sansa' a 19.18% della 'Gnagnaro'.

In conclusione possiamo affermare che i risultati della sperimentazione hanno dimostrato che si può applicare la tecnica FT-NIR al settore olivicolo, ottenendo prestazioni analitiche analoghe a quelle tradizionali e permettendo la costruzione di un *database* utilizzabile nella misurazione di tutti i parametri utilizzati. Da quest'analisi è emerso che l'ambiente molto caldo e arido come quello dell'agro di Mirto Crosia può influenzare la composizione percentuale degli acidi grassi e in diversi casi determinare un valore maggiore a quello massimo consentito dal Reg. UE N. 61/2011. I risultati, inoltre, hanno permesso di classificare gli oli vergini monovarietali, e di conseguenza le varietà di olivo, in base al loro potere nutrizionale (contenuto in acido oleico ω -9) e in base al loro potere nutraceutico (contenuto in ω -3 e ω -6).

Pubblicazioni

PAPADIA, P., DEL COCO, L., MUZZALUPO, I., RIZZI, M., PERRI, E., CESARI, G., SIMEONE, V., MONDELLI, F., SCHENA, F.P., FANIZZI, F.P. 2011. "Multivariate Analysis of ¹H-NMR Spectra of Genetically Characterized Extra Virgin Olive Oils and Growth Soil Correlations" *Journal of the American oil Chemists Society* 88(10):1463-1475.

MUZZALUPO, I., STEFANIZZI, F., PERRI E., CHIAPPETTA, A. 2011. "Transcript Levels of CHL P gene, antioxidants and chlorophylls contents in olive (*Olea europaea* L.) pericarps: a comparative study on eleven olive cultivars harvested in two ripening stages" *Plant Foods for Human Nutrition* 66:1-10.

Bibliografia

BALDONI L., CULTRERA N.G., MARIOTTI R., RICCIOLINI C., ARCIONI S., VENDRAMIN G.G., BUONAMICI A., PORCEDDU A., SARRI V., OJEDA M.A., TRUJILLO I., RALLO L., BELAJ A., PERRI E., SALIMONTI A., MUZZALUPO I., CASAGRANDE A., LAIN O., MESSINA R., TESTOLIN R., 2009. A consensus list of microsatellite markers for olive genotyping.

Mol. Breed. 24: 213-231.

BOTTARI V., SPINA P., 1952. Le varietà di olivo coltivate in Sicilia. Istituto Poligrafico dello Stato.

DICE L.R., 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. Ecology, 26: 297-302.

FAO, 2010. The second report on the state of the world's plant genetic resources for food and agriculture. Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture. Rome, Pp 272.

FODALE A.S., MULE' R., TUCCI A., TAGLIAVIA M., FODALE R. 2011. Caratterizzazione primaria di 4 nuove accessioni di olivo ottenute per incrocio tra 'Nocellara del Belice' e 'Tonda dolce Partanna'. Acta Italus Hortus, 1: 150-154

MUZZALUPO I., CHIAPPETTA A., BENINCASA C., PERRI E., 2010. Intra-cultivar variability of three major olive cultivars grown in different areas of central-southern Italy and studied using microsatellite markers. Sci. Hortic-Amsterdam, 126: 324-329.

MUZZALUPO I., FODALE A., LOMBARDO N., MULÈ R., CARAVITA M.A., SALIMONTI A., PELLEGRINO M., PERRI E. 2007. Genetic diversity and relationships in olive Sicilian germplasm collections as determined by RAPD markers. Ad. Hortic. Sci., 21: 35-40.

MUZZALUPO I., LOMBARDO N., MUSACCHIO A., NOCE M.E., PERRI E., A. SAJIAD. 2006. Sequencing microsatellite markers enhances their efficiency for germplasm management in a Italian olive collection. J. Am.Soc.Hortic.Sci., 131:352-359.

MUZZALUPO I., PERRI E. 2009a. Genetic diversity in olive tree cultivars from Italy and other countries of the Mediterranean basin as revealed by RAPD and SSR molecular marker. Ad. Hortic. Sci., 23: 263-275.

MUZZALUPO I., STEFANIZZI F., PERRI E. 2009b. Evaluation of olives cultivated in Southern Italy by Simple Sequence Repeat markers HortScience, 44: 582-588.

REKIK I., SALIMONTI A., GRATI KAMOUN N., MUZZALUPO I., PERRI E., REBAI A. 2008. Characterisation and identification of Tunisian olive tree varieties by microsatellite markers. HortScience, 43: 1371-1376.

ROHLF, M., 1998. NTSYS-pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 2. 02. Exeter Software, Setauket, NY, Pp. 6-39.

SARRI, V., BALDONI L., PORCEDDU A., CULTRERA N.G., CONTENTO A., FREDIANI M., BELAJ A., TRUJILLO I., CIONINI P.G., 2006. Microsatellite markers are powerful tools for discriminating among olive cultivars and assigning them to geographically defined populations. Genome, 49: 1606-1615.

SPECHT C.A., DI RUSSO C.C., NOVOTNY C.P., ULLRICH R.C. 1982. A method for extracting high molecular weight deoxyribonucleic acid from fungi. Anal. Biochem., 119:158-163.

Conservazione, caratterizzazione e valorizzazione del germoplasma viticolo

CRA-VIT CENTRO DI RICERCA PER LA VITICOLTURA, CONEGLIANO

MASSIMO GARDIMAN

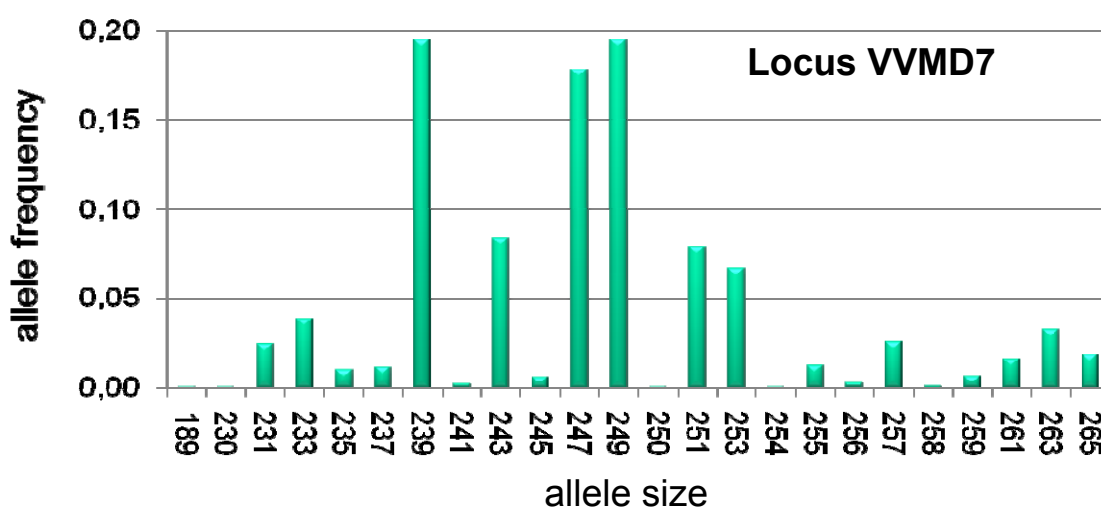
Nell'evoluzione della viticoltura, progressivamente, è avvenuto l'abbandono di molte varietà a diffusione locale e oggi, nonostante esistano migliaia di varietà di *V. vinifera*, il panorama viticolo è contraddistinto dall'impiego di un limitato numero di vitigni.

Questa tendenza negli ultimi anni è contrastata da un notevole interesse nella riscoperta e l'utilizzazione di produzioni enologiche di qualità dai vitigni "minori", ma l'impoverimento del patrimonio genetico viticolo resta un serio pericolo.

L'erosione genetica in atto in tutte le specie del genere *Vitis* è un problema rilevante in quanto determina la perdita di caratteri utilizzabili per nuovi programmi di selezione diretti a una viticoltura maggiormente sostenibile o adattabile ai cambiamenti ambientali. Il germoplasma viticolo è inoltre una fonte di ottime opportunità di valorizzazione economica e culturale di prodotti legati al territorio e in generale del territorio nel suo complesso. La salvaguardia delle risorse genetiche viticole viene tradizionalmente effettuata con la conservazione *ex-situ* del germoplasma in collezioni in pieno campo, in cui, oltre al mantenimento, è possibile condurre anche la caratterizzazione ampelografica, la valutazione agronomica, produttiva e sanitaria. Per una efficace conservazione della biodiversità, questo approccio, oggi, può essere affiancato e integrato da moderne tecnologie, alcune già applicabili quali la conservazione *in vitro* a breve-medio termine, e altre ancora a livello sperimentale quali la crioconservazione a lungo termine.

In questo quadro, le attività svolte nell'ambito del progetto RGV/FAO sono risultate di grande importanza per la conservazione, caratterizzazione e valorizzazione delle risorse genetiche della vite, una delle colture più importanti nell'economia nazionale. I due precedenti trienni del progetto hanno permesso di compiere notevoli passi avanti nella gestione delle collezioni ampelografiche del CRA-VIT, uno tra i principali centri di

conservazione del germoplasma viticolo a livello mondiale, che sono state, nel corso degli anni, in parte rinnovate, trasferite in nuovi appezzamenti e ampliate. La catalogazione delle accessioni è in avanzata fase di completamento ed è stata realizzata anche con l'applicazione di sistemi GIS e l'impiego di database per la registrazione dei dati di passaporto (*Multi-Crop Passport Descriptors*) e l'archiviazione dei dati rilevati annualmente. Il necessario lavoro di caratterizzazione delle accessioni conservate è stato condotto nel corso degli anni a livello morfologico (scheda OIV) e molecolare (analisi del DNA) su vari gruppi di accessioni; molto lavoro resta comunque ancora da fare soprattutto dal punto di vista fenotipico ed ampelografico, aspetti che richiedono un grande impiego di tempo e personale particolarmente specializzato. Su tutte le accessioni delle collezioni viene inoltre effettuato ogni anno il rilievo dei principali parametri fenologici (epoca di germogliamento, fioritura, invaiatura e maturazione) e la base di dati costituita nel tempo riveste un ruolo di fondamentale importanza per lo studio di modelli fenologici e di risposta della vite ai cambiamenti climatici.



Le attività condotte nell'ultimo periodo (2011) sono state sviluppate principalmente secondo le seguenti linee di ricerca:

- **Miglioramento e ulteriore razionalizzazione dell'organizzazione del germoplasma conservato, ampliamento delle collezioni esistenti *in vivo* e *in vitro*, valutazione di alcuni vitigni minori autoctoni**

Una razionale gestione del germoplasma conservato non può prescindere dalla caratterizzazione genetica di tutte le accessioni mantenute in collezione. Questa, associata alle informazioni di tipo morfologico, consente di evidenziare i casi di sinonimia, di omonimia e gli errori di denominazione permettendo quindi di eliminare le accessioni ridondanti, ridurre il numero di accessioni da mantenere e contenere i costi di gestione.

Su oltre 1200 accessioni, tra quelle non ancora caratterizzate presenti nella collezione, è stata eseguita l'analisi molecolare a 11 loci micro satelliti (i sei loci selezionati nell'ambito del progetto europeo Genres 081: VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZAg62 e VrZAG79, nonché VMC6E1, VMC6F1, VMC6G1, VMCNG4b9 e VVMD28) al fine di stabilire eventuali identità tra genotipi mediante confronto

con i profili già disponibili nei database della U.O. e in banche dati internazionali.

Questa analisi ha finora permesso di identificare oltre 1.000 accessioni con profilo SSR unico e, oltre ai casi di identità di profilo molecolare attesi in quanto riportati in letteratura, di evidenziare alcune sinonimie, duplicazioni ed errori di catalogazione. Circa 400 accessioni (in particolare germoplasma relativo a portinnesti, ibridi produttori e vari incroci molto poco diffusi), presentano un profilo



Foto 1-2: trasferimento di una collezione di vitigni dall'ERSA FVG nella collezione del CRA-VIT

SSR che non è stato possibile ricondurre a nessuno di quelli noti finora e a disposizione come riferimento. L'analisi genetica è però solo il primo passo, in quanto è necessario associarla a un esame ampelografico per escludere con sicurezza eventuali errori di denominazione e la presenza di biotipi o varianti non distinguibili con gli SSR impiegati.

Nel prossimo periodo del progetto si completerà l'analisi su tutte le accessioni della collezione (oltre 3.200) e si cercherà di confrontare i profili ottenuti con quelli di altre collezioni ampelografiche internazionali al fine di affinare la caratterizzazione del germoplasma conservato.

- Una delle attività delle collezioni è **l'acquisizione di germoplasma proveniente da altri areali di distribuzione della specie**, e pratica comune è ampliare le collezioni con l'inclusione di materiale proveniente da altre banche genetiche. A tale proposito una attività realizzata con successo è stata l'introduzione di circa 200 accessioni originarie di paesi dell'Est Europa (Ungheria, Romania, Armenia, Georgia, Albania, Grecia) provenienti dalla dismissione di una collezione ampelografica appartenente all'Ente regionale di sviluppo agricolo del Friuli Venezia Giulia (ERSA), il cui materiale di propagazione è stato preparato durante il 2011 e infine piantato nella collezione di Susegana (TV) a marzo 2012. Questo nucleo di accessioni è particolarmente interessante in quanto proveniente da uno degli areali di origine della *Vitis vinifera*.

- L'attività di **recupero e valutazione di vitigni minori autoctoni**, la cui coltivazione è stata abbandonata e risultano spesso relegati in zone marginali e le cui piante sono presenti in un numero molto limitato di esemplari, prende il via attraverso il monitoraggio del territorio e gli scambi di informazioni con "viticoltori custodi". A tal proposito, con la collaborazione dell'azienda Villa Ligi di Pergola (PU), in questo triennio di progetto, particolare impegno sarà indirizzato alla caratterizzazione e valorizzazione di alcuni vitigni delle Marche e in particolare della zona della Valle del Cesano (provincia di Pesaro-Urbino). Dall'indagine preliminare effettuata in loco su presunti vecchi vitigni locali, sono state evidenziate diverse sinonimie con varietà note e individuati finora cinque gruppi di vitigni con profilo molecolare autonomo e non riconducibile a materiale conosciuto. Su questi vitigni sono iniziati i necessari rilievi relativi ai parametri morfologici, produttivi e qualitativi al fine di giungere a una particolareggiata caratterizzazione e una eventuale valorizzazione della produzione enologica.

- In collaborazione con il Centro per la Sperimentazione in Vitivinicoltura della Provincia di Verona, nell'ambito della valutazione di alcuni vitigni locali la cui coltivazione è stata abbandonata, è iniziata anche **la caratterizzazione di un'interessante mutazione della varietà Rondinella**, presente sia nell'uvaggio Valpolicella che nel Bardolino, che si diversifica per un colore dell'acino molto chiaro rispetto al caratteristico colore nero-violaceo.

Valorizzazione di vitigni locali (Uve da Vino e Uve da Tavola)

CRA-UTV Unità di Ricerca per l'uva da tavola e la vitivinicoltura in ambiente mediterraneo, Turi (BA)

DONATO ANTONACCI

Oggetto dell'attività di recupero sono state le principali varietà locali e i vitigni autoctoni minori nel Mezzogiorno d'Italia. L'obiettivo principale è stato quello di salvaguardare la biodiversità, tenendo conto delle potenzialità qualitative dei vitigni selezionati, evitando quindi la perdita della variabilità genetica. Il lavoro di campo ha privilegiato la scelta di vigneti di età non inferiore a 20 anni, oltre che singoli ceppi "storici". La ricerca e l'individuazione di vecchie vigne è stata supportata da contatti con viticoltori che hanno conservato la memoria storica sulla provenienza delle viti in loro possesso e da indagini sulla bibliografia ampelografica. Dal punto di vista viticolo i principali parametri presi in considerazione sono stati: caratteristiche ampelografiche distintive; produttività e morfologia (fertilità, vigoria, grappoli a diversa compattezza, preferendo quelli più spargoli); qualità delle uve (contenuto zuccherino e acidità); fenologia (precocità); sanità virologica (sintomatologia visiva). Tutte le accessioni recuperate sono state innestate, principalmente, sul portinnesto 1103 Paulsen (*V. berlandieri* x *V. rupestris*), per la costituzione del "vigneto di conservazione" presso l'azienda sperimentale "Lamarossa" del CRA-UTV di Turi.

- **Caratterizzazione varietale e molecolare**

I rilievi ampelografici sono stati eseguiti secondo la metodica della "II^a Edizione del Codice dei caratteri descrittivi dell'O.I.V."-2001. La tabella 1 riporta i vitigni oggetto di studio.

Tab. 1: Vitigni studiati agronomicamente e loro status di iscrizione nel registro Nazionale di RNVV

Vitigni di uva da vino	RNVV	Vitigni di uva da vino	RNVV
Aglianico n.	I	Marchione rosa rs	N
Aglianicone n.	I	Marsala b.	N
Aleatico n.	I	Maruggio b.	N
Ansonica b.	I	Messinese b.	N
Antinello b.	I	Minutolo b.	I
Castiglione n. (=Arvino n.)	I	Montepulciano n.	I
Asprinio bianco b.	I	Montonico bianco b.	I
Asprinio nero n.	N	Montonico pinto b.	N
Bianco d'Alessano b.	I	Moscato bianco b.	I
Bombino bianco b.	I	Moscato giallo b.	I
Bombino nero n.	I	Nerello mascalese n.	I
Cannamelo n.	N	Olivetta nera n.	N
Cerasola n.	N	Ottavianello n.	I
Ciliegiolo n.	I	Pecorino b.	I
Coda di Volpe b.	I	Primitivo n.	I
Falanghina b.	I	Trebbiano abruzzese b.	I
Fiano b.	I	Trebbiano toscano b.	I
Francavidda b.	N	Uva di Troia n.	I
Gaglioppo n.	I	Verdeca b.	I
Gallico n.	N	Zibibbo b.	I
Greco b.	I	Vitigni di uva da tavola	RNVV
Greco bianco b.	I	Baresana b.	I
Grilla b.	N	Italia b.	I
Grillo b.	I	Melona n.	N
Guardavalle b.	I	Moscato d'Amburgo n.	I
Impigno b.	I	Michele Palieri n.	I
Malvasia bianca lunga b.	I	Pizzutello bianco b.	I
Malvasia di Lipari b.	I	Regina b.	I
Mantonico b.	N	Red Italia r.	I
Mantonicone b.	N	Zibibbo b.	I

I = iscritto, N = non iscritto

La caratterizzazione molecolare è stata eseguita con l'utilizzo di marcatori molecolari, microsatelliti o SSR (*Simple Sequence Repeats*). I marcatori molecolari utilizzati sono altamente polimorfici a livello varietale e sono di tipo codominante. L'analisi con i marcatori molecolari microsatelliti è uno strumento potente e affidabile nello stabilire l'identità delle cultivar di vite, confermando o negando sinonimie ipotizzate con l'esame dei caratteri e delle informazioni ampelografiche. Il protocollo ha previsto il prelievo delle giovani foglioline, l'estrazione del DNA ("QIAGEN DNAasy® Plant Mini Kit"), l'analisi di frammento, l'amplificazione del DNA di vite con i *primer* specifici per ciascun locus SSR, (PCR), uno dei due *primer* (Sigma-Proligo) della coppia è stato marcato con un marcatore fluorescente, corsa al sequenziatore CEQ 8000, per determinare la lunghezza degli alleli dei singoli loci SSR. L'indagine genomica è stata condotta su 13 loci microsatelliti disponibili in letteratura: VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZAG62, VrZAG79 (This *et al.*, 2004), ISV2, ISV3, ISV4, VMCNG4b9, VVMD28, VVMD25 e VVMD32 (Bowers *et al.*, 1999).

Nella collezione del CRA-UTV, attualmente sono conservate 718 accessioni da tavola e 2.305 da vino, delle quali ne sono state analizzate circa 2.500. Sono stati trovati 886 profili molecolari unici di cui 41 da tavola e 184 da vino iscritti al RNVV e 661 profili molecolari da accreditare, di varietà di uva da vino e da tavola, oltre a 67 profili molecolari di portinnesti da accreditare.

Sono state effettuate relazioni parentali mediante il *software Identity*. Da un primo *screening* del database a 13 SSR sono state individuate diverse putative relazioni di parentela da confermare con un numero maggiore di SSR. Una parentela confermata a 57 SSR ha individuato, nell'incrocio tra 'Ciliegiolo' x 'Negrodolce', la nascita del 'Sangiovese'. Un'altra parentela confermata a 52 SSR ha individuato nell'incrocio 'Sangiovese' x 'Mantonico di Bianco' la nascita del 'Gaglioppo di Cirò', 'Mantonicone' e 'Nerello Mascalese'.

• Valorizzazione

Fra le attività di valorizzazione, nel 2011, sono state effettuate 98 vinificazioni, di cui 42 di varietà a bacca rossa e 56 di varietà a bacca bianca, come riportato in tabella 2:

Tab. 2: Vinificazioni effettuate nel 2011

Vini rossi	n. vinificazioni	Vini bianchi	n. vinificazioni
Primitivo	8	Aglianico bianco	2
Aglianico	2	Antinello	3
Aglianicone	2	Bianco d'Alessano	1
Castiglione (Arvino)	2	Bombino	4
Ciliegiolo	1	Catarratto Lucido	1
Janese	1	Coda di Volpe	2
Montepulciano	1	Falanghina	2
Montonico	1	Fiano	10
Negro Amaro	1	Francavidda	1
Negrodolce	1	Garganega	2
Nerello Mascalese	1	Giosana	2
Calabrese (Nero d'Avola)	1	Greco	4
Notardomenico	2	Grillo	2
Olivella	1	Guarnaccia	1
Ottavianello	1	Guisana	1
Piedirosso	1	Impigno	1
Plavina	1	Malvasia b. Lunga	3
Primitivo	3	Malvasia	1
Primus	1	Mantonico	3
Sangiovese	1	Marsala	1
Syrah	2	Minutolo	2
Susumaniello	3	Moscato Bianco	2
Uva di Troia	3	Moscato Giallo	1
Uva per colore	1	Mostosa	2
		Verdeca	2
Totale	42	Totale	56

La valorizzazione agronomica di uve da tavola ha riguardato l'adeguamento di moderne tecniche viticole ad antiche varietà quali 'Baresana' (forme di allevamento), 'Italia' (irrigazione), 'Regina' (carico produttivo), e per l'attitudine alla frigoconservazione.

Per la trasformazione, alcune varietà di uva da tavola sono state utilizzate come prodotti di IV Gamma, previa caratterizzazione delle proprietà della materia prima e di pretrattamento dell'uva (Foto 1-2).

Ancora, come trasformazione, uve di varietà da tavola, quali 'Baresana' e 'Italia', sono state trasformate in confetture: passata d'uva e passata integrale (con buccia e vinaccioli). L'uva di 'Italia' è stata trasformata anche in succhi parzialmente fermentati: fermentazione con *Saccharomyces*, fermentazione con lieviti sperimentali a basso rendimento alcolico.

In tabella 3 è riportata una sintesi delle nuove utilizzazioni in corso di sperimentazione:

Tab. 3: esempi di nuovi utilizzi di diverse varietà di uva da tavola

Varietà	Lavorazione	Prodotto	°Brix
Italia	Triturazione integrale vinaccioli	Confettura	55
Baresana	Uva pigiata e passata	Confettura mousse	55
Michele Palieri	Triturazione integrale vinaccioli e successiva lavorazione con passatrice	Confettura mousse	55
Sultanina	Triturazione integrale degli acini per 2/3 e 1/3 con acini integri	Confettura acini	55
Baresana	Triturazione integrale vinaccioli e successiva lavorazione con passatrice	Confettura mousse	55



Foto 1-2: Confezionamento di uva da tavola IV gamma

Conservazione, valutazione e valorizzazione di risorse genetiche di specie foraggere, proteiche e da tappeto erboso

CRA-FLC Centro di Ricerca per le colture foraggere e lattiero casearie, Lodi

LUCIANO PECETTI¹, PAOLO ANNICCHIARICO¹, MASSIMO ROMANI¹, SANDRO PROIETTI¹, ANTONIO CARRONI²

¹CRA-FLC, Lodi; ²Unità di Ricerca per i Sistemi Agropastorali in Ambiente Mediterraneo (CRA-AAM), Sanluri (VS)

Di seguito sono sinteticamente descritte le attività condotte nel corso del 2011 dal CRA-FLC di Lodi. Come nei trienni precedenti, anche nel periodo considerato, una parte dell'attività è stata svolta in collaborazione con l'Unità di Ricerca per i Sistemi Agropastorali in Ambiente Mediterraneo (CRA-AAM) di Sanluri (VS).

• Caratterizzazione molecolare della collezione di germoplasma di *Poa supina*

La *Poa supina* è una graminacea autoctona degli ambienti alpini europei che è di potenziale interesse per la costituzione di varietà da tappeto erboso per gli ambienti più freschi, grazie alle sue peculiari caratteristiche di tolleranza a condizioni difficili di utilizzazione quali l'intensa usura e l'ombreggiamento (Foto 1).

Nel corso dell'anno si è conclusa l'attività di prima moltiplicazione di seme *ex situ* a Lodi, che ha interessato 55 popolazioni di *Poa supina* raccolte sull'arco alpino nella precedente fase del progetto (Figura 1). Contestualmente, è stata portata a termine la caratterizzazione molecolare delle accessioni in collaborazione con l'USDA-ARS di Pullman (USA). Le popolazioni sono state caratterizzate tramite marcatori molecolari AFLP, individuando, sulla base di 54 marcatori polimorfici, tre gruppi di accessioni geneticamente differenziati. Due gruppi comprendevano quasi esclusivamente accessioni raccolte in Valle d'Aosta, mentre il terzo gruppo comprendeva la maggior parte delle accessioni raccolte nei settori centro-orientali delle Alpi visitati durante la raccolta. Al contempo, un sottocampione



Fig. 1: Aree di collezione di germoplasma di *Poa supina* nell'arco alpino.



Foto 1: Rigogliosa crescita di *Poa supina* su terreno fortemente calpestato da bovini nei pressi di un alpeggio in Val Formazza (VB).

di popolazioni di varia provenienza ha dimostrato di essere del tutto diverso geneticamente dall'unica varietà commerciale di *Poa supina* esistente, denominata 'Supranova' e selezionata molti anni fa in Germania. Lo studio ha sottolineato la grande variabilità genetica del germoplasma italiano della specie, suggerendo la possibilità di individuare variabilità utile anche per la selezione di importanti caratteri adattativi ed agronomici ai fini dell'impiego da tappeto erboso.

• Valutazione di nuove costituzioni di trifoglio alessandrino.

Il trifoglio alessandrino (*Trifolium alexandrinum*) è una leguminosa foraggera annuale largamente coltivata nelle regioni centrali, meridionali e insulari. Nel corso del 2011 sono stati analizzati i risultati relativi a un biennio di prove condotte a Sanluri, che avevano lo scopo di: a) fornire maggiori informazioni sulla resa in foraggio e in seme in un ambiente mediterraneo di una serie di varietà commerciali di più o meno recente costituzione, e b) valutare due nuove costituzioni ottenute in collaborazione da CRA-FLC e CRA-AAM a partire da germoplasma italiano, ovvero la linea sperimentale denominata 'Sintetica-S' (ottenuta da germoplasma italiano) e la linea denominata 'Sintetica-E' (ottenuta da germoplasma italiano ed egiziano). In Tabella 1 sono riassunti i principali risultati ottenuti.

Tab: 1: Resa in foraggio (t/ha) e seme (kg/ha) in due anni di valutazione di un set di varietà commerciali e linee sperimentali di trifoglio alessandrino allevato nella Sardegna meridionale.

Varietà/Linea sperimentale	2007-08		2008-09	
	Foraggio	Seme	Foraggio	Seme
Axi	5.50	275.6	4.16 a	59.6 b
Bluegold	5.83	212.2	3.59	46.3 b
Maremma	4.90	213.4	3.89	70.9 b
Nilodi	4.48 b	184.7 b	2.91 b	130.8
Sacromonte	6.26 a	263.9	4.52 a	144.3 a
Saniros	4.85	168.6 b	2.38 b	124.1
Tigri	5.12	210.6	3.37	110.0 b
Sintetica-S ⁽¹⁾	5.91	364.9 a	4.17 a	201.5 a
Sintetica-E ⁽¹⁾	6.05	329.2	3.84	163.6 a
Media	5.48	252.9	3.79	119.0
Probabilità ⁽²⁾	0.01	0.01	0.01	0.01

¹ Linea sperimentale.

² Test F dall'analisi della varianza.

In ogni colonna, lettere diverse separano significativamente (per $P < 0.05$) i valori medi estremi secondo il test di Newman e Keuls.

una produzione di sostanza secca non lontana da quella di 'Sacromonte' (-7% in media). Dopo una fase di moltiplicazione del seme, per la 'Sintetica-S' si prevede l'avvio dell'iter per la richiesta di iscrizione al Registro Nazionale delle Varietà.

Sebbene con differenze sensibili tra varietà e annate, il trifoglio alessandrino ha confermato di essere una valida risorsa foraggera per gli ambienti mediterranei, con un buon potenziale di utilizzazione anche nella stagione autunno-invernale. La vecchia varietà 'Sacromonte' ha dimostrato di essere ancora molto produttiva in confronto alle più recenti varietà. Le due nuove costituzioni hanno mostrato un'eccellente produzione di seme (+39% per 'Sintetica-S', e + 21% per 'Sintetica-E', rispetto a 'Sacromonte') associata a

• Caratterizzazione molecolare di popolazioni naturali ed ecotipi di trifoglio bianco

È proseguito nel 2011 il lavoro di caratterizzazione molecolare di accessioni di trifoglio bianco (*Trifolium repens*) iniziato l'anno precedente. Il principale obiettivo dell'attività è di tipo evolutivo, intendendo chiarire se il Ladino si è effettivamente originato da popolazioni autoctone della Pianura Padana oppure è derivato da popolazioni introdotte in tempi remoti dall'Olanda, come proposto da alcuni studiosi. In aggiunta, il lavoro si prefigge di studiare la diversità genetica tra popolazioni e le differenze per struttura genetica tra popolazioni. L'analisi riguarda 20 piante per ciascuna di sette popolazioni (una popolazione naturale e un ecotipo aziendale di Ladino, un ecotipo olandese, e quattro popolazioni naturali italiane raccolte secondo un gradiente Nord-Sud rispetto alla Pianura padana, dalle Alpi Retiche all'Appennino centrale).

Al contempo, sono stati analizzati congiuntamente dei dati pregressi di valutazione della produzione di foraggio in condizioni di sfalcio, tolleranza al pascolamento con ovini e produzione di seme di popolazioni naturali di tipo non Ladino collettate da aree dell'arco alpino e degli Appennini settentrionali. Il lavoro ha indicato l'elevato valore agronomico globale di una popolazione collettata a bassa quota in una vallata alpina. Il confronto tra popolazioni collettate da habitat diversi (prato; pascolo; incolto; bosco) posti nella stessa area ha evidenziato l'influenza dell'habitat sulle caratteristiche agronomiche e adattative delle popolazioni.

• Valutazione in areali climatici contrastanti di potenziali varietà di favino e lupino bianco

Il contenuto di tannini nel seme delle varietà di favino (*Vicia faba*) limita l'uso della loro granella per l'alimentazione degli animali monogastrici. L'attività pregressa ha permesso di selezionare due potenziali varietà sintetiche con ridotto tenore di tannini (differenti per colore e dimensione dal seme), che sono state

moltiplicate a Lodi in vista di una futura valutazione insieme a varietà commerciali in due località climaticamente contrastanti (Lodi, clima subcontinentale padano; Sanluri, clima mediterraneo).

La granella del lupino bianco (*Lupinus albus*) ha un tenore proteico simile a quello della soia (38-40%) e ha quindi notevole potenzialità come coltura proteica alternativa in filiere GM-free. Inoltre, la granella di lupino ha interesse crescente per la produzione di alimenti funzionali di vario tipo per l'alimentazione umana. L'attività ha contemplato la prosecuzione del lavoro di selezione per assenza di alcaloidi entro alcune linee sperimentali, in vista di una loro valutazione produttiva in due località climaticamente contrastanti.

Sia per il favino che per il lupino, l'obiettivo finale è l'iscrizione al Registro Varietale di almeno una nuova varietà.

• Caratterizzazione morfofisiologica e valutazione della tolleranza al pascolamento di una collezione di genotipi di erba medica

I materiali derivano dall'ibridazione di ciascuno di due genotipi di erba medica (*Medicago sativa*) estratti da un ecotipo eretto originario della Sardegna (caratterizzato da scarsa dormienza autunnale ed elevata tolleranza alla siccità) con ciascuno di due genotipi estratti da una popolazione selezionata a partire da germoplasma esotico prostrato (tollerante al pascolamento e dormiente). Ognuno dei 4 incroci comprende circa 110 genotipi F₁ che,

dopo essere stati moltiplicati per talea, sono stati trapiantati in pieno campo in un esperimento finalizzato a: a) lo studio delle correlazioni genetiche tra tolleranza al pascolamento, dormienza autunnale, morfologia della pianta e componenti della resa in seme; b) la selezione di una varietà per i sistemi prato-pascolivi estensivi delle regioni a clima mediterraneo, e c) l'acquisizione di dati di fenotipizzazione, da coniugare a futuri dati di genotipizzazione per definire procedure di selezione assistita per tolleranza al pascolamento, scarsa dormienza e buona

produzione di seme. A questo scopo, si è proceduto anche all'estrazione del DNA dei materiali.

Il primo anno di valutazione ha inteso caratterizzare i genotipi F₁ delle quattro combinazioni di incrocio per diversi caratteri morfo-fisiologici. La Figura 2 riporta, a titolo di esempio, la variabilità riscontrata per il colore del fiore (espressa secondo le classi definite da Barnes: vedi www.naaic.org). Nei due anni successivi sarà valutata la tolleranza al pascolamento continuo, utilizzando ovini.

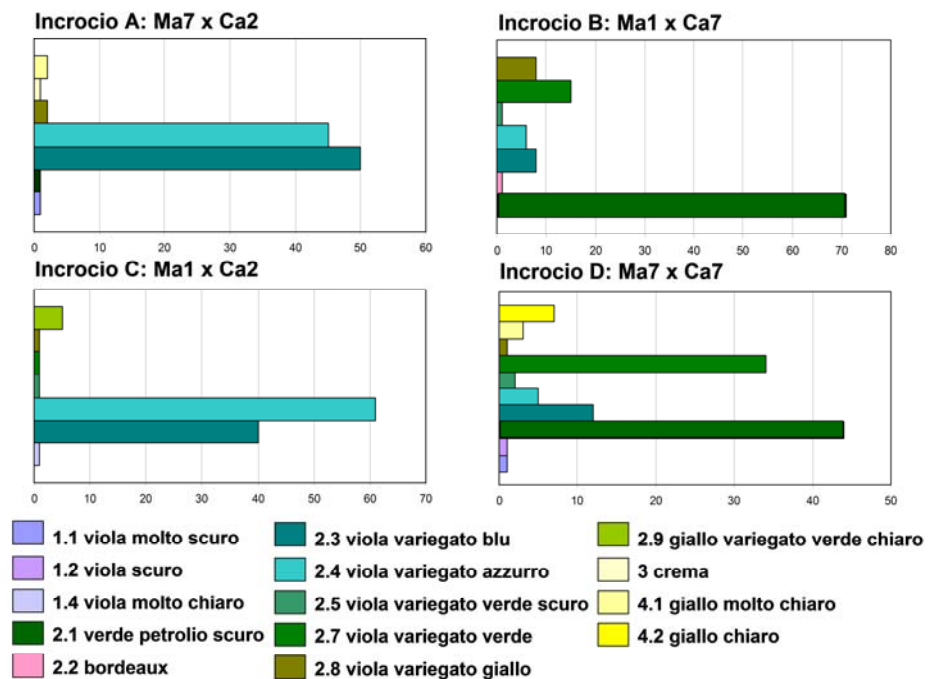


Fig. 2 Frequenza di diverse classi di colore del fiore nelle progenie di quattro combinazioni di incrocio corrispondenti ad altrettante mapping populations. Barre con identico colore negli istogrammi corrispondono alla stessa classe di colore del fiore.

Raccolta, caratterizzazione e valorizzazione di germoplasma

CRA-CIN Centro di Ricerca per le colture industriali, Bologna e Rovigo

GIANPAOLO GRASSI,

• Bietola

L'attività ha riguardato la messa a punto definitiva del database di *Beta*, con l'inclusione di tutte le accessioni in conservazione presso il CRA-CIN e il cui seme abbia mostrato un'accettabile percentuale di germinabilità ($\geq 75\%$).

In particolare si è iniziato a fare valutazioni sistematiche della germinabilità delle linee maschio sterili ed *O-type*, particolarmente importanti per l'attività di miglioramento genetico in bietola. I primi risultati mostrano una germinabilità superiore al 50% anche per le linee in conservazione da più tempo (dal 1999). Per tutte le accessioni, nel database di *Beta*, sono state indicate le principali caratteristiche note, sia biologiche (sottospecie, livello di ploidia) che agronomiche (semina autunnale/primaverile, resistenza a rizomania, cercospora, ecc.). E' stata iniziata anche la messa a punto di un sistema rapido di valutazione della presenza di tolleranza allo stress osmotico, sistema basato sulla coltura idroponica e l'allevamento in presenza di concentrazioni non letali di mannitolo. In particolare, potrà essere di interesse valutare la tolleranza allo stress osmotico da parte delle accessioni *B. maritima* x *B. vulgaris* presenti nella collezione di germoplasma. Le accessioni di *Beta vulgaris* ssp. *maritima* identificate *in situ*, nel corso degli anni 2009- 2011, sono state studiate nell'ambito di una collaborazione con l'Università di Padova, ma di queste accessioni non è conservato seme presso il CRA-CIN.



Foto 1: test di germinabilità di semi di bietola

Tale materiale selvatico, reperito *in situ* e analizzato per la risposta adattativa dello sviluppo dell'apparato radicale in risposta a uno stress abiotico ben specifico (la carenza da solfato), ha incluso 39 accessioni selvatiche di barbabietola campionate nel quadriennio 2005-2009 su siti costieri occidentali e orientali del mare Adriatico. Evidenze ottenute su questo materiale di *Beta vulgaris* ssp. *maritima* hanno riguardato ampie e significative variazioni per i caratteri morfologici "velocità di accrescimento della radice primaria" (339%), "lunghezza radicale totale" (488%), "superficie radicale totale" (500%), "lunghezza delle radici fini" (815%) e "densità degli apici radicali" (236%). Tutti i parametri radicali sono risultati fra loro significativamente ($P < 0.01$) e positivamente correlati.

• Canapa

Nell'autunno 2010 è stata completata la fase di rinnovo e selezione della varietà storica 'Eletta Campana' di cui è stata raccolta una popolazione di circa 360 piante, derivate dalla selezione applicata su circa 870 piante iniziali. La coltivazione è stata realizzata ad Anzola dell'Emilia (BO) in isolamento spaziale, per evitare inquinamento da polline estraneo di altre varietà di canapa.

Nel corso del ciclo culturale è stato monitorato il comportamento delle piante, eliminando quelle di scarso interesse agronomico (290) e prima della fioritura delle migliori piante rimaste in campo. Dopo selezione per aspetto morfologico (580), sono state tutte contrassegnate con appositi cartellini e analizzate singolarmente al gascromatografo per la determinazione del contenuto di THC. Seguendo la metodologia ufficiale della Comunità Europea prevista per la canapa, sono stati individuati i valori dei cannabinoidi espressi dalle piante già nelle fasi giovanili pre-fioritura che oscillano da 0,0 a 0,5% di THC.

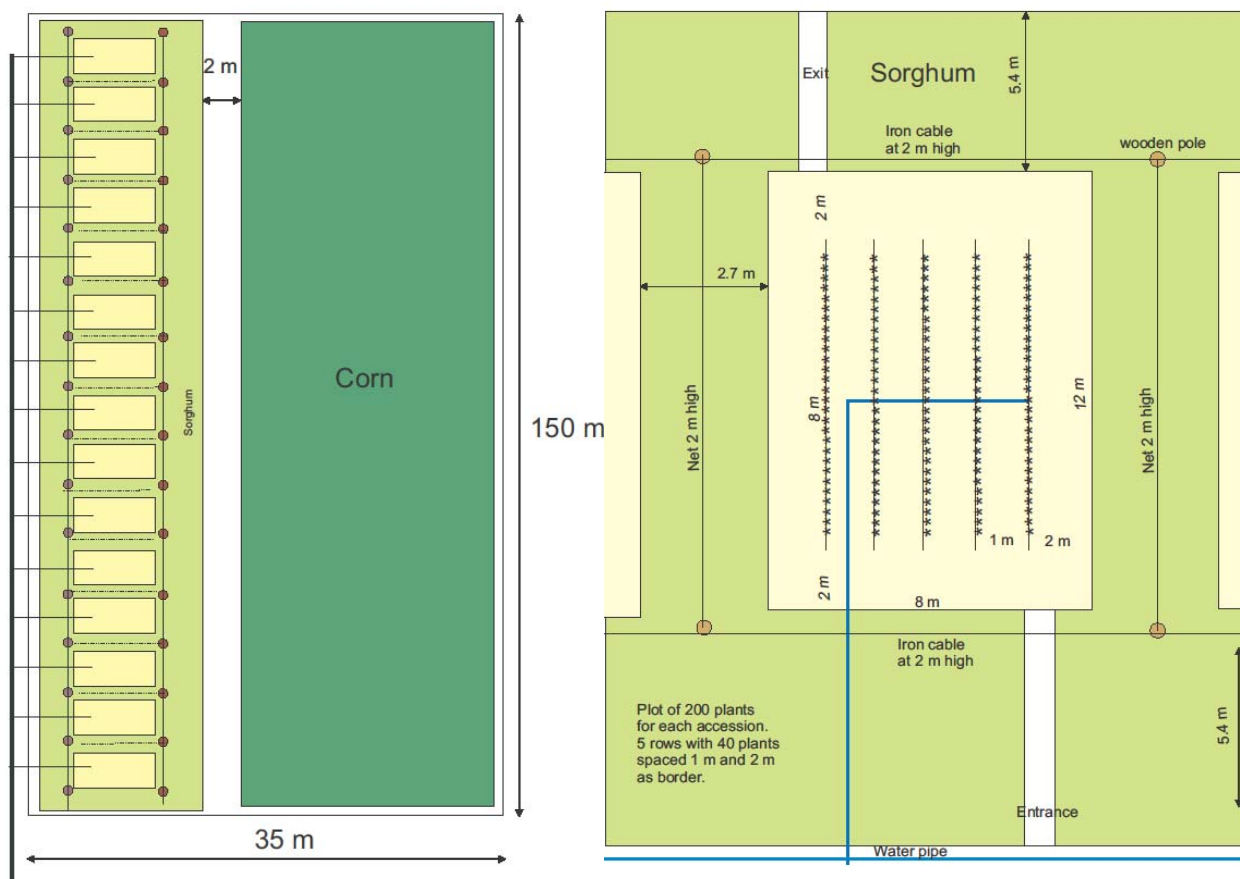
Sulla base di tali dati, sono state eliminate dal campo altre 213 piante, ovvero tutte quelle con un livello di THC superiore alla soglia considerata di sicurezza che non deve superare lo 0,05%. A fine settembre, a maturazione del seme, si è provveduto allo sfalcio, in questa fase, delle piante portaseme, alla sgranatura mediante sbattitura e alla selezione del seme derivato da 367 piante. Questo seme è stato conservato in una stanza climatizzata a bassa temperatura (+5°C).

Nella sede distaccata di Rovigo si opera prevalentemente sulla selezione di varietà di canapa monoica. Questo carattere non è presente nelle accessioni selvatiche e in quelle prevalentemente disponibili nei diversi Paesi e perciò la collezione detenuta a Rovigo comprende anche materiali dioici e risulta complicato gestire le varietà dioiche nello stesso ambiente. Per questa ragione da due anni si sta cercando di mettere a punto un metodo che consenta di effettuare la moltiplicazione delle diverse accessioni conservate nella collezione in ambienti ben isolati per quanto riguarda il polline di genotipi estranei al centro di moltiplicazione, ma che possono essere localizzati anche in ambienti non eccessivamente lontani, al fine ultimo di limitare i costi ed i rischi di questa operazione.

Il metodo studiato è basato principalmente sull'impiego di piante barriera come il sorgo da biomassa che, arrivando rapidamente a un'altezza superiore ai 3 m, sia in grado di impedire che le piante al suo interno collocate, possano essere raggiunte da polline estraneo (figura 1).

Nel 2011 è stato fatto un primo tentativo, ma in piena estate, quando le piante di canapa avevano già iniziato la fioritura, si è verificato un fortunale con una tromba d'aria importante che ha causato un significativo allettamento della coltura del sorgo che circondava i centri di canapa.

Fig. 1: Mappa del campo per la moltiplicazione della canapa protetta da una barriera di sorgo (sinistra) e pianta di una singola parcella (destra)



Nel 2012 è stato riprogettato il sistema di riproduzione e si prevede di moltiplicare 14 diverse accessioni di canapa all'interno di un appezzamento di circa 150 m di lunghezza coltivato a sorgo da biomassa.

Il programma di coltivazione *in vitro* della canapa sta continuando con discreti risultati. Le fasi di allevamento su substrato agarizzato di espianti, anche di minime dimensioni (circa 1 mm), sono state ottimizzate e utilizzando anche diversi genotipi di canapa si è arrivati a far sviluppare adeguatamente le piante *in vitro* ed arrivare alla finale radicazione con il successivo ambientamento su substrato naturale.

Dall'inizio del 2011 è stata affrontata la fase di rigenerazione indiretta da callo. Questa operazione è di determinante importanza perché per quello che si è constatato in altre piante, tale passaggio ha consentito di eradicare difficili virus che infettavano gli espianti.

Al momento, sono stati testati diversi mezzi di coltura additivati di ormoni come il Tidiazuron e l'acido albanafalenacetico che pare possano aumentare l'efficienza e la velocità con cui questa operazione può essere completata. Stiamo ancora attendendo di individuare le condizioni che lascino intravedere la possibilità di rigenerare la canapa, cosa che comunque, per altri genotipi e in altri laboratori oltre oceano, pare sia stato possibile.

La stabilità e la conservazione del seme risulta comunque una delle operazioni più importanti perché disponendo di un metodo efficiente e affidabile di conservazione a lungo termine della germinabilità si può ridurre la frequenza con cui il seme deve essere riprodotto e si limitano i rischi che questa fase comporta.

Un metodo molto semplice è stato ideato e da circa un anno si stanno conservando i semi di due diversi genotipi di canapa per accertare l'efficienza della conservazione: Lotti di 200 semi ciascuno sono stati inseriti in buste di alluminio plastificato all'interno del quale sono stati aggiunti 3-4 cristalli di gel di silice disidratato. Le buste sono state sigillate a caldo e poi conservate a tre diverse temperature: ambiente, +5°C e -20°C. Ad

intervalli di circa 6 mesi, le tre condizioni di conservazione vengono saggiate facendo germinare su carta bibula inumidita i semi conservati nelle buste. A distanza di un anno dall'avvio della prova di conservazione, i semi di entrambe le varietà conservano la germinabilità iniziale che era tra il 93 e 94%. Attualmente, già tutta la collezione è conservata a -20°C e buona parte dei genotipi ha mantenuto una buona germinabilità, nonostante all'interno delle buste non sia stato aggiunto il gel di silice. Il buon risultato di stabilità della germinabilità che è stato ottenuto anche con una conservazione a +5°C conferma che il fattore determinante per allungare la durata della germinabilità del seme sia il livello di umidità residuo del seme che verosimilmente si deve attestare attorno al 3-4% per raggiungere i migliori risultati di conservabilità.

• Girasole-ricino-sorgo

Il lavoro si è svolto nella sede distaccata di Osimo (AN) ed è stato finalizzato alla ricerca e definizione dei descrittori per le tre specie di interesse: girasole, ricino e sorgo. Sulla base dei parametri richiesti per le descrizioni nelle prove di iscrizione al Registro Varietale si è stilato un elenco dei principali caratteri per l'identificazione di ogni cultivar. Sulla base di tale materiale, si è intrapreso un lavoro di caratterizzazione morfo-fenologica dei genotipi disponibili. A tale scopo alcune delle linee relative alle tre specie sono state seminate per la descrizione in campo e il contemporaneo ringiovanimento del materiale posseduto.

Si sono inoltre intrapresi i lavori di sistemazione di un'apposita stanza opportunamente climatizzata per la migliore conservazione del materiale prodotto ogni anno.

Girasole

Nella primavera 2011 si è approntato il campo di riproduzione delle linee da caratterizzare, in totale 48, di cui la metà maschiosterili e la restante *maintainer*. Sono state seminate due file di 20 poste ogni linea distanziate fra loro di 70 cm per favorire i rilievi morfologici. La semina è stata ripetuta una settimana dopo la prima, per non incorrere in problemi di sfasamento di fioritura tra omologhi. Prima dell'antesi, alcune piante, per ognuna delle linee presenti, sono state isolate con sacchetti di cotone per evitare inquinamenti e per poter procedere alla autofecondazione delle autofertili e all'incrocio, con polline prelevato dagli omologhi *maintainer*, delle linee maschiosterili, per ottenere il quantitativo di seme utile alla conservazione e alla prosecuzione dell'attività. Sulle piante scoperte si è provveduto al rilievo dei caratteri desiderati.

Alla maturazione, le calatidi isolate sono state raccolte e sgranate manualmente, e i semi catalogati e riposti, previo trattamento con metalaxyl (Apron 3 ml/kg) nella apposita semiteca.



Foto 2: Campo di riproduzione per linee inbred di girasole con isolatori di cotone per evitare inquinamento da polline estraneo.

Ricino

Dalla prima decade di aprile si è proceduto alla semina di 50 linee monoiche e ginoiche, in file di 25 poste distanti 70 cm, per la relativa caratterizzazione e riproduzione. Purtroppo a causa della vetustà del materiale, da tempo abbandonato a causa della penuria di finanziamenti specifici, sono nate in modesto numero. Su queste è stato effettuato il lavoro di castratura e isolamento dell'infiorescenza tramite sacchetto di carta kraft per la produzione di seme puro. Contestualmente sono stati eseguiti alcuni rilievi morfo-fenologici relativi alla descrizione della pianta. Dopo la raccolta, effettuata scalaramente, si è provveduto alla sgusciatura dei racemi, alla pesatura dei semi ottenuti e alla loro conservazione.



Foto 3, 4 e 5: piante di ricino nella fase appena precedente l'antesi (sinistra), infiorescenze isolate con sacchetti di carta (centro) e racemo apicale di pianta ornamentale di ricino con capsule spinose rosa

Sorgo

Il materiale attualmente in possesso dell'unità operativa è stato seminato per cercare di recuperare energia germinativa da semi mal conservati o molto vecchi.

I 16 genotipi a disposizione sono stati seminati nella prima decade di aprile in file lunghe 5 m e distanti 70 cm.

• Lino (*Linum usitatissimum* L.)

E' proseguita l'attività sperimentale di campo riguardante la moltiplicazione e caratterizzazione delle varietà di lino da olio e da fibra conservate dal gruppo di agronomia presso il CRA-CIN di Bologna. Delle 54 cultivar in prova sono stati raccolti i caratteri morfologici e fisiologici ed è stata effettuata la caratterizzazione dell'olio nei semi. I dati raccolti sono stati inseriti nel database del lino (http://www.isci.it/isciTC/Lino_web/index_lino.html).



Foto 6: Conservazione dei semi delle 54 accessioni di lino in collezione presso il CRA-CIN di Bologna. Ogni varietà in collezione è identificata da un codice a barre che riporta il numero ed il nome della cultivar.

Il seme ottenuto, previa pulizia con appositi vagli, viene mantenuto in scatole della capacità di circa 800-900 grammi in uno stanzino a temperatura ambiente. Delle varietà più commerciali considerate *test* nelle prove di campo, vengono mantenuti dei quantitativi più cospicui, all'interno di sacchi di juta. Si sta valutando la possibilità di mantenere poche decine di grammi di ogni varietà in freezer in sacchetti sottovuoto (per un mantenimento a più lunga scadenza). A tale proposito stiamo facendo prove su un paio di varietà poste in freezer e tirate fuori di tanto in tanto per valutare la germinabilità del seme.

Ogni varietà in collezione è identificata da un codice a barre che riporta il numero e il nome della cultivar.

Un elenco delle cultivar in collezione con relative foto è disponibile nel sito del CRA-CIN, all'interno della pagina del gruppo di Agronomia Il database è stato

aggiornato con le foto dei singoli fiori e delle parcelle in fioritura e con il codice a barre che sarà utilizzato per una più veloce identificazione delle cultivar. Stiamo valutando la possibilità di utilizzare il codice per il carico-scarico delle varietà dal magazzino di stoccaggio. Al database è stata aggiunta una schermata con link relativi ad articoli (file pdf) pubblicati sull'attività sperimentale del lino presso il CRA-CIN dall'inizio dell'attività di collezione (1989) ad oggi.

• Patata

Recupero, risanamento, moltiplicazione e conservazione della patata 'Riccione (o Riccia) di Napoli'

Numerosi sono gli ecotipi di patata diffusi in Italia, soprattutto negli ambienti collinari e montani. Alcuni di essi sono ancora oggi coltivati ('Quarantina', 'Rossa di Colfiorito', 'Viola Calabrese'), mentre molti altri ecotipi esistono solo nella memoria storica di anziani agricoltori. La patata 'Riccione di Napoli' è stata la patata locale più coltivata in Campania fino a pochi decenni fa, poi l'avvento di moderne varietà olandesi (a raccolta precoce) ne decretò l'abbandono.

In base alle conoscenze acquisite da anziani pataticoltori locali e dall'impegno profuso dal sig. Antonio D'Aniello, socio della OP Campania Patate, sono stati recuperati, nell'area dei Monti Lattari, alcuni tuberi di patata di 'Riccione', conservati e annualmente riprodotti in zona.

Una prima fase dell'attività di recupero ha previsto la moltiplicazione del materiale reperito allo scopo di effettuare le prime osservazioni sui tuberi, aumentarne i quantitativi e, principalmente, assicurarne il mantenimento visto l'alto rischio di estinzione. Allo scopo di ridurre la già critica situazione fitosanitaria del materiale reperito, la



Foto 7: campioni della vecchia varietà 'Riccione di Napoli'

moltiplicazione è avvenuta in tunnel dotati di reti protettive nei confronti di afidi vettori di virus.

Le prime osservazioni hanno evidenziato tuberi di forma tondeggiante, con pasta di colore bianco crema, "occhi" particolarmente profondi e buccia gialla (foto 7). I tuberi di 'Ricciona' presentano, inoltre, un lungo periodo di dormienza rendendoli particolarmente adatti alla conservazione post-raccolta senza antigermoglienti chimici, utilizzando quindi solo la tecnica del frigostoccaggio.

Già al primo ciclo di moltiplicazione, lo stato fitosanitario delle piante è apparso fortemente compromesso, per quanto riguarda le infezioni virali. Saggi sierologici (test ELISA) sui materiali in moltiplicazione hanno accertato infezione multipla da fitovirus (PVY, PVX e PLRV) delle piante. Per questo motivo, un campione di tuberi è stato inviato al *Science and Advice for Scottish Agriculture* (SASA) in Scozia, dove si è provveduto al loro completo risanamento e quindi successivo superamento delle procedure di quarantena della Comunità Europea. A risanamento avvenuto, la 'Ricciona' è stata inserita nella collezione di germoplasma presente al SASA dove sono tenute in conservazione oltre 3.000 cultivar vetuste e moderne al fine della loro salvaguardia. E' stata anche inserita nella collezione *in vitro* del CRA-CIN.



Foto 8: Visita alla Cooperativa Produttori Sementi di Brunico (BZ)

Le attività di prima moltiplicazione in Alto Adige hanno consentito, entro il 2011, di avere elementi tecnici di valutazione (decadimento di virus) tali da supportare poi una scelta definitiva dell'areale più idoneo a un'attività di moltiplicazione in Italia. Recentemente una delegazione mista composta da OP Campania Patate, Regione Campania e CRA-CIN di Bologna ha visitato la Cooperativa Produttori Sementi di Brunico al fine di visionare la produzione di tuberi-seme di Ricciona ottenuti durante la campagna 2011 (foto 8).

La Regione Campania ha inoltrato, su richiesta della OP Campania Patate, al Ministero delle Politiche Agricole, Alimentari e Forestali, domanda per l'iscrizione della 'Ricciona' nel Registro Nazionale delle Varietà da conservazione.

Caratterizzazione, documentazione e valorizzazione di una collezione di germoplasma di *Limonium* sp

CRA-VIV Unità di ricerca per il vivaismo e la gestione del verde ambientale ed ornamentale, Pescia (PT)

A. TEANI, M. ANTONETTI, J. MORI, G. BURCHI

Le attività previste nell'ambito del progetto RGV riguardano la caratterizzazione agronomica e molecolare di una collezione di *Limonium* conservata presso il CRA-VIV di Pescia. La collezione comprende 19 specie di diversa provenienza geografica: *L. perezii*, *L. peregrinum*, *L. gmelini*, *L. gougetianum*, *L. minutum*, *L. sinuatum*, *L. serotinum*, *L. virgatum*, *L. multiforme*, *L. narbonense*, *L. bonduelli*, *L. tataricum*, *L. suworowii*, *L. binervosum*, *L. densissimum*, *L. aureum*, *L. sinensis*, *L. latifolium* e *L. otolepis*. Per ciascuna delle specie sono presenti varie accessioni (da una minimo di una a un massimo di 6) conservate in serra non riscaldata in parcelle a terra. Sono inoltre presenti specie prelevate direttamente dal loro ambiente naturale, sia italiane (Sicilia, Puglia, Isola d'Elba) che europee (Grecia, Spagna).

• Caratterizzazione morfologica

Su 15 delle specie in collezione sono stati effettuati rilievi morfometrici basati sui descrittori UPOV per le varietà di *Limonium*. I descrittori sono stati selezionati, modificati e adattati alle specie in collezione ai fini della discriminazione interspecifica (Fig.1). I dati raccolti, misurando le diverse accessioni di ogni specie in esame, sono stati elaborati statisticamente tramite matrice di similitudine e successiva *cluster analysis*.

Risultati

Dall'osservazione del dendrogramma (Fig.2) è possibile estrapolare alcune informazioni coerenti con la classificazione botanica di riferimento: *L. perezii*, risultato in un ramo isolato, è infatti l'unico rappresentante della sottosez. *Nobiles*. *L. sinuatum* e *L. bonduelli*, posti all'interno dello stesso sottogruppo, appartengono invece alla sottosez. *Odontolepidae* e sono interfecundi. La collocazione di *L. suworowii* e *L. tataricum* non è invece chiara in quanto le due specie appartengono a due sottogeneri diversi, rispettivamente *Siphonanta* e *Goniolimon*. Risulta corretto il raggruppamento di *L. binervosum* e *L. gougetianum*, entrambi della sottosez. *Densiflorae*, e di *L. virgatum* e *L. densissimum*, che presentano effettivamente una forte similitudine morfologica. Sono stati correttamente collocati anche *L. aureum* e *L. sinensis*, che infatti sono specie



Fig. 1: Schede comparative tra descrittori CPVO e diverse specie di *Limonium* sp.

interfeconde appartenenti alla sottosez. *Chrysantae*. Corretta anche la posizione del gruppo *L. serotinum*, *L. latifolium* e *L. gmelinii*, rappresentanti della sez. *Eulimonium*. Dal punto di vista della caratterizzazione biometrica, i risultati ottenuti si sono rivelati attinenti alle informazioni bibliografiche di riferimento, dimostrando un buon livello di conservazione delle specie in collezione rispetto al germoplasma originario. Inoltre, la scelta dei parametri utilizzati per l'indagine si è dimostrata buona, anche se potrebbe essere migliorata mediante l'inserimento di parametri come il tipo di stemma e la posizione dello stilo rispetto alle antere, utili per l'individuazione dei gruppi interfecondi.

• Caratterizzazione molecolare

Con lo scopo di supportare i dati raccolti tramite analisi morfometrica sono state condotte analisi di laboratorio tramite la tecnica di marcatura molecolare AFLP. Tale metodo garantisce un'alta affidabilità nei risultati e un buon livello di discriminazione interspecifica.

Da 3 accessioni per ogni specie in esame è stato estratto il DNA, successivamente sottoposto a restrizione-ligazione, pre-amplificazione e amplificazione selettiva. I profili elettroforetici generati dall'amplificazione selettiva, condotta mediante l'utilizzazione di 4 combinazioni di primer selettivi, sono stati visualizzati su gel di poliacrilamide.

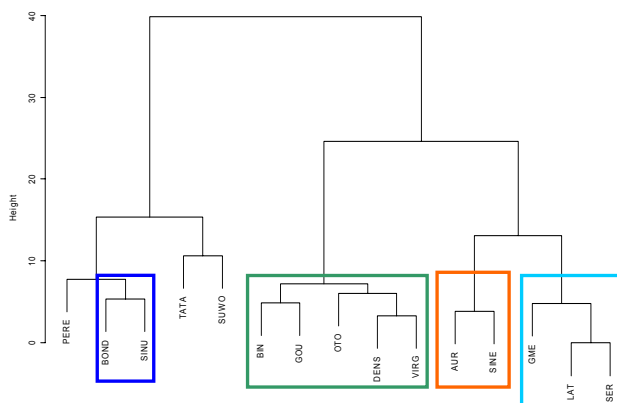


Fig. 2: Cluster analysis sui descrittori morfometrici

Risultati

Le analisi condotte hanno portato all'ottenimento di oltre 400 bande polimorfiche che, analizzate tramite programma di *scoring* assistito, hanno permesso di generare una matrice binaria sulla quale è stata effettuata una *cluster analysis* (Fig.3).

L'interpretazione dei dati si è rivelata coerente con le osservazioni fenotipiche, con i dati bibliografici e con la sopra descritta analisi biometrica per ben 13 delle 15 specie esaminate. Non è invece risultata chiara la collocazione di *L. otolepis*.

Tali risultati, comunque positivi ed alquanto promettenti, sono da considerarsi preliminari trattandosi della prima esperienza di applicazione dei marcatori molecolari AFLP alla collezione di *Limonium* del CRA-VIV Pesca, probabilmente unica per numero di specie e di accessioni. Inoltre, trattandosi di una caratterizzazione interspecifica, non sono da escludere errori in fase di *scoring* in quanto le bande polimorfiche individuate potrebbero non corrispondere alle stesse sequenze genomiche pure e potrebbero appartenere a sequenze di dimensioni analoghe.

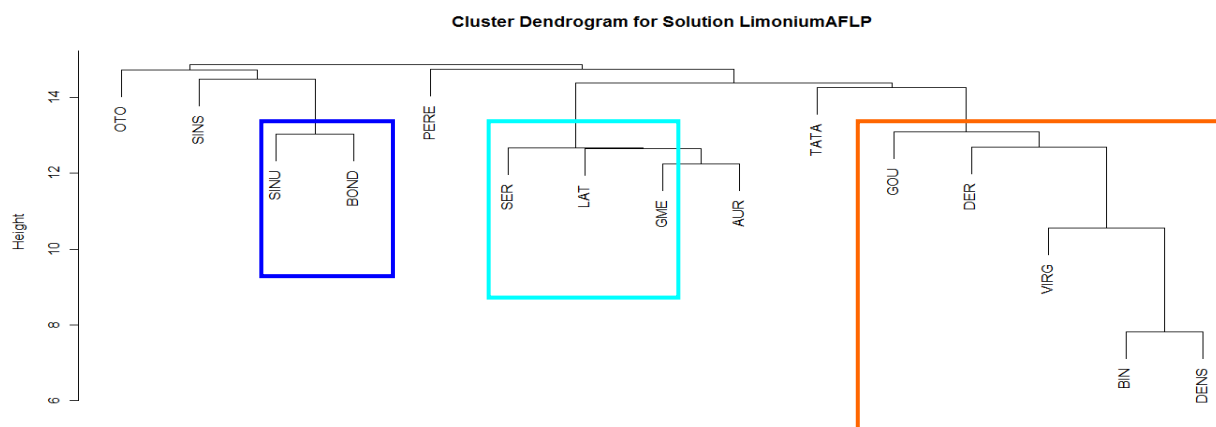


Fig. 3: Cluster analysis per i dati di AFLP

Observation Number in Data Set Dataset
Method=average; Distance=euclidian

• Caratterizzazione agronomica di specie alofite

Dato che il genere *Limonium* comprende molte specie alofite (originatesi in ambienti costieri salmastri del bacino mediterraneo), è stato messo a punto un sistema di coltivazione in idroponica con metodo DWC (*Deep Water Culture*), con lo scopo di valutare la capacità delle diverse specie in collezione di tollerare concentrazioni crescenti di cloruro di sodio (NaCl) in soluzione.

La coltivazione in idroponica è stata allestita in serra, durante la stagione estiva, e in camera di crescita, durante la stagione invernale, al fine di disporre di piante in fase di crescita vegetativa per tutto l'anno. Sulle piante saggiate sono stati condotti i primi rilievi biometrici per determinare il tasso di crescita e le caratteristiche delle piante in condizioni di stress rispetto ai controlli. Sono inoltre state condotte le prime osservazioni al microscopio con lo scopo di determinare la capacità di estrusione del sale da parte delle foglie tramite le ghiandole saline (Fig.4).

Risultati

Le specie analizzate hanno mostrato un ottimo livello di tolleranza a concentrazioni di sale in soluzione estremamente elevate, nonostante un arresto della crescita osservato in tutte le tesi trattate con NaCl, senza nessuna differenza significativa tra le diverse concentrazioni. Le prime osservazioni allo stereomicroscopio hanno mostrato una diversa capacità di estrusione specie-specifica e crescente all'aumentare della concentrazione di sale in soluzione.

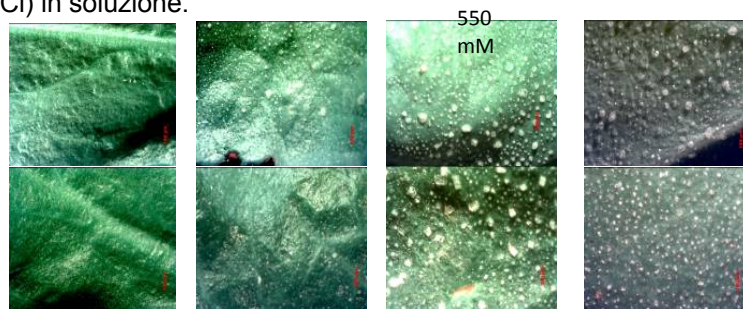


Fig. 4: Visione allo stereomicroscopio della pagina inferiore (in alto) e superiore (in basso) di foglie di *Limonium* sp. cresciute a concentrazioni crescenti di NaCl. Da destra: 0 mM, 450 mM, 550 mM, 650 mM

Propagazione, caratterizzazione agronomica e valorizzazione a fini ornamentali di Rose siciliane autoctone e ibridi di *Euphorbia x lomi*

CRA-SFM Unità di Ricerca per il Recupero e la Valorizzazione delle Specie Floricole Mediterranee, Bagheria (PA)

GIOVANVITO ZIZZO, GIANCARLO FASCELLA, SANTO AGNELLO, GAETANO GIARDINA

Attività previste

Introduzione di genotipi spontanei del genere *Rosa* finalizzati alla creazione di una collezione; definizione di opportuni protocolli di propagazione per i suddetti genotipi; ampliamento e mantenimento delle collezioni di varietà commerciali di *Euphorbia x lomi* presenti presso la nostra UO.

• **Introduzione, moltiplicazione e valorizzazione di germoplasma rosicolo autoctono a fini ornamentali e paesaggistici:** Sono state effettuate escursioni nel territorio regionale mirate alla localizzazione di germoplasma rosicolo autoctono, al loro riconoscimento e al reperimento del materiale vegetale necessario (talee e semi) per avviare le prove di propagazione.

I vari genotipi reperiti sono stati caratterizzati da un punto di vista bio-morfologico (habitus vegetativo, forma e dimensione di foglie, fiori e frutti, lunghezza degli internodi, spinosità dei rami, peluria e dentellatura della lamina fogliare, tomentosità del rachide fogliare, presenza di aculei nei cinorodi e nei peduncoli); i semi contenuti nei frutti sono stati contati e pesati.

Sono state condotte le prove di propagazione vegetativa delle accessioni reperite, ossia ponendo talee binodali in contenitori alveolari riempiti con diversi substrati di radicazione (perlite, torba bruna e loro miscuglio in rapporto 1:1, v/v), con e senza l'utilizzo di ormone radicante (acido naftalenacetico NAA, 400 ppm), all'interno di bancali riscaldati sotto *mist*. Sono stati successivamente rilevati i tassi di radicazione delle talee, il numero e la lunghezza delle radici.

Sono state, inoltre, realizzate le prove di moltiplicazione gamica mediante estrazione dei semi dai frutti (cinorodi) delle varie specie, loro conservazione a 5°C per 3 mesi, successiva scarificazione fisica con acqua calda per 30 e 60 secondi e, infine, stratificazione in contenitori alveolari riempiti con sabbia e perlite (1:1, v/v) collocati in bancali riscaldati sotto *mist*. Per ciascuna accessione, sono stati rilevati la germinabilità dei semi (%), il tempo medio di germinazione (T.M.G.) e il numero e la lunghezza delle radici dei germinelli.



Foto 1-3: Dettagli della fioritura di alcune rose spontanee reperite in Sicilia: *R. corymbifera* (sinistra), *R. sempervirens* (centro), *R. rubiginosa* (destra)

Risultati

Per quanto riguarda le Rose siciliane spontanee, sono state individuate, in base alle specifiche caratteristiche botaniche, almeno 7 specie autoctone: *Rosa canina* L., *R. corymbifera* Borkh., *R. heckeliana* Tratt., *R. micrantha* Sm., *R. rubiginosa* L., *R. sempervirens* L. e *R. sicula* Tratt. Ciascuna presentava ben distinte caratteristiche bio-morfologiche rilevate in rami, foglie, fiori, frutti e semi.

La radicazione delle talee è stata influenzata sia dal substrato che dalla presenza dell'ormone auxinico: i tassi sono risultati più elevati (40,3%) quando il materiale era posto su perlite/torba e trattato con NAA, e più ridotti (3,2%) se collocato su sola torba bruna e senza ormone (Tab. 1).

Il numero di radici/talea è andato progressivamente riducendosi all'aumentare del contenuto in torba del substrato (da 4,3 a 0,9 per le talee poste su sola perlite e su torba bruna, rispettivamente).

Il quantitativo di radici emesso da ciascuna talea è stato, inoltre, condizionato dalla presenza o meno dell'ormone radicante, con valori superiori (da 1,9 a 4,5 radici/talea) quando veniva utilizzato NAA.

La lunghezza delle radici è stata influenzata dal substrato di radicazione, ma non dalla presenza di auxina, con i valori più elevati registrati su perlite/torba (6,9 cm) e quelli più ridotti su sola torba bruna (1,2 cm).

Tab. 1: Effetti del substrato e della dose di NAA (ppm) sulla radicazione delle talee delle specie in esame

Substrato	Trattamento ormonale	Radicazione (%)	Radici (n.)	Lunghezza radici (cm)
Perlite	NAA 0	10.1 b	3.8 a	3.3 b
	NAA 400	14.5 b	4.7 a	2.1 b
Perlite/Torba	NAA 0	16.5 b	1.2 b	6.7 a
	NAA 400	40.3 a	2.0 b	7.0 a
Torba	NAA 0	3.2 c	0.8 b	1.1 b
	NAA 400	5.4 bc	1.0 b	1.3 b
Significatività	Substrato	*	*	*
	NAA	*	*	ns
	Interazione	ns	ns	ns

I valori medi contrassegnati da lettere diverse differiscono per $p \leq 0.05$ (DMRT)

ns= non significativi

*=statisticamente significativi

E' stata osservata una notevole variabilità, tra tutte le specie studiate, nella capacità rizogena in quanto le talee di *R. sempervirens* hanno fatto registrare la maggiore percentuale di radicazione (42,6%), quelle di *R. rubiginosa*, invece, i valori più bassi (0,8%) (Tab. 2). Il genotipo ha pure influito sulla lunghezza delle radici, con valori massimi ottenuti su *R. sempervirens* (6,7 cm) e minimi su *R. sicula* (2,0 cm).

Le prove di moltiplicazione da seme hanno evidenziato come la germinabilità sia stata sicuramente influenzata dal genotipo, facendo registrare un'elevata variabilità tra le specie considerate: infatti, si è passati da valori molto prossimi alla totale germinazione dei semi (98,6%) in *R. sempervirens*, a livelli assai modesti (5,7 e 3,8% in *R. micrantha* e *R. corymbifera*, rispettivamente) o pressoché nulli di capacità germinativa in *R. heckeliana*, *R. rubiginosa* e *R. sicula* (Tab. 3).



Foto 4 e 5: analisi della radicazione delle talee

Tab. 2: Influenza del genotipo sulla capacità rizogena delle talee

Specie	Radicazione (%)	Radici (n.)	Lunghezza radici (cm)
<i>R. canina</i>	24.1 b	4.5 a	2.7 b
<i>R. corymbifera</i>	4.6 c	3.8 a	2.4 b
<i>R. micrantha</i>	5.3 c	4.1 a	6.0 a
<i>R. rubiginosa</i>	0.8 c	2.2 b	5.1 a
<i>R. sempervirens</i>	42.6 a	2.9 ab	6.7 a
<i>R. sicula</i>	2.5 c	4.0 a	2.0 b

Nessuna differenza tra le specie per quanto riguarda il Tempo Medio di Germinazione, il numero e la lunghezza delle radici dei germinelli.

Tab. 3: Influenza del genotipo sulla capacità germinativa dei semi e sulle caratteristiche dei germinelli delle specie studiate

Specie	Germinabilità (%)	T.M.G. (gg.)	Radici (n.)	Lunghezza radici (cm)
<i>R. canina</i>	14.7 b	38.7 ab	3.3	7.3
<i>R. corymbifera</i>	3.8 c	30.0 b	3.0	6.6
<i>R. heckeliana</i>	0.2 c	-	-	-
<i>R. micrantha</i>	5.7 c	35.6 ab	3.5	7.5
<i>R. rubiginosa</i>	n.v.			
<i>R. sempervirens</i>	98.6 a	41.7 a	4.2	6.9
<i>R. sicula</i>	n.v.			
Significatività	*	ns	ns	ns

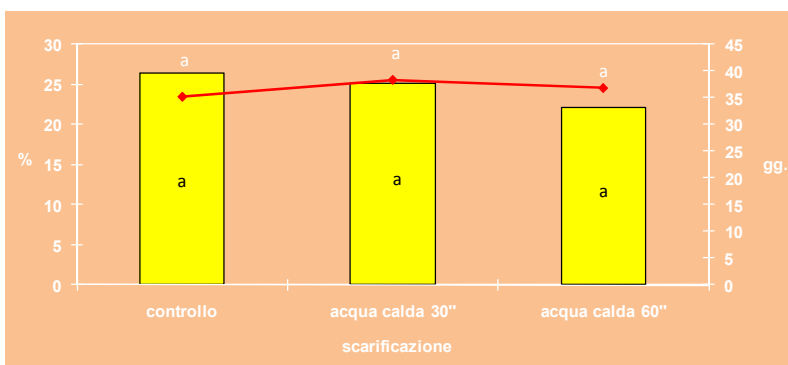


Fig. 1: Effetto della scarificazione sulla germinabilità (%) e sul T.M.G. (gg.) dei semi di rose siciliane autoctone.

I sopracitati parametri e la germinabilità dei semi non sono stati condizionati dal tipo di scarificazione fisica con acqua calda, non facendo registrare differenze significative con il controllo (Fig. 1).

- **Propagazione di varietà commerciali thailandesi di *Euphorbia x lomi*.** Sono state condotte attività sperimentali incentrate sulla valutazione delle caratteristiche propagative di 33 cultivar thailandesi recentemente introdotte nella nostra U.O. (in aggiunta alle 11 varietà da tempo presenti), differenti per il colore e la dimensione delle infiorescenze, per l'habitus vegetativo e per altri caratteri ornamentali.

Da piante madri delle sopraccitate 33 cultivar, allevate in vaso all'interno di una serra non riscaldata, sono state prelevate talee semilegnose poste a radicare, dopo un breve periodo necessario per la cicatrizzazione della superficie di taglio, in contenitori alveolari riempiti con un unico substrato a base di torba e perlite (1:1, v/v). Sono state valutate le percentuali di radicazione di ogni cultivar. Successivamente, le talee radicate di ogni accessione sono state trasferite in vasi riempiti con un substrato di coltivazione composto da una miscela di terra rossa, torba e perlite (1:1:1, v/v/v).

Risultati

Per quanto riguarda la prova di propagazione per talea degli ibridi di *Euphorbia x lomi*, la risposta è sostanzialmente variata al variare della cultivar, facendo registrare elevati tassi di radicazione delle talee (oscillanti tra il 70 ed il 99%) per gran parte dei genotipi utilizzati e con valori medi piuttosto ridotti (5-10%) solo per alcuni.



Foto 6: parziale della collezione di *Euphorbia* presso il CRA-SFM

Recupero, conservazione, caratterizzazione e valorizzazione di varietà ornamentali locali

CRA-FSO, Unità di Ricerca per la Floricoltura e le specie ornamentali, Sanremo

CLAUDIO CERVELLI

• Hebe

Le piantine ottenute dalla nuova propagazione di fine 2010, effettuata per il rinnovo delle varietà in collezione, sono state invasate in vasi da 18 cm di diametro, con un substrato da vivaismo contenente pomice grossolana (7-20 mm) e un concime a lenta cessione; sono stati costituiti 2 vasi per ogni accessione, per un totale di 132 vasi. Le piante sono state lasciate cimate circa 15 giorni dopo l'invasatura, quando le piantine presentavano la formazione di nuova vegetazione. Tutte le piante sono state sistemate all'aperto sotto un ombraio (riduzione dell'intensità luminosa del 40% rispetto al pieno sole) e ivi sono rimaste in crescita libera. Durante la coltivazione, l'irrigazione è stata fornita da un impianto automatico. Sono stati effettuati trattamenti antiparassitari di routine contro fitofagi.



Foto 1: Hebe 'Katrine'

Sono stati effettuati rilievi per la caratterizzazione morfologica e fenologica delle accessioni in base ai descrittori specifici già definiti. La collezione consiste attualmente di 66 accessioni.

• Passiflora

La collezione di passiflore presente presso il CRA-FSO è composta da 42 accessioni (24 specie, 18 varietà e ibridi), con 1-2 piante per ognuna.

Modalità di mantenimento

Piante di un anno, ottenute da seme o da talea, sono state coltivate in serra con riscaldamento basale, a $9 \pm 2^\circ\text{C}$ nelle ore notturne, in vasi di 30 cm, contenenti terriccio pomicino. Ai vasi veniva applicato un supporto in plastica per consentire l'avvolgimento dei viticci. Le piante sono state concimate tramite fertirrigazione (NPK 15:5:25 e Mg 2) quindicinale, mentre i trattamenti contro il ragno rosso sono stati effettuati utilizzando l'antagonista *Amblyseius californicus* e una miscela di acaricidi (Floramite 240 e Borneo).

Le colture *in vitro* sono state applicate a quelle accessioni particolarmente pregiate e delicate. L'utilizzo di segmenti nodali, come espianti di partenza per la coltura *in vitro*, si è mostrato problematico dal punto di vista della sterilizzazione in quasi tutte le passiflore saggiate, con elevata percentuale di contaminazione ed è stato perciò scartato. La rigenerazione è avvenuta direttamente a partire da viticci in *P. trifasciata*, *P. 'Guglielmo Betto'* e *P. 'Manta'*. Per queste passiflore la messa in coltura di fiori immaturi ha invece prodotto solo callo. I germogli di *P. foetida* var. *hastata* sono rigenerati sporadicamente da callo organogenico ottenuto

a partire da fiori immaturi. Nella passiflora *P. 'Allardii'* si sono ottenuti rigeneranti sia a partire da viticci che da fiori immaturi; nel caso di quest'ultimi, si è passati tramite una fase di abbondante produzione di callo organogenico. Tra i diversi mezzi di rigenerazione utilizzati, il migliore è risultato il terreno MS (*Shoot Multiplication Medium B* [Duchefa]) arricchito con acido 3-indoloacetico (IAA) 11.41 μM e 6-benzilaminopurina (BAP) 4.43 μM , sia per percentuale che per la qualità dei rigeneranti. Per quanto riguarda *P. 'Allardii'*, l'allungamento e la radicazione dei germogli sono stati ottenuti sullo stesso terreno di coltura MS -, addizionato di BAP 1,33 μM (Benedetti *et al.*, in stampa).

La messa a punto dei protocolli *in vitro* per alcune specie e ibridi di *Passiflora* ha permesso di stabilire le condizioni per il mantenimento delle qualità specifiche delle piante madri, utilizzabili nella propagazione di ibridi sterili e/o genotipi superiori.

Descrittori morfo-biologici

Per la caratterizzazione delle accessioni, sono stati scelti e utilizzati 19 descrittori riguardanti la morfologia e la fenologia. La caratterizzazione delle accessioni di *Passiflora* tramite i descrittori ha permesso il chiaro riconoscimento delle specie e degli ibridi. L'elenco dei descrittori ha inoltre reso possibile riassumere le principali caratteristiche biologiche della pianta, fornendo indicazioni di base per un possibile sfruttamento economico (Giovannini e Vecchia, 2011).. E' stato realizzato un documento con la foto del fiore, il nome, il sottogenere, il Paese di origine, la temperatura minima di coltivazione, la fioritura e il diametro della corolla di alcune specie ed ibridi presenti in collezione. Per gli ibridi sono indicati il nome, l'autore, la specie utilizzata come madre e la sua temperatura minima di coltivazione, la specie utilizzata come padre e la sua temperatura minima di coltivazione, la temperatura minima di coltivazione dell'ibrido, l'epoca della fioritura ed il diametro della corolla in antesi.

Caratterizzazione molecolare

E' stata verificata l'efficacia della tecnica ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) per la caratterizzazione molecolare di alcune accessioni di passiflore presenti nella collezione del CRA-FSO (Nicoletti *et al.*, in stampa). Gli ISSR si sono già mostrati strumenti efficaci per la risoluzione di problemi di sistematica e di ibridazione in numerose specie, nonché per la determinazione delle distanze genetiche in *P. edulis* e *P. alata*. I marcatori ottenuti hanno permesso di discriminare 23 su 26 specie totali analizzate. La *P. coccinea* non ha fornito alcun prodotto di amplificazione mentre per le specie *P. luzmarina* e *P. manicata* è stata ottenuta un'unica banda di uguale peso molecolare. Per tutti i rimanenti campioni il numero di bande conteggiate variava da 2 a 5. Bandeggi differenti sono stati osservati tra la specie *P. caerulea* e la sua varietà *P. caerulea 'Constance Elliott'*. E' stato possibile inoltre discriminare tutti i 14 ibridi interspecifici presi in esame. In particolare, per quanto riguarda i tre ibridi *P. x belotii*, *P. x colvillii* e *P. x colvillii 'Clara'*, di cui è stato analizzato contemporaneamente il profilo ISSR dei genitori, è stato possibile confermare la condizione ibrida: essi hanno infatti mostrato bande caratteristiche di entrambi i genitori. I risultati ottenuti possono già essere utilizzati per una prima caratterizzazione molecolare della collezione di passiflore del CRA-FSO, come integrazione dei descrittori fenotipici e come riferimento in programmi di miglioramento genetico.

Valorizzazione per il miglioramento genetico

Il numero cromosomico di alcune accessioni è stato analizzato utilizzando il protocollo messo a punto dalla Prof.ssa Sonja Siliak Yakolvlev dell'Università di Parigi. Il tessuto migliore è rappresentato da apici radicali di giovani radici in attiva crescita (1-2 cm). Le radici sono prelevate dalle piante alle undici del mattino e sottoposte a un pretrattamento in 8-idrossichinolina (0,002 M) a 16°C per 3 ore o in colchicina (0,05%) a temperatura ambiente per circa 2 ore e 30 minuti. I tessuti pretrattati sono fissati in Carnoy (etanolo: acido acetico, 3:1 v/v), preparato al momento dell'uso e riposti in frigorifero per almeno una notte. Segue la colorazione in reattivo di Schiff delle radici fissate e idrolizzate in HCL 1 N a 60°C. Il tempo di idrolisi (da 10 a 30 minuti) è ottimizzato per ogni specie. Lo schiacciamento degli apici è stato effettuato in una goccia di acido carminio acetico sul vetrino portaoggetti, utilizzando la parte posteriore di un fiammifero di legno. Gli apici si osservano al microscopio ottico (100x) per la localizzazione delle piastre metafasiche. Il numero cromosomico dell'incrocio *P. 'Clara Luna' x P. 'Thuraia'* è risultato essere quello atteso di

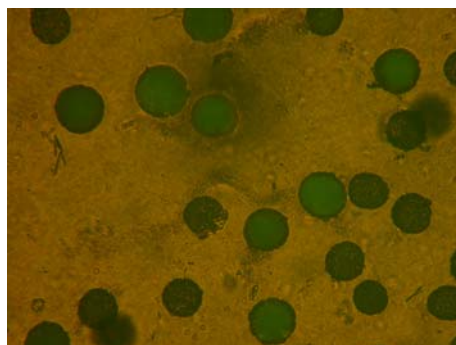


Foto 2: Polline di *Passiflora sublanceolata* colorato con diacetato di fluoresceina - granuli vitali fluorescenti



Foto 3: Ibrido *P. sublanceolata x P. foetida var. hastata*

18. La morfologia e le dimensioni dei granuli pollinici di alcune accessioni sono stati osservati al microscopio ottico (100x). La vitalità del polline è stata determinata al microscopio ottico con luce fluorescente (eccitazione con luce blu, lampada al mercurio 100W) in una goccia con 100 µl di FDA (5 mg di diacetato di fluoresceina sciolti in 1 ml di acetone, in 5 ml in acqua distillata) o con calceina AM, conservata in DMSO (500 µM) ed utilizzata alla concentrazione finale di 10µM (foto 2). La capacità germinativa del polline è stata analizzata su un substrato artificiale costituito da H₃BO₃ 40 mg/l, CaCl₂(H₂O) 152 mg/l, saccarosio 150 g/l e agar 7 g/l con un pH di 5.6. Il polline si sparge sulla piastra Petri contenente il terreno con un pennello. La germinazione è stata valutata al microscopio ottico dopo 24h alla temperatura di 22°C, al buio. Applicando questa tecnica alle piante presenti in collezione è stato possibile identificare alcune specie molto fertili (*P. caerulea*, *P. watsoniana*, *P. 'Thuraia'*, *P. subanceolata*, *P. foetida* var. *hastata*, *P. elegans*, *P. trifasciata*, *P. 'Clara Luna'*) e altre poco fertili (*P. 'Vivacemente'*, *P. 'Allardii'*, *P. 'Coral sea'*, *P. coccinea*). I dati acquisiti hanno permesso la realizzazione di un certo numero di incroci interspecifici fra specie appartenenti al sottogenere *Passiflora*. In particolare dall'incrocio *P. subanceolata* x *P. foetida* var. *hastata* sono state ottenute due piante ibride vigorose che sono fiorite a luglio 2011 (foto 3).

• Viburno

La Collezione di Viburno a Vezzanelli di Zignago (SP), duplicazione di quella originale presso CRA-FSO a Sanremo, è stata implementata con una piantagione primaverile e una autunnale di nuove specie/varietà. La superficie interessata alla collezione è risultata raddoppiata. Nella piantagione di fine inverno (Aprile 2011) le accessioni ospitate sono aumentate di circa 20 unità, e con quella autunnale sono state poi raggiunte le 100 accessioni complessive, che risultano per la maggior parte di Viburno. Sono state predisposte nello stesso giorno della piantagione nuove linee di irrigazione, allacciate a quelle preesistenti in modo da garantire la ripresa post-trapianto e la successiva attività vegetativa e crescita delle piante. Nell'autunno 2011 è stato posizionato all'interno della collezione un sensore di contenuto idrico del terreno, utile per passare successivamente all'automazione irrigua. Durante l'inverno successivo il sensore è stato utilizzato per attività di monitoraggio del contenuto idrico del terreno, con dati trasmessi direttamente presso il CRA-FSO a Sanremo. Per tutto l'anno 2011 sono stati registrati dati meteorologici relativi a località geografiche prossime alla Collezione. Tali dati hanno supportato la gestione irrigua della collezione, realizzata tramite comandi di apertura elettrovalvole via SMS da Sanremo.

Fig. 1: Pianta del Giardino dei Viburno di Vezzanelli (SP)



Manutenzioni ordinarie con potature ed eliminazione di erbe infestanti sono state eseguite nelle due collezioni a Vezzanelli e a Sanremo. Sono state garantite anche le operazioni ordinarie di tecnica colturale necessarie per allevare le piante, quali ad esempio irrigazioni e concimazioni solide con fertilizzanti ternari.

A Sanremo, in particolare, è stata anche eseguita un'operazione di ristrutturazione della collezione con eliminazione di doppiati al fine di garantire maggior spazio alle piante rimanenti ottenendo una razionalizzazione nell'accesso fisico alla collezione e la possibilità di meglio stimare la crescita delle piante in condizioni non limitanti di spazio.

Sono stati eseguiti a cadenza nelle due collezioni rilievi fenologici, talora a carattere comparativo.

Nei primi mesi del 2011 è stata elaborata una piantina sia delle collezioni di Viburno a Sanremo che a Vezzanelli, con identificazione del materiale vegetale dislocato nelle varie posizioni. La pagina web sui Viburni presenti sul sito del CRA-FSO (<http://www.istflori.it/site/12832/default.aspx>) è stata aggiornata con tale materiale.

E' stato avviato un contatto con responsabili della Regione Liguria per esporre la possibilità dell'inserimento del "Giardino dei Viburni" a Vezzanelli di Zignago nella Rete dei Parchi Liguri.

• Rosmarino

Questa specie è stata introdotta nel progetto a partire da questo triennio, in funzione dell'elevata variabilità del germoplasma naturale, la presenza di varietà già selezionate anche spesso poco caratterizzate, la elevata presenza di errori di identificazione anche a livello di specie, l'utilizzo di questa pianta in differenti settori produttivi (ornamentale, culinario, medicinale), e la scarsa documentazione varietale soprattutto per gli aspetti ornamentali.

Reperimento e mantenimento delle accessioni

Presso il CRA-FSO erano già presenti 10 varietà di *R. officinalis* coltivate in vasi da 30 cm di diametro. Nel corso del 2011 il numero di accessioni è stato incrementato fino a 40 tramite acquisti da vivai, reperimento di piante presso aziende di coltivazione di piante aromatiche o presso privati, reperimento di materiale della vegetazione spontanea. Le piante acquistate o reperite da produttori, essendo già in vasi di 12-14 cm di diametro, sono state trasferite in vasi di plastica da 30 cm di diametro presso il CRA-FSO utilizzando un substrato da vivaismo con il 10% di pomice addizionato di agriperlite (rapporto 1:1), aggiungendo all'invasatura un concime a rilascio controllato. Per le accessioni di cui sono state reperite talee come materiale di propagazione, si è provveduto alla loro radicazione sotto *mist* e successivamente all'invasatura in vasi da 14 cm di diametro; dopo circa 4 mesi di crescita anche queste accessioni sono state reinvasate in vasi da 30 cm con le stesse modalità delle precedenti. Complessivamente perciò, a fine 2011, la collezione è rappresentata da 2 vasi da 30 cm di diametro per ciascuna accessione, ad eccezione delle 3 accessioni della specie *R. eriocalyx* la cui lenta crescita non ha ancora permesso il previsto rinvaso. Tutte le piante sono coltivate in pien'aria e l'irrigazione è effettuata attraverso un impianto automatico con temporizzatore. In vista dell'effettuazione di missioni per il reperimento di materiale spontaneo sono state individuate aree geografiche in Italia e all'Estero dove si ritiene possano trovarsi accessioni con caratteristiche morfologiche, fisiologiche e ornamentali interessanti, in particolare le isole del mediterraneo occidentale (Sardegna, Eolie, Egadi, Corsica, Baleari) ove si può trovare elevata biodiversità e abbondano siti sottoposti a prolungato stress idrico, forte ventosità e elevata intensità luminosa.

Caratterizzazione delle accessioni E' iniziata la definizione dei descrittori specifici e la caratterizzazione delle accessioni. I descrittori sono stati già tutti definiti mentre la caratterizzazione è in fase di attuazione sulle varietà presenti presso il CRA-FSO da più tempo, che sono state oggetto di un lavoro presentato a un convegno internazionale.

• Aggiornamento dei descrittori e del Database

Hebe: è stato completato il database di *Hebe* comprendente 62 accessioni e le loro caratteristiche tramite tutti i descrittori specifici: i relativi dati sono stati inviati ai gestori del database del progetto presso CRA-FRU. Sono stati forniti i descrittori di passaporto delle 4 nuove accessioni di *Hebe* reperite nel 2011.

Passiflora: sono stati inseriti i descrittori di passaporto e i descrittori specifici di 37 accessioni di cui si hanno i dati completi, per altre 5 accessioni i dati sono in fase di raccolta.

Viburno: sono stati inseriti i descrittori di passaporto per 67 accessioni ed è stata rifinita la struttura dei descrittori specifici.

Rosmarino: sono stati definiti i seguenti descrittori:

Pianta:	Altezza massima (cm), habitus
Internodo:	Lunghezza (mm), spessore (mm), tomentosità
Foglia:	Lunghezza (mm), larghezza (mm), forma, apice, colore, tomentosità, caratteristiche superficiali
Infiorescenza:	Lunghezza (mm), numero di fiori
Calice:	Lunghezza (mm), colore, tomentosità
Corolla	Lunghezza (mm), colore di sfondo
Labbro inferiore:	Larghezza (mm), angolo col tubo corollino, colore stria centrale, colore strie laterali, colore macchie e punti
Entità di fioritura	
Vigoria	

E' iniziata, inoltre, la caratterizzazione fenologica delle accessioni che hanno fiorito già dall'inizio 2011 e sono state effettuate le prime valutazioni sul valore ornamentale delle singole accessioni.

Salvia: è stato completato il database con i descrittori di passaporto e specifici per totali 122 accessioni.

E' stata iniziata, per la collezione di *Campanula*, una riorganizzazione del materiale disponibile nella collezione in modo da costituire raggruppamenti con possibilità di adozione di descrittori minimi specifici per ogni gruppo.

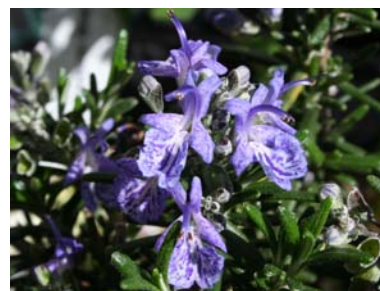


Foto 4 e 5: Particolari della fioritura di *Rosmarinus officinalis* 'Corsican Blue' (sopra) e 'Majorca Pink' (sotto)



Pubblicazioni

- DE BENEDETTI L., GIOVANNINI A., NICOLETTI F., BALLARDINI M., BIANCHINI C., A. MERCURI. 2011. Variabilità somaclonale in specie ed ibridi appartenenti al genere *Passiflora*. *Flortecnica* 5: 49-54.
- GIOVANNINI A., VECCHIA M., 2011. Ornamental passion flowers. *Bollettino dei Musei e degli Istituti Biologici dell'Università di Genova*, 73:107. In stampa
- DE BENEDETTI L., NICOLETTI F., BALLARDINI M., MERCURI A., GIOVANNINI A. 2011. Le passiflore: risorse genetiche e ricerca applicata. *Informatore Botanico Italiano*, in stampa.
- GIOVANNINI A., VECCHIA M. 2011. Le passiflore: aspetti botanici. *Informatore Botanico Italiano*, in stampa.
- NICOLETTI F., BRAGLIA L., DE BENEDETTI L., DENTE F., BALLARDINI M., A. MERCURI, A. GIOVANNINI. Caratterizzazione molecolare di passiflore ornamentali. *Italus Hortus*, in stampa.
- MASSELLI L., 2011. Porte aperte al CRA-FSO di Sanremo: una giornata fra gli odori e i colori di piante aromatiche e ornamentali poco conosciute. *Flortecnica*, 7/8, 28-32.
- CERVELLI C., MASSELLI L., Characterization of Rosemary Cultivars for Ornamental Purposes. VII International Symposium ISHS on New Floricultural Crops, Buenos Aires (22-25 novembre 2011). *Book of Abstracts*:35.

Attività divulgative

- 13 maggio 2011: organizzazione, presso CRA-FSO, di una giornata Porte Aperte su "Nuove piante ornamentali e aromatiche": Visita delle collezioni Rosmarino, Viburno e Passiflora nei campi e nelle serre
- La piantina elaborata per i Viburni di Vezzanelli è stata utilizzata per realizzare un *depliant* fruibile per visite di naturalisti, amatori del verde, turisti. Parte dei *depliant* è stato consegnato al Comune di Zignago (SP).

Conservazione, caratterizzazione e valorizzazione della biodiversità di piante officinali

CRA-MPF Unità per il Monitoraggio e la Pianificazione Forestale di Trento

PIETRO FUSANI

Presso il CRA-MPF è conservata una collezione *ex situ* composta di 148 specie botaniche, delle quali 105 di interesse aromatico e medicinale: in particolare, 77 sono considerate prevalentemente medicinali, 9 aromatiche e 19 sia aromatiche che medicinali. Riguardo alle altre specie, 17 sono considerate alimentari, 16 ornamentali, 7 hanno proprietà insetticide e 3 vengono utilizzate in profumeria. Riguardo alla distribuzione delle specie, 103 sono presenti nell'Arco Alpino, 81 nella regione Trentino-Alto Adige e 66 in provincia di Trento. Per alcune specie, sulle quali si è focalizzata nel corso degli ultimi anni l'attività di ricerca del CRA-MPF, vengono conservate più accessioni: *Arnica montana* (14 accessioni), *Cicerbita alpina* (8), *Gentiana lutea* (8), *Hieracium pilosella* (7), *Rhodiola rosea* (17), *Echinacea angustifolia* (5), *Salvia officinalis* (27). Per le prime cinque specie, indigene dell'Arco Alpino, le accessioni conservate sono state ottenute da seme raccolto da altrettante popolazioni naturali presenti in diversi siti, per lo più della provincia di Trento. Nel 2011 è proseguita inoltre la gestione di un *index seminum* comprendente 50 specie, pubblicato su sito web (<http://www.pianteofficinali.org/>), per il quale sono state evase nel corso dell'anno varie richieste provenienti da Enti pubblici, Istituti di Ricerca e privati.

Per quanto riguarda le attività nell'ambito del progetto RGV/FAO previste per il triennio 2011-2013, queste sono focalizzate in particolare sulle seguenti specie: *Arnica montana*, *Cicerbita alpina*, *Echinacea angustifolia*, *Petroselinum crispum* e *Rhodiola rosea*. I risultati ottenuti nel 2011 per ciascuna specie vengono descritti di seguito.

- ***Arnica montana* L.** è una specie erbacea perenne della famiglia delle *Asteraceae*, presente allo stato spontaneo sull'intero Arco Alpino, coltivata e utilizzata tradizionalmente in medicina, per i principi attivi contenuti nelle radici e nelle parti aeree, dotati di attività antinfiammatoria. Le attività svolte presso il CRA-MPF riguardano il reperimento di accessioni locali, la loro conservazione e caratterizzazione, nonché il tentativo di valorizzare e la coltivazione della specie a livello locale. Nel 2011 è stato allestito un campo di conservazione *ex situ*, a un'altitudine di 900 m s.l.m., che conserva 13 accessioni locali raccolte nel 2010 in altrettanti siti della provincia di Trento, insieme a una cultivar commerciale. Scopo della



Foto 1: esemplare di *Arnica montana* individuato *in situ*

collezione, oltre a quello conservativo, è di caratterizzare le accessioni nello stesso ambiente, sulla base di quanto già fatto nel 2010 sulle piante presenti *in situ* (Aiello *et al.*, 2012). Nel 2011 sono proseguiti i rilievi su una prova sperimentale, allestita nel 2009 a quota di 990 m s.l.m., di confronto fra tre accessioni locali: sono stati effettuati rilievi morfologici, sulla base di descrittori specie-specifici noti in letteratura (Bladh *et al.*, 2006), e produttivi (capolini ed olio essenziale), e prelevati campioni di ambedue i prodotti per la determinazione del contenuto in principi attivi.

Per quanto riguarda le caratteristiche morfologiche, le tre accessioni (denominate rispettivamente 'Bondone', 'Juribello' e 'Paradisio', dal nome del luogo di reperimento) si sono variamente differenziate per le dimensioni della foglia, il diametro e il numero di rosette basali, il numero di steli e il numero di infiorescenze per pianta, e il numero di fiori ligulati nell'ambito dell'infiorescenza. Riguardo alle rese, la 'Bondone' si è distinta per la maggior resa in capolini in peso fresco, sia per unità di superficie ($196,4 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$) che per pianta ($22,5 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$) (Aiello *et al.*, 2011b). Riguardo alla composizione dei capolini, la stessa accessione ha mostrato il maggior contenuto in fenoli (1,53 %), flavonoidi (1,42%) e sesquiterpenlattoni totali (1,19%), pur non differenziandosi da una delle altre due accessioni (Dall'Acqua *et al.*, 2011).

Sempre nel 2011 è stata condotta, in collaborazione con un vivaio privato della provincia di Trento, una prova di radicazione su tre differenti substrati, al fine di individuare quello più idoneo e di mettere a punto le tecniche di produzione di piantine adatte al trapianto.

- **Cicerbita alpina (L.) Wallroth** è una specie erbacea perenne della famiglia delle *Asteraceae*, presente in Italia allo stato spontaneo sulle Alpi e sull'Appennino Settentrionale nei piani altitudinali montani e sub-alpini. La pianta riveste interesse alimentare, in quanto il prodotto edule è costituito dai germogli, simili a turioni, che sono soggetti a raccolta spontanea in alcune regioni del Nord-Est italiano, tra cui la provincia di



Foto 2: La resa in foglie di *Cicerbita alpina* si aggira attorno ai 250 g/ pianta

Trento, tanto che le autorità locali sono intervenute nel regolamentarne la raccolta. La specie riveste una certa importanza anche dal punto di vista commerciale, dando luogo a produzioni tipiche di nicchia a livello locale. Le attività condotte presso il CRA-MPF riguardano soprattutto la domesticazione della specie, vista la minaccia di impoverimento nei siti di raccolta spontanea e l'interesse commerciale esistente a livello locale. A partire dal 2004 sono stati realizzati alcuni campi sperimentali a scopo dimostrativo, situati in varie zone della provincia, con l'obiettivo di verificare l'adattamento della coltura a diverse condizioni ambientali (altitudine, esposizione, caratteristiche del terreno): attualmente le piante sono coltivate in cinque impianti, situati ad altitudini comprese tra i 900 e i 1.500 m s.l.m., utilizzando le tecniche della coltivazione biologica.

Dalla conduzione di questi impianti, è stato verificato che la coltivazione può essere realizzata in appezzamenti situati ad altitudini superiori ai 1.100 metri: solo in condizioni particolarmente fresche e ombreggiate si può ipotizzare di realizzare la coltivazione ad altitudini leggermente inferiori. Inoltre, è stato verificato che, nel caso in cui l'irraggiamento solare diretto sia superiore al 50% dell'irraggiamento giornaliero, è necessario utilizzare strutture ombreggianti, utilizzando reti con capacità di ombreggiamento notevole (dal 50 al 75%). Riguardo alle tecniche colturali, il sesto di impianto idoneo è di 50 - 60 cm tra le file e di 25 cm sulla fila corrispondenti a un investimento di 6-8 piante/m²: con densità d'impianto superiori le rese peggiorano, a causa dell'eccessivo antagonismo fra le piante. Infine, le prime raccolte possono essere eseguite nel terzo anno di coltivazione, effettuando non più di due raccolte per anno.

Nel 2011 sono stati effettuati rilievi produttivi in due degli impianti sperimentali, effettuando diverse pressioni di raccolta su piante di diversa età, rilevando le rese per unità di superficie e per pianta e le caratteristiche del prodotto ottenuto: per quanto riguarda le rese, si è raggiunto il valore di 250 g/m^2 ; i germogli raccolti hanno un diametro medio di 11 mm e peso medio di 5 grammi (Scartezzini *et al.*, 2012).

Nel 2011 sono state inoltre fornite, a due vivaisti privati della provincia di Trento, sementi ottenute nei campi sperimentali, per la diffusione delle piantine ottenute tra gli agricoltori locali e stimolare così la coltivazione della specie. Allo stesso scopo sono state distribuite a diversi agricoltori piantine prodotte presso il CRA-MPF.

- ***Echinacea angustifolia* DC.** è una specie erbacea perenne della famiglia delle *Asteraceae*, originaria dell'America Settentrionale, coltivata e utilizzata in medicina per i suoi principi attivi, contenuti in parti aeree e radici, dotati di proprietà immunostimolanti, antinfiammatorie, cicatrizzanti, fungicide, antibatteriche e antivirali. Presso il CRA-MPF sono state allestite nel 2011 diverse prove agronomiche, di seguito descritte: una prima prova riguarda lo studio dell'ereditarietà di alcuni caratteri, e la verifica della loro stabilità nella progenie ottenuta a partire da cinque cloni allevati nel 2010 in un altro campo sperimentale e



Foto 3: Prova sperimentale con accessioni di *Echinacea angustifolia* a tre diversi regimi idrici

lasciati a libera impollinazione. Dalla verifica dei risultati ottenuti in questa prova di progenie, sarà valutata l'opportunità di diffondere una varietà sintetica ottenuta a partire dai cloni di origine. Una seconda prova riguarda la determinazione del contenuto in principi attivi nelle diverse parti della radice (colletto, cilindro corticale, cilindro centrale, radici avventizie), così da individuare le zone di maggior accumulo. Una terza prova riguarda lo studio dell'ereditarietà del carattere inerente il contenuto in principi attivi, che è di tipo quantitativo, mediante tecniche di analisi genetica molecolare. Nel 2011 è stato eseguito un incrocio controllato tra due genitori, uno a basso e uno ad alto contenuto in principi attivi. In una quarta prova, condotta su piante allevate in vaso, sono stati messi a confronto tre diversi substrati, verificando l'accrescimento delle radici e il loro contenuto in principi attivi. Una quinta

prova ha riguardato la tolleranza allo stress idrico, condotta su piante allevate in vaso sottoposte a tre diversi regimi di irrigazione. Tutti i dati raccolti nelle cinque prove sperimentali sopra descritte sono oggetto di una Tesi di Dottorato in corso di svolgimento presso l'Università di Padova, e sono in fase di elaborazione.

- ***Petroselinum crispum* (Mill.) Fuss** è una specie erbacea biennale appartenente alla famiglia delle *Apiaceae*, pianta alimentare coltivata e nota come prezzemolo. Di questa specie è stata reperita, nel 2009 a Brentonico (TN), un'accessione nota localmente come "Prezzemolo dei francesi", distinguibile per il portamento prostrato. Nel 2011 sono stati eseguiti per il secondo anno i rilievi su una prova agronomica, allestita presso la sede del CRA-MPF nel 2010, di confronto tra l'accessione locale e cinque varietà commerciali. Sono stati eseguiti i rilievi: morfologici, utilizzando i descrittori specie-specifici del CPVO, fenologici, rilevando ripresa vegetativa e fioritura, produttivi, rilevando resa in prodotto fresco, secco e contenuto in olio essenziale ottenuto su prodotto secco mediante distillazione.



Foto 4: Pianta spontanea di *Rhodiola rosea* nell'Arco Alpino

- ***Rhodiola rosea* L.** è una pianta erbacea perenne, appartenente alla famiglia delle *Crassulaceae*, presente allo stato spontaneo sull'Arco Alpino nei piani altitudinali subalpini e alpini. È utilizzata in medicina per i principi attivi contenuti nelle radici, dotati di proprietà adattogene e immunostimolanti, ed è una delle specie sulle quali si è rivolto il maggior interesse della fitoterapia negli anni recenti. La materia prima disponibile sul mercato attualmente proviene soprattutto dall'Asia e deriva da raccolta spontanea. Le attività condotte presso il CRA-MPF riguardano il reperimento di accessioni locali, la loro conservazione e caratterizzazione e la domesticazione della specie. Nel 2011, è stato implementato un campo di conservazione *ex situ*, a quota 1.240 m s.l.m., con 5 accessioni locali. In un secondo campo di conservazione, situato a 1.550 m s.l.m., sono state raccolte radici di diverse accessioni per la determinazione del contenuto in principi attivi. Sempre nel 2011, è stato fornito a un vivaista privato di Trento il seme di undici accessioni locali più una varietà svizzera, al fine di ottenere piantine adatte al trapianto nel 2012 in un campo di conservazione del CRA-MPF. Le piantine ottenute, oltre all'utilizzo per scopi sperimentali presso il CRA-MPF, saranno diffuse tra agricoltori della zona interessati.

Pubblicazioni

AIELLO N., BONTEMPO R., VENDER C., 2011. Seed Germination Tests on *Arnica montana* L. and *Rhodiola rosea* L. Wild Populations. First International Symposium on Medicinal, Aromatic and Nutraceutical Plants from Mountainous Areas 6th – 9th July 2011 Saas-Fee, Switzerland. Book of abstracts.

AIELLO N., SCARTEZZINI F., VENDER C., 2011b. Cultivation Trial of *Arnica montana* L. wild accessions. Results of the Second Year. First International Symposium on Medicinal, Aromatic and Nutraceutical Plants from Mountainous Areas 6th – 9th July 2011 Saas-Fee, Switzerland. Book of abstracts.

DALL'ACQUA S., INNOCENTI G., FERRETTI V., AIELLO N., SCARTEZZINI F., VENDER C., 2011. Quali-quantitative analysis of *Arnica montana* L. wild accessions compared in field. Results of the second year. First International Symposium on Medicinal, Aromatic and Nutraceutical Plants from Mountainous Areas 6th – 9th July 2011 Saas-Fee, Switzerland. Book of abstracts.

SCARTEZZINI F., AIELLO N., VENDER C., CANGI F., MERCATI S., FULCERI S., 2011. Quantitative and qualitative performance of two golden root (*Rhodiola rosea* L.) accessions grown at different altitude in Northern Italy. First International Symposium on Medicinal, Aromatic and Nutraceutical Plants from Mountainous Areas 6th – 9th July 2011 Saas-Fee, Switzerland. Book of abstracts.

VENDER C., AIELLO N., SCARTEZZINI F., CANGI F., MERCATI S., FULCERI S., 2011. Experimental activity carried out on Golden Root (*Rhodiola rosea*) in the province of Trento. First International Symposium on Medicinal, Aromatic and Nutraceutical Plants from Mountainous Areas 6th – 9th July 2011 Saas-Fee, Switzerland. Book of abstracts.

Caratterizzazione, uso e valorizzazione delle risorse genetiche vegetali: tabacco e *Nicotiana* spp

CRA-CAT Unità di ricerca per le colture alternative al tabacco, Scafati

CIRO SORRENTINO, LUISA DEL PIANO, MASSIMO ABET, FRANCESCO RAIMO, MARIA ROSARIA SICIGNANO, TOMMASO ENOTRIO

Nell'ambito del Progetto RGV/FAO, l'attività del CRA-CAT di Scafati è finalizzata alla conservazione, caratterizzazione e valorizzazione della collezione di tabacchi e nicoziane che è molto ampia, comprendente circa 2.000 accessioni.

Nel periodo interessato è proseguito il lavoro di caratterizzazione su un gruppo di 50 accessioni. I rilievi agronomici effettuati sono stati i seguenti: altezza e portamento della pianta, numero e dimensioni delle foglie, forma e colore della foglia, conformazione del lembo, diametro del fusto, epoca di fioritura. Particolare attenzione è stata rivolta anche al tipo d'infiorescenza, spargola o compatta, numero di capsule per infiorescenza, forma e dimensione della capsula, peso seme per capsula, e peso seme per pianta.

Per tutte le accessioni esaminate è stata effettuata una documentazione fotografica. E' proseguito l'ampliamento del database con l'inserimento dei dati raccolti per le 50 accessioni.

Per alcune specie di *Nicotiana*, è proseguita l'analisi molecolare già iniziata sia con i marcatori molecolari ISSR che IRAP. In particolare l'attività di ricerca è stata finalizzata allo studio delle relazioni genetiche tra le specie appartenenti alla sezione

specie appartenenti alla sezione *Tomentosae*, oggetto di recente revisione sistematica (Knapp, 2004). L'indagine è stata condotta mediante l'analisi del polimorfismo rivelato da marcatori molecolari SSR. Sono state esaminate 23 specie di *Nicotiana* tra le quali tutte quelle incluse nelle sezioni *Tomentosae* (*N.*

tomentosiformis, *N. tomentosa*, *N. otophora*, *N. kawakamii*, *N. setchellii*, *N. glutinosa*) e *Undulatae* (*N. undulata*, *N. wigandioides*, *N. arentsii*) e altre specie appartenenti a quasi tutte le altre 14 sezioni del genere (Goodspeed, 1954). Il DNA genomico è stato estratto e amplificato utilizzando coppie di primer SSR disponibili in letteratura (Bindler 2007; Moon *et al.* 2008). Il risultato preliminare della similarità gene-

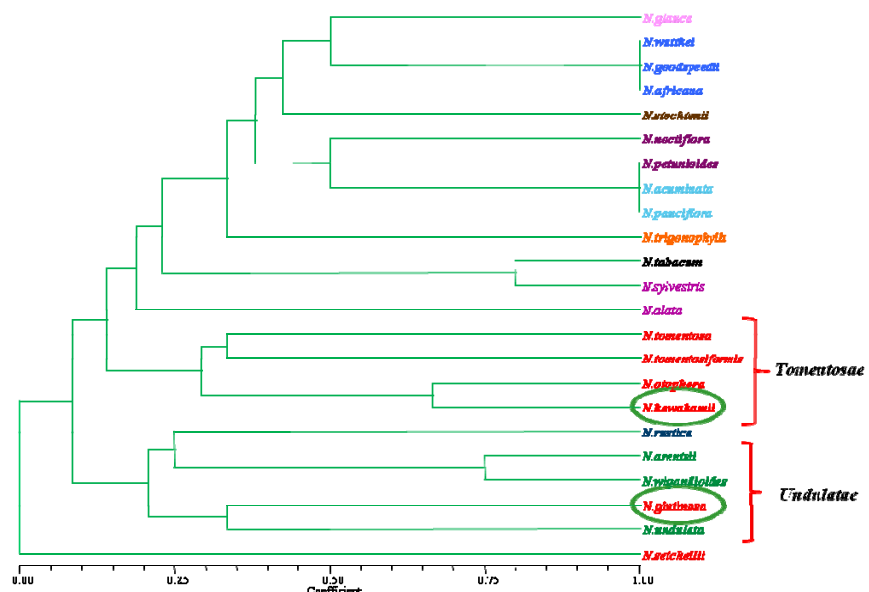


Fig. 1: Dendrogramma UPGMA basato sui dati SSR.

letteratura (Bindler 2007; Moon 2008). I dati sinora ottenuti sono stati utilizzati per condurre un'analisi preliminare della similarità genetica delle specie esaminate. Pertanto i profili SSR generati dalle diverse

coppie di *primer* sono stati valutati in termini di presenza (1) o assenza (0) di bande e assemblati in una matrice binaria utilizzata per calcolare gli indici di similarità mediante il coefficiente di Jaccard. I valori di similarità trovati sono stati poi utilizzati per costruire un dendrogramma UPGMA ("Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean") (Fig. 1). La *Nicotiana glutinosa* è risultata raggruppata con le specie della sezione *Undulatae* e non con quelle della sezione *Tomentosae* dove si trovava inserita, mentre la *N. kawakami*, si è collocata più vicina alla *N. otophora* rispetto alla *N. tomentosiformis*. Anche con la precedente analisi ISSR e IRAP, la specie *N. glutinosa* è risultata separata dalle altre specie analizzate della sezione *Tomentosae*, come proposto nella recente revisione del genere. Invece la *N. kawakami*, specie scoperta negli anni '80, la cui relazione con le altre *Tomentosae* è controversa, era risultata più vicina alla *N. tomentosiformis* che alla *N. otophora*.

Per quanto riguarda l'aspetto della valorizzazione, è proseguita l'attività relativa ai due filoni:

- **Individuazione di linee di tabacco Kentucky idoneo alle nuove esigenze e costituzione di nuove linee utili per il sigaro Toscano, prodotto tipico italiano ancor oggi molto richiesto dal mercato**

Per quanto riguarda il primo filone, è continuata la collaborazione con M.S.T. (Manifatture Sigaro Toscano) che ha sottoposto al secondo anno di valutazione agro-merceologica i due ibridi MSF1 di tabacco tipo Kentucky, prodotti dalla nostra unità di ricerca e ritenuti interessanti nel precedente anno di prova, e a una prima valutazione di altri nove ibridi MSF1, sempre prodotti dalla nostra unità di ricerca. Tale prova è stata effettuata a cura della M.S.T. presso il campo sperimentale in Foiano della Chiana (AR). Altri due ibridi MSF1 di tabacco tipo Kentucky sono risultati interessanti e meritevoli di ulteriori indagini.

- **Individuazione e costituzione di linee di tabacco con elevata produzione in seme per un uso alternativo della coltura:**

sono state individuate ulteriori accessioni da inserire in piani di miglioramento genetico (Foto 1); infatti sono stati effettuati incroci per ottenere linee con elevato numero e dimensione delle capsule e opportuna forma dell'infiorescenza. Per la costituzione di linee con caratteristiche peculiari per la produzione di seme si sta utilizzando anche la tecnica di androgenesi. A partire da ibridi F1 prodotti in precedenza, sono state realizzate delle colture di antere; le piantine aploidi ottenute sono state allevate prima *in vitro* e poi in vaso. Sono state effettuate colture di midollo di fusto e nervatura di foglia dalle piante aploidi per ottenere individui diploidi (Foto 2).

Inoltre è stata condotta una sperimentazione utilizzando 2 linee neocostituite con elevata produzione in seme in collaborazione con il Consorzio per la Divulgazione e la Sperimentazione delle Tecniche Irrigue (CO.T.IR), ente di ricerca della regione Abruzzo, interessato a ricerche che possano dare alternative valide ai tabacchicoltori di questa regione. Presso il campo sperimentale di questo ente con sede a Vasto (CH) sono state valutate le produzioni in seme delle linee allevate a due densità di investimento effettuando o non effettuando la raccolta delle foglie per un possibile duplice impiego della coltura. Per entrambe le modalità di raccolta sono state ottenute produzioni in seme di circa 2 t/ha suscettibili di ulteriore miglioramento.



Foto 1 e 2: Genotipi da inserire in piani di miglioramento per selezionare cultivar con elevate produzioni di seme per pianta

Bibliografia

- BINDLER G. *et al.* 2007. A microsatellite marker based linkage map of tobacco. *Theor. Appl. Genet.* 69:535-541.
- GOODSPEED T.H. 1954. The genus *Nicotiana*. Chronica Botanica, Massachusetts, Waltham.
- KNAPP S., CHASE M.W., CLARKSON J.J. 2004. Nomenclature changes and new sectional classification in *Nicotiana* (Solanaceae). *Taxon* 53 (1): 73-82.
- MOON H.S. 2008. Use of transferable *Nicotiana tabacum* L. Microsatellite markers for investigating genetic diversity in the genus *Nicotiana*. *Genome* 5: 547-559.

Nuove acquisizioni sulla collezione di gelso (*Morus sp.pl.*)

CRA-API Unità di ricerca di apicoltura e bachicoltura, Padova

ALESSIO SAVIANE, SILVIA CAPPELLOZZA

Nell'ambito del progetto RGV-FAO sono state eseguite prove di appetibilità sui campioni fogliari raccolti e analizzati nell'annata precedente. I campioni fogliari sono stati inseriti nella dieta artificiale del baco da seta e sottoposti allo stesso trattamento termico, cui erano stati sottoposti i campioni di cui era stata analizzata la componente fenolica, in modo da evidenziare l'effetto *in vivo* della foglia. I campioni sono stati inseriti sia ad alte sia a basse concentrazioni nella dieta (25% e 5%), per evidenziare se a basse concentrazioni potesse essere meglio riscontrato un effetto stimolante della crescita e fagostimolante imputabile ai fenoli stessi. Infatti, a concentrazioni più alte (25%) anche altre componenti nutrizionali (contenuto in proteine e zuccheri, fibra grezza...), assumono aspetti rilevanti per la crescita. La metodica utilizzata è stata quella dell'allevamento sterile, in cui le larve vengono lasciate a contatto con la dieta per tre età successive, senza manipolazioni. Questo permette di ottenere condizioni identiche di crescita in tutte le tesi e ripetizioni, dando luogo a un risultato molto attendibile. Alla dieta non è stato aggiunto l'acido clorogenico, in maniera che i soli fenoli introdotti fossero quelli contenuti nella foglia di gelso ed eventualmente quelli di *background* degli altri componenti. In effetti, mentre le differenze riscontrabili nella



Foto 1: More bianche della cv. Giazza (*Morus alba*)

Tab. 1: Effetto della foglia di gelso nella dieta per il baco da seta valutato sulla sopravvivenza alla III muta

Specie	cultivar	sopravvissuti (mutati+in muta) media $\pm$ d.s.
<i>M. bombycis</i>	Yamanaka takasuke	47 $\pm$ 10,1; a
<i>M. latifolia</i> o <i>multicaulis</i>	Kokusou 21	35,7 $\pm$ 11,6; ab
<i>M. nigra</i>	Morus nigra	33 $\pm$ 3,5; ab
<i>M. alba</i>	Rosa di Lombardia	32 $\pm$ 4,6; ab
<i>M. latifolia</i> o <i>multicaulis</i>	Okaraguwa	31,3 $\pm$ 4,2; ab
<i>M. alba</i>	Florio	31 $\pm$ 6; ab
<i>M. latifolia</i> o <i>multicaulis</i>	Kokusou 70	29 $\pm$ 7; ab
<i>M. alba</i>	Morettiana	22,7 $\pm$ 5,7; b
<i>M. alba</i>	Spagna F. Nero	19,7 $\pm$ 4,9; b
<i>M. alba</i>	Spagna F. Bianco	16 $\pm$ 12,1; b

dieta contenenti il 25% di foglia di gelso sono state limitate per quanto riguarda l'omogeneità di accrescimento larvale, l'accettazione della dieta e la velocità di muta, differenze più spiccate sono state trovate fra le diete contenenti bassi quantitativi di foglia di gelso. In particolare, queste differenze non sembrano legate alla quantità totale di fenoli, ma alle differenze qualitative fra le diverse frazioni che compongono il totale. Inoltre, sono state riscontrate differenze legate alle varietà e differenze legate alle specie. Le differenze riscontrate sono particolarmente importanti nello studio delle varietà di gelso da utilizzare per ridurre i costi di produzione della dieta artificiale, di cui la foglia essiccata rappresenta una delle principali voci.

Nella tabella 1 vengono riportati il numero di larve sopravvissute alle prime tre età larvali, cioè il numero di larve già mutate e quelle ancora in muta, ma vitali. Il numero delle larve sopravvissute è un indicatore di come la dieta è stata accettata dalle larve, in termini di attrazione e stimolazione alla nutrizione. La differenza fra le diverse varietà è evidente e significativa. Le medie che sono seguite da lettere diverse sono significativamente diverse a un livello di probabilità superiore al 95%, valutato con analisi della varianza e test di Tukey. Nella tabella 2, l'analisi statistica viene compiuta raggruppando le varietà secondo la specie di appartenenza. Sembrerebbe anche in questo caso evidenziarsi una differenza significativa fra le diverse specie che potrebbe essere riconducibile a un diverso contenuto fenolico da un punto di vista qualitativo quale quello evidenziato dai cromatogrammi che sono stati registrati negli anni passati.

Tab. 2: Effetto della specie di gelso sulla sopravvivenza alla III muta

Specie	Sopravvissuti (mutati+in muta)
<i>M. bombycis</i>	47,0 $\pm$ 10,1; a
<i>M. nigra</i>	33,0 $\pm$ 3,5; ab
<i>M. latifolia</i>	32,0 $\pm$ 7,6; ab
<i>M. alba</i>	24,3 $\pm$ 8,9; b
media $\pm$ d.s.	

Per quanto riguarda le more di gelso, è iniziata la loro collezione e studio. I dati relativi al primo anno di sperimentazione sono riportati nella tabella 3.

Tab. 3: Dati preliminari raccolti sui frutti delle diverse varietà di gelso, i valori sono espressi come media e dev. st.

Varietà/ Specie	Lunghezza (mm)	Diametro (mm)	Peduncolo lunghezza (mm)	Separazione del peduncolo dal ramo	Peso (g)	Dolcezza (test sogg.)	Maturazione 2011
Lhou <i>M. multicaulis</i>	19.7 ± 0.6	9.8 ± 0.3	5.2 ± 0.3	difficile	0.9 ± 0.1	-	≤ 10 maggio
Yamanaka- Takasuke <i>M. bombycis</i>	16.2 ± 2.0	10.5 ± 0.8	7 ± 2	difficile	1.0 ± 0.1	+	≤ 10 maggio
Spagna frutto nero <i>M. alba</i>	27.2 ± 2.2	16.6 ± 2.3	12 ± 3.1	medio	3.6 ± 0.5	++	≤ 10 maggio
Kayriou rosou <i>M. multicaulis</i>	22.2 ± 2.2	9.8 ± 0.6	5.8 ± 1.6	molto facile	0.9 ± 0.2	++	≤ 10 maggio
Kenmochi <i>M. bombycis</i>	18.4 ± 2.1	9.0 ± 0.9	6.8 ± 0.8	molto facile	0.8 ± 0.2	++	≤ 10 maggio
Akagi <i>M. bombycis</i>	15 ± 0.7	9.1 ± 0.7	3.6 ± 1.1	medio	0.8 ± 0.1	++	≤ 10 maggio
Ascolana (more bianche) <i>M. alba</i>	20.4 ± 0.5	10.9 ± 0.7	3.4 ± 2.0	molto facile	2.0 ± 0.2	++	≤ 20 maggio
Morettiana (more bianche) <i>M. alba</i>	21.4 ± 1.8	10.6 ± 0.4	5.6 ± 1.1	molto facile	1.4 ± 0.1	+	≤ 20 maggio
Enshutakasuke <i>M. alba</i>	21.0 ± 2.3	10.7 ± 1.0	4.6 ± 1.5	difficile	1.6 ± 0.4	+	≤ 10 maggio
Florio <i>M. alba</i>	24.3 ± 1.6	12.0 ± 1.1	3.7 ± 0.8	molto facile	2.5 ± 0.5	++	≤ 20 maggio
Kokusou 20 <i>M. multicaulis</i>	22.4 ± 1.9	13.3 ± 1.0	8.6 ± 2.0	facile	2.4 ± 0.2	+	≤ 20 maggio
Giazzola <i>M. alba</i>	19.8 ± 1.8	9.9 ± 0.7	6.4 ± 0.9	molto facile	1.2 ± 1.0	+	≤ 20 maggio
Restelli <i>M. alba</i>	27.7 ± 1.2	12.0 ± 0.9	8.9 ± 1.7	molto facile	3.4 ± 0.6	+++	≤ 20 maggio
Spagna a frutto bianco <i>M. alba</i>	19.1 ± 2.2	12.6 ± 1.5	5.2 ± 3.8	medio	1.7 ± 0.3	+	≤ 30 maggio
Seijuuru <i>M. multicaulis</i>	20.1 ± 1.9	11.0 ± 1.5	6.6 ± 3.0	molto facile	1.9 ± 0.2	+	≤ 20 maggio
Sinuense <i>M. alba</i>	25.0 ± 2.4	10.8 ± 1.2	9.8 ± 2.6	facile	1.6 ± 0.6	+	≤ 10 maggio
Kokusou rosso <i>M. multicaulis</i>	22.4 ± 2.8	11.2 ± 0.8	8.2 ± 0.8	molto facile	1.6 ± 0.3	+	≤ 10 maggio
Tago wase <i>M. alba</i>	25.9 ± 1.5	13.9 ± 1.4	5.6 ± 0.9	molto facile	1.7 ± 0.2	++	≤ 10 maggio
Platanoide <i>M. kagayamae</i>	23.7 ± 1.9	10.7 ± 1.3	10.7 ± 1.8	molto facile	1.3 ± 0.3	++	≤ 20 maggio
Filippine <i>M. multicaulis</i>	27.8 ± 2.2	10.7 ± 1.3	10.7 ± 1.8	difficile	2.3 ± 1.3	-	≤ 10 maggio
Nervosa foglia stretta <i>M. alba</i>	19.1 ± 0.7	13.5 ± 0.94	10.6 ± 0.8	medio	1.5 ± 0.3	+	≤ 20 maggio
Nervosa foglia larga <i>M. alba</i>	22.9 ± 2.1	10.6 ± 1.1	9.9 ± 1.4	medio	1.4 ± 0.1	+	≤ 20 maggio
Pyramidalis <i>M. alba</i>	16.5 ± 1.3	11.5 ± 1.3	2.8 ± 0.6	medio	0.9 ± 0.1	+	≤ 10 maggio
Kokka <i>M. multicaulis</i>	26.2 ± 2.2	12.9 ± 2.2	7.6 ± 2.7	facile	3.0 ± 0.3	+	≤ 20 maggio
Ichinose <i>M. alba</i>	29.3 ± 0.8	12.3 ± 1.5	10.0 ± 2.5	medio	2.7 ± 0.5	-	≤ 10 maggio
Rosou <i>M. multicaulis</i>	19.4 ± 2.6	9.2 ± 1.0	3.7 ± 0.7	medio	1.1 ± 0.1	+	≤ 10 maggio
Pendula <i>M. alba</i>	21.3 ± 2.3	10.3 ± 0.5	4.9 ± 1.1	medio	1.7 ± 0.2	+	≤ 10 maggio
Miura <i>M. alba</i>	22.8 ± 1.8	9.3 ± 0.8	8.6 ± 1.9	medio	1.9 ± 0.2	+	≤ 10 maggio
Kokusou 21 <i>M. alba</i>	30.2 ± 3.6	12.1 ± 2.0	7.2 ± 2.9	facile	2.5 ± 0.4	++	≤ 10 maggio
Kayriou wase juumonji (<i>M. alba</i>)	19.3 ± 8.0	11.5 ± 2.1	8.6 ± 2.4	difficile	2.2 ± 0.5	++	≤ 10 maggio
Cattaneo femmina <i>M. alba</i>	29.9 ± 2.4	11.0 ± 0.6	6.0 ± 4.1	difficile	2.6 ± 0.5	-	≤ 20 maggio
Korin (?)	23.2 ± 3.0	11.3 ± 1.0	11.5 ± 1.1	difficile	1.9 ± 0.5	-	≤ 10 maggio
Akagi	15.3 ± 3.4	10.4 ± 0.5	6.2 ± 3.0	difficile	1.2 ± 0.2	+	≤ 10 maggio
Shimanouchi <i>M. bombycis</i>	25.2 ± 4.0	10.4 ± 0.5	8.4 ± 2.1	facile	2.4 ± 0.4	+	≤ 20 maggio
Goshoerami <i>M. multicaulis</i>	23.7 ± 0.8	14.9 ± 0.7	7.6 ± 1.5	medio	2.0 ± 0.4	-	≤ 10 maggio
Kayriou nemizegaeshi	19.6 ± 1.1	10.9 ± 0.7	6.8 ± 1.3	medio	1.6 ± 0.2	+	≤ 10 maggio
Muki (?)	24.3 ± 1.9	11.6 ± 2.1	8.2 ± 2.7	facile	2.5 ± 0.5	-	≤ 10 maggio

Risorse Genetiche Forestali (RGF) - Monitoraggio e gestione in vista degli effetti del cambiamento climatico

CRA-SEL Centro di Ricerca per la Selvicoltura, Arezzo

FULVIO DUCCI, A. DE ROGATIS, PAOLO MERLINI, ANDREA GERMANI, GIORGIO VERDELLI, SILVIA CARNEVALE, ROBERTA PROIETTI

Introduzione

Le attività svolte dal CRA-SEL nel corso del 2011 nell'ambito del Progetto MiPAAF-RGV/FAO hanno riguardato la messa a punto di metodi affidabili per il rilievo e il monitoraggio fenologico di due specie, scelte come modello: il ciliegio selvatico (*Prunus avium* L.) e l'abete dei Nebrodi (*Abies nebrodensis* Lojac. Mattei). A partire da novembre 2011 l'attività è proseguita con l'aggiunta di una terza specie: la douglasia o abete americano (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco). Obiettivo delle indagini in corso è quello di verificare l'esistenza di variabilità per i caratteri adattativi e la presenza di plasticità fenotipica tra cloni e provenienze, relativamente alle date di inizio e fine del ciclo vegetativo, in relazione al cambiamento climatico.

Nel 2011, il metodo messo a punto negli anni precedenti è stato avviato a regime e, dopo i necessari aggiustamenti, è iniziato il monitoraggio fenologico di routine che, almeno nelle parcelle comparative clonali di ciliegio selvatico, è stato effettuato confrontando in parallelo 4 metodi di rilievo: 1) fenologia fiorale e del germogliamento; 2) registrazione dell'incremento del diametro del tronco con fascette incrementali permanenti; 3) *picking*, o monitoraggio dell'attività cambiale durante la stagione vegetativa, attraverso il prelievo e l'analisi a livello anatomico di micro-carote; 4) misurazione con metodo quantitativo colorimetrico del viraggio autunnale del colore delle foglie.

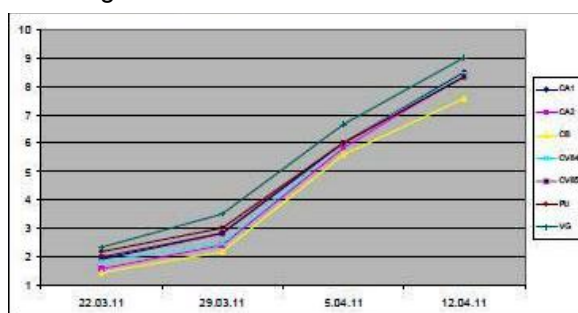
I dati ottenuti saranno correlati tra di loro e con i valori climatici delle aree sperimentali, per stimare non solo le date di inizio e conclusione delle fasi, ma anche il numero di CU (*Chilling Units*) necessarie alle diverse accessioni. Inoltre, sarà possibile verificare in maniera relativamente spedita, ripetibile, affidabile ed economica l'applicabilità dei metodi presi in considerazione

• *Prunus avium* L.

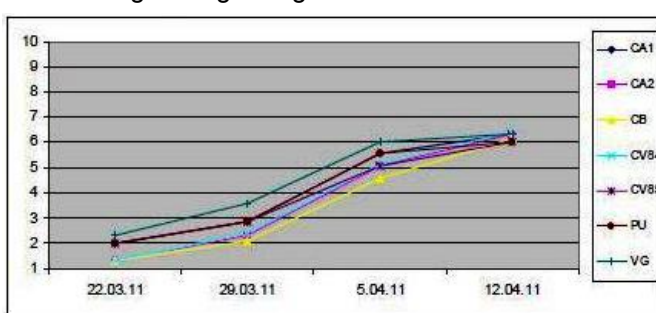
L'attività di monitoraggio per il ciliegio selvatico è stata effettuata sempre nelle parcelle sperimentali di Ravenna (Azienda Sperimentale "Mario Marani") e di Forestello (San Giovanni Valdarno, AR). Nelle due aree, realizzate nel 1986 e caratterizzate da condizioni pedo-climatiche diverse, vengono testati gli stessi

Marani (RA)

fenologia fiorale

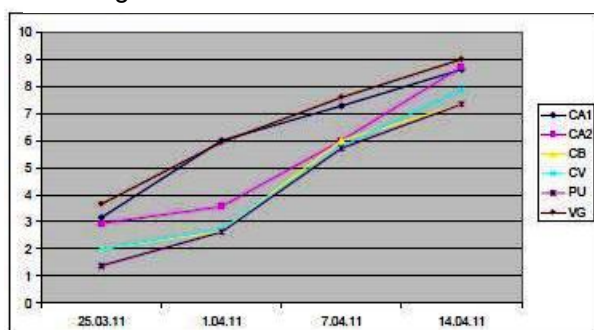


fenologia dei germogli



Forestello (AR)

fenologia fiorale



fenologia dei germogli

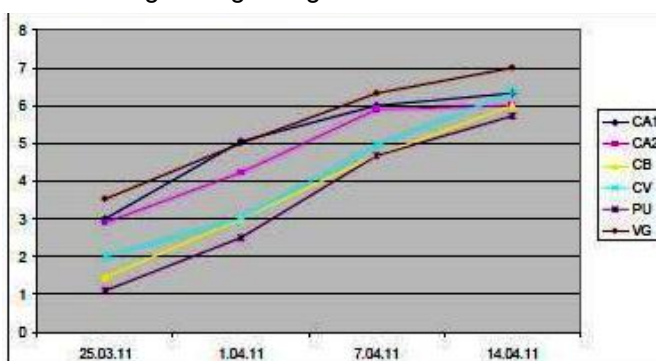


Fig. 1: Andamento della fenologia fiorale e dei germogli nei test clonali di ciliegio selvatico di Ravenna e Forestello (AR).

cloni di *P. avium* selezionati nell'Appennino Centrale: Colline Bolognesi (CB; Bologna); Villa Ghigi (VG; Bologna); Chiesa Vecchia (CV 84 e CV 85; Arezzo); Puzzolo (PU; Arezzo), Casina Alpe (CA 1 e CA 2; Arezzo).

I rilievi, eseguiti su un totale di 59 individui, come nel 2010, hanno riguardato la fenologia primaverile (antesi e sviluppo dei germogli vegetativi) e l'incremento del diametro del tronco (fascette incrementali permanenti). Dal 2011 è iniziato il monitoraggio di due nuovi parametri: la fenologia del cambio e il viraggio autunnale del colore delle foglie che, insieme all'incremento del diametro del tronco, verranno ripetuti anche nel 2012.

La fenologia primaverile è stata monitorata una volta alla settimana a partire dal 22.03.2011 e fino al 14.04.11, quando l'antesi dei fiori era completata ed erano visibili i frutti verdi, le foglie erano distese completamente e in alcuni cloni era cominciato l'allungamento del germoglio. In totale sono stati eseguiti 4 rilievi per ogni parcella, utilizzando il metodo dello *scoring system* (fiori: da 1 - gemme chiuse e perule appressate a 9 - presenza su tutta la chioma di frutti verdi; foglie: da 1 - gemme chiuse a 7 - foglie distese e germoglio in allungamento), con l'ausilio di tabelle visive già in uso presso CRA-SEL. Poiché il ciliegio selvatico ha fioritura di tipo acropeto, la chioma di ogni albero è stata suddivisa in tre zone (bassa, media, alta) e i dati sono stati raccolti per ciascuna area. I primi risultati, non ancora elaborati in attesa di effettuare un altro ciclo annuale di rilievi, sono riportati in Figura 1.

Sulle stesse piante, sempre a partire dal 22.03.2011 e fino al 08.11.11, per un totale di 13 rilievi (intera stagione vegetativa), è stata eseguita la lettura delle fascette incrementali ("UMS - D 1 Permanent Tree Girth Tape-measure"), applicate nella primavera del 2010). In Figura 2 sono riportati i risultati per il 2011 per l'area

sperimentale di Ravenna e quella di Forestello (AR).

Nelle stesse date in cui sono state lette le fascette incrementali, dai fusti degli individui in prova con il campionario "Trepfor" brevettato dall'Università di Padova sono state prelevate micro-carote di forma cilindrica (15 mm di lunghezza e 2 - 4 mm di diametro). Queste contengono la corteccia, il floema, il cambio e lo xilema. L'estrazione di micro-carote è una procedura poco invasiva che, quindi, consente di ripetere i prelievi durante tutta la stagione vegetativa, con danni limitati per la pianta, e di seguire lo sviluppo delle cellule cambiali, dei tessuti floematici e xilematici dalla ripresa vegetativa primaverile fino all'entrata in dormienza autunnale. Dalle micro-carote (conservate in soluzione al 50% di etanolo a 4°C) vengono ottenute micro-sezioni (10-15 µm di spessore) che, dopo colorazione con safranina-blue astra in acido

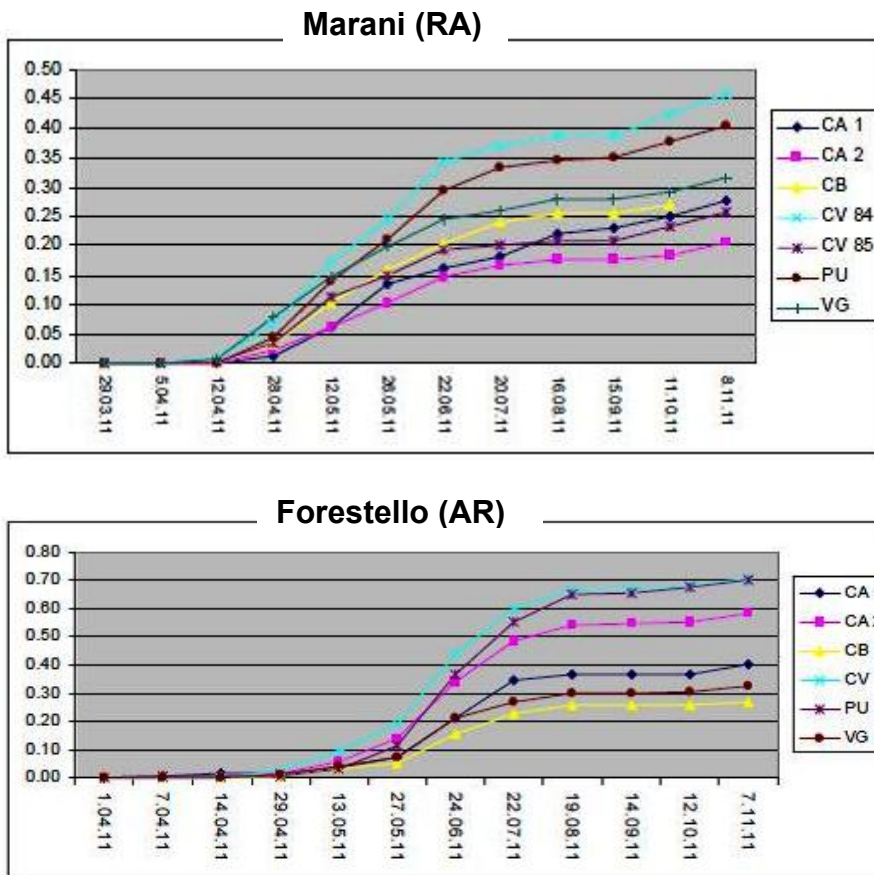


Fig. 2: Incremento del diametro del fusto nelle aree sperimentali di Ravenna e Forestello (AR) nel corso della stagione vegetativa

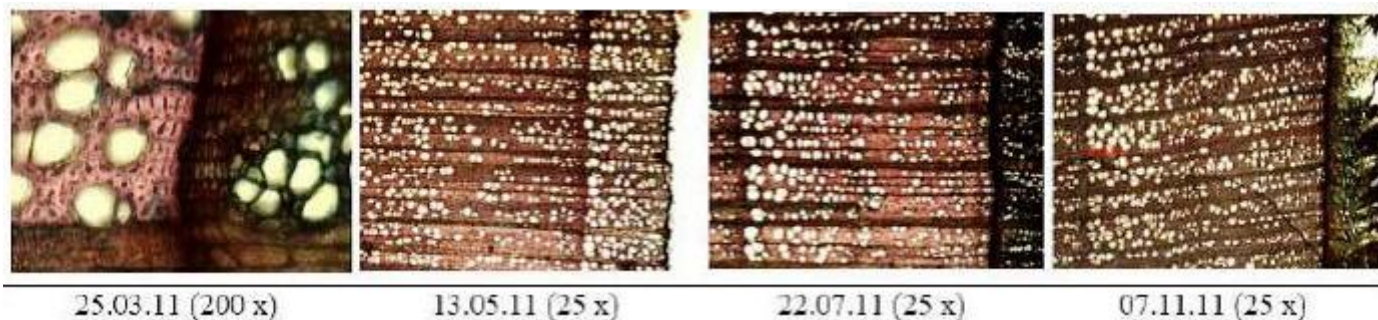
acetico, vengono osservate al microscopio ottico per il rilievo dei seguenti parametri:

- n. di raggi parenchimatici;
- n. totale di vasi (somma dei vasi suddivisi per tipo di aggregato - 1 cellula; 2 cellule; 3 cellule; > 4 cellule - da questa distribuzione si potrà ottenere un stima del numero di aggregati per settore stagionale - mm²);
- rapporto tra n. totale di vasi e superficie di nuovo legno prodotto fino a quella data;
- rapporto tra ciascuna delle classi di aggregazione e superficie;
- diametro dei vasi sempre suddivisi per tipologie di aggregazione.

L'analisi statistica di questi parametri permetterà di stimare il periodo di inizio e la lunghezza delle diverse fasi fenologiche, nonché di individuare le eventuali correlazioni con le variazioni dei parametri climatici, nel tempo e nello spazio.

Per cercare di monitorare l'attività del cambio lungo tutta la stagione vegetativa e per poterla correlare alla fenologia della chioma e all'incremento di diametro del fusto, da marzo a novembre 2011, sono stati effettuati 13 prelievi. I primi 4 sono stati eseguiti a distanza di una settimana, i successivi 3 a intervalli di 2 settimane e gli ultimi 6 ogni 4 settimane (Fig. 3).

Clone VR - Marani



Clone VG - Forestello

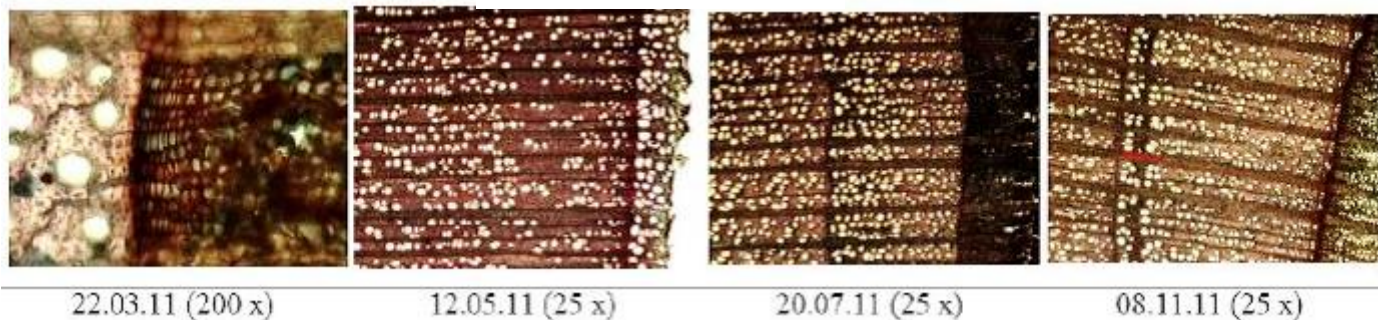


Fig. 3: Immagine al microscopio ottico di micro-sezioni ottenute da micro-carote prelevate dal clone VG a Marani e a Forestello nel corso della stagione vegetativa.

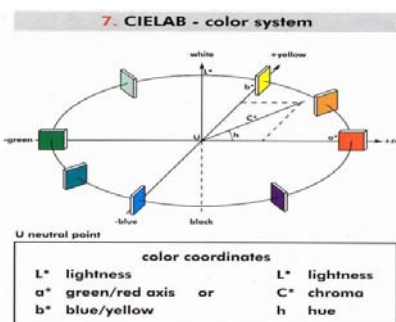
L'ultimo carattere osservato in questa stagione vegetativa per il ciliegio selvatico riguarda il viraggio autunnale del colore (in termini di valori quantitativi) delle foglie, utilizzato come parametro di stima dell'entrata in riposo vegetativo dei cloni in prova. L'acquisizione di questo valore è stata ottenuta tramite il colorimetro "MICROFLASH V4.0 – Datacolor international", che consente di stimare le coordinate cromatiche all'interno dello spazio colorimetrico tridimensionale CIELab. L'impiego di questo strumento consente di stimare i dati raccolti come caratteri quantitativi (Figura 4).

Vengono registrati i seguenti parametri:

- **L*** - luminanza. Misura la variazione della componente del colore lungo l'asse bianco/nero (z);
 - **a*** - esprime la variazione della componente del colore lungo l'asse verde/rosso (x);
 - **b*** - esprime la variazione della componente del colore lungo l'asse blu/giallo (y);
- DE** – (Delta-E) è la distanza tra due colori e fornisce un'indicazione sia della tonalità che delle variazioni di densità.



Fig. 4: Il colorimetro "MICROFLASH V4.0 – Datacolor International" e spazio colorimetrico Tridimensionale CIELab.



Il prelievo delle foglie è iniziato il 14.09.2011 ed è continuato fino al 06.12.2011, per un totale di 10 prelievi per ciascuna area sperimentale. Per ciascun albero (gli stessi utilizzati per il rilievo degli altri caratteri) sono state raccolte 5 foglie nello stesso settore della chioma e alla stessa esposizione.

• *Abies nebrodensis* Lojac. Mattei

Per quanto riguarda *A. nebrodensis*, è continuata l'attività di monitoraggio della fenologia primaverile nelle 4 aree sperimentali di:

- Pomaio (AR; 690m s.l.m.; anno di impianto 1994 e 2002). In questo sito sono conservati 123 innesti ottenuti dalle 29 piante madri rimaste nell'area di origine ("arboreto clonale");
- Caprile (AR; anno di impianto 1994). In questa area sono rimasti 16 innesti di 12 *ortet*;
- Papiano (AR; anno di impianto 1993). Al suo interno sono rimasti 13 semenzali ottenuti da un miscuglio di semi raccolto dalla popolazione madre nell'area di origine (Parco delle Madonie - PA);
- Viamaggio, in comune di Badia Tedalda (AR); anno di impianto 2008. Questa area sperimentale è costituita da due parcelle ("Viamaggio *Abies/ Quercus cerris*" e "Viamaggio *Abies/ Castanea sativa*"), all'interno delle quali sono stati impiantati i semenzali ottenuti dai semi raccolti nell'anno 2000, a Pomaio, dai *ramets* 1 e 22. Costituiscono un test di conservazione dinamica *ex situ* dove, nel corso degli anni, vengono inseriti nuovi genotipi, ottenuti a partire dai semenzali prodotti negli arboreti clonali di conservazione *ex situ* del CRA-SEL. L'obiettivo è quello di predisporre un modello di salvataggio del *gene pool* della specie/popolazione, ricreandone le dinamiche *ex situ*. Nella parcella "Viamaggio *Abies/ Q. cerris*" 24 semenzali di abete sono stati piantati, infatti, insieme 161 semenzali di *Q. cerris*, appartenenti a 3 provenienze dell'Italia centro-meridionale ("test all'aperto", sesto di impianto 6 x 6 m), mentre nella parcella "Viamaggio *Abies/ C. sativa*" 20 semenzali di *A. nebrodensis* sono stati piantati all'interno di un vecchio bosco di castagno ("test in foresta").

Il monitoraggio ha riguardato sia la parte vegetativa che quella riproduttiva. Il rilievo della fenologia primaverile è stato effettuato utilizzando le tabelle visive messe a punto da CRA-SEL, condivise nell'ambito del progetto europeo "Treebreedex" e utilizzando lo *scoring system*. Sono stati, perciò, raccolti i dati riguardanti:

- la gemma apicale;
- 4 gemme a legno, poste rispettivamente a N, S, E, W, a 1,30 m di altezza (dove possibile);
- gli amenti maschili;
- gli strobili femminili.

Il punteggio assegnato va da 1 (gemma dormiente) a 6 (germoglio in allungamento) per la parte vegetativa e da 1 (amento ancora in formazione) a 6 (amento ormai privo di polline e imbrunito) per i fiori maschili. Per i fiori femminili è difficile osservare le prime fasi di sviluppo a causa della loro posizione (sono generalmente localizzati nella metà superiore delle piante e si possono confondere con le gemme vegetative). Il rilievo della gemma apicale è stato effettuato separatamente poiché entra in vegetazione più tardi rispetto alle gemme della chioma.

I rilievi 2011 sono stati eseguiti una volta alla settimana in tutte le aree sperimentali, dal 22 marzo fino al 12 maggio (8 rilievi totali per ogni parcella), quando sia la parte vegetativa che quella riproduttiva avevano raggiunto la fase 6 (Foto 1-3).



Foto 1-3: Gemma apicale dormiente (fase 1); amenti maschili allungati, con polline immaturo (fase 3); coni femminili in allungamento (fase 3).

Nelle collezioni clonali di Pomaio e Caprile è stato possibile monitorare sia la fenologia delle gemme vegetative che di quelle a fiore. Nella prima, su 16 piante erano presenti amenti maschili e su due, la n. 22 (6 coni) e la n. 6 (1 cono), anche strobili femminili. Nella seconda su 7 piante erano presenti amenti maschili e, per la prima volta, il *ramet* n. 15, ha prodotto 1 strobilo femminile. Gli 8 coni sono stati raccolti a fine settembre 2011. A primavera 2011 la semina dei semi prodotti nel 2010 ha consentito di ottenere 106 piantine da 6 genotipi della popolazione siciliana.

Variabilità genetica

Nel corso di questa I annualità del III ciclo del progetto è stata svolta una buona parte delle ricerche sulla variabilità genetica con marcatori molecolari AFLP del materiale oggetto di studio:

- Pomaio: Piante madri repliche innestate di quelle esistenti *in situ*: 28 x 5 copie in media
- Com. Montana/CRA SEL: Papiano (Arezzo): 13 semenzali
- CFS Pieve Santo Stefano: 78 semenzali
- CRA SEL/CFS, Viamaggio, Parcella Dinamica *ex situ*, 1° generazione 2000:
- Pianta 1 Ogni campione è figlio della pianta 1: 26 semenzali.
- Pianta 22: 22 semenzali.

L'analisi genetica AFLP è stata effettuata dopo la frammentazione e ligasi attraverso due enzimi (EcoRI e MseI) e successive due fasi di amplificazione: quella pre-selettiva che è stata eseguita con i *primer* EcoRI+A e MseI+C, secondo il profilo di amplificazione PCR: 20 cicli a 94°C per 30 sec., 56°C per 60 sec. e 72°C per 60 sec; e amplificazione selettiva che è stata eseguita utilizzando differenti combinazioni di *primer* riportati in Tabella 1 con il seguente profilo di amplificazione: 94°C per 3', 13 cicli riduz. di 0,7° C ognuno la T annealing a 94°C per 30", 65°C per 30" e 72°C per 1', poi 23 cicli a 94°C per 30", 56°C per 60" e 72°C per 5', poi a 10°C.

Tab. 1: Combinazione dei *primer* selettivi impiegati per l'analisi AFLP effettuata sulle accessioni di Pomaio

Codice	Sigla	Sequenza	n. alleli	Bibliografia
E/4	EcoRI+ACG	GAC TGC GTA CCA ATT C_ACG	86	Wang <i>et al.</i> , 2003
	MseI+CCTC	GAT GAG TCC TGA GTA A_CC TC		
E/5	EcoRI+ACG	GAC TGC GTA CCA ATT C_ACG	81	Costa <i>et al.</i> , 2000
	MseI+CCGG	GAT GAG TCC TGA GTA A_CC GG		
E/7	EcoRI+ACG	GAC TGC GTA CCA ATT C_ACG	151	Wang <i>et al.</i> , 2003
	MseI+CCCA	GAT GAG TCC TGA GTA A_CCCA		
F/4	EcoRI+ACC	GAC TGC GTA CCA ATT C_AC C	94	Costa <i>et al.</i> , 2000
	MseI+CCTC	GAT GAG TCC TGA GTA A_CC TC		
F/5	EcoRI+ACC	GAC TGC GTA CCA ATT C_AC C	92	Costa <i>et al.</i> , 2000
	MseI+CCGG	GAT GAG TCC TGA GTA A_CC GG		
F/6	EcoRI+ACC	GAC TGC GTA CCA ATT C_AC C	92	Costa <i>et al.</i> , 2000
	MseI+CCTG	GAT GAG TCC TGA GTA A_CC TG		
G/5	EcoRI+ACA	GAC TGC GTA CCA ATT C_AC A	92	Costa <i>et al.</i> , 2000
	MseI+CCGG	GAT GAG TCC TGA GTA A_CC GG		

Le analisi sono state completate per la popolazione di origine, collezionata a Pomaio, formata da 33 piante. Su tale popolazione sono stati calcolati gli indici statistici propri degli AFLP:

Per stimare il livello di variabilità sono stati utilizzati

- numero di alleli per locus (**N°all**)
- il numero di alleli segreganti (**N° all segr-%**)
- il numero medio di alleli per individuo (**N°m a/in**)
- la dimensione media dell'allele (**D m all**)
- il numero dei frammenti polimorfici (**N° fram polim**)
- la percentuale di *loci* polimorfici (**PLP**)

Sono stati, inoltre, calcolati l'indice di Shannon, la varianza e la devianza standard della popolazione (**I**, **var(I)**, **std.dev**).

- I = 5.0352,
- var(I) = 0.1269,
- std.dev.= 0.3562

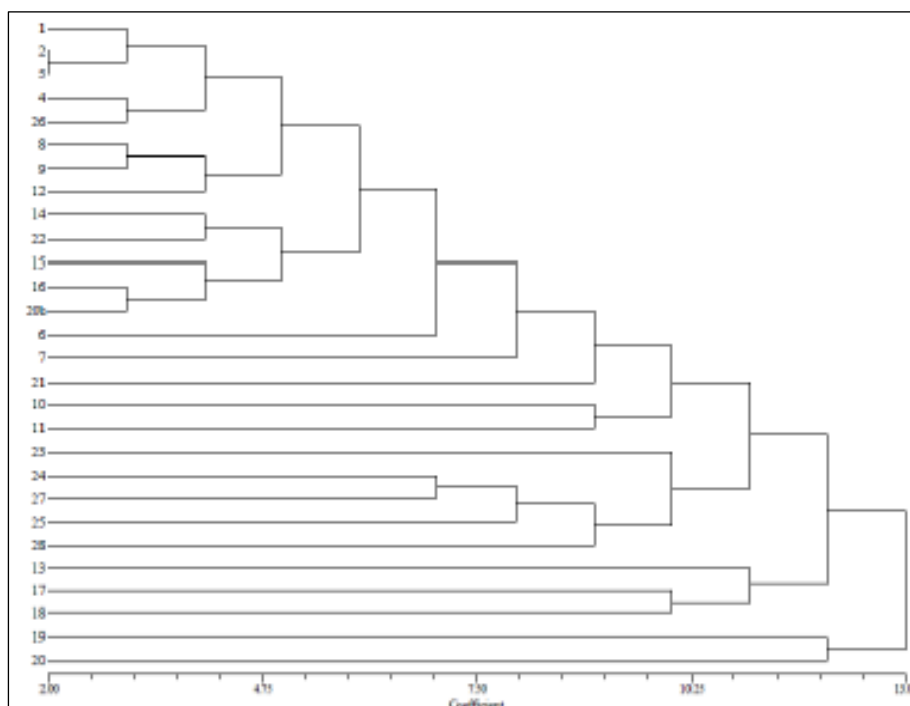
Sono stati valutati anche i seguenti indici di variabilità genetica (Tabella 2):

- eterozigotità attesa con il suo errore standard (**Hj-S.E**);
- varianza totale (**Var(Hj)**);
- componente della varianza dovuta all'individuo (**Varl(Hj)**);
- varianza dovuta all'individuo espressa in percentuale (**Varl%**);
- varianza dovuta ai loci (**VarL(Hj)**);
- varianza dei loci espressa in percentuale (**VarL%**).

Tab. 2: Indici di diversità genetica nella popolazione

Metodo	Hj	S.E.	Var(Hj)	Varl(Hj)	Varl%	Varl(Hj)	Varl%
Freq. Framm.	0,27	0,009	0,00008	0,00003	37,7	0,00005	62,3
Lynch e Milligan	0,21	0,208	0,00874	0,00008	19,3	0,00006	80,7
Bayesian I	0,24	0,008	0,00006	0,00002	32,9	0,00004	67,1
Bayesian II	0,22	0,008	0,00007	0,00002	26,9	0,00005	73,1

Le analisi indicano una strutturazione complessa in gruppi familiari. È, infatti, possibile individuare una “fascia esterna” di minore variabilità, sottoposta a intensa erosione genetica, e un “nucleo” di maggiore variabilità, da proteggere e gestire grazie ad un’appropriata selvicoltura del ceduo di faggio. La variabilità *in situ*, comparata alle popolazioni calabresi di abete bianco, è ancora alta. Il dendrogramma “Neighbor Joining”, raffigurante le relazioni esistenti tra le piante analizzate, è riportato in Figura 5.


Fig. 5: Dendrogramma “Neighbor Joining” raffigurante le relazioni esistenti tra le piante analizzate di *A. nebrodensis*.

È proseguita, infine, l’attività in vivaio al fine di produrre nuove piante e nuova variabilità. Nel mese di febbraio 2011 sono stati seminati in serra i semi ottenuti dai 90 coni raccolti da 7 *ramet* appartenenti a 6 *ortet* (1, 6, 13, 17, 18, 24) nella collezione di Pomaio nell’anno 2010. Sono stati ottenuti 109 semenzali.

Nei mesi di marzo e aprile 2011, sempre nella collezione di Pomaio, sono state raccolte marze per ottenere nuovi innesti dei *ramets* con un numero ridotto di ripetizioni. Gli innesti sono stati eseguiti nel vivaio del CRA-SEL e sono mantenuti in serra.

• *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco

La douglasia è una specie esotica di “recente” introduzione nel nostro Paese (fine del XIX secolo), caratterizzata da un areale naturale molto esteso, che comprende in tutto il nord-ovest del Nord America, dal Canada fino al Messico. L’ampiezza dell’areale, spesso frazionato, determina una grande variabilità genetica nella specie.

P. menziesii è altamente produttiva (incrementi annui di 20 ai 35 e talvolta 40 mc/ha) e, grazie all’elevata variabilità intra-specifica, ha un’ottima capacità adattativa. In Italia, tuttavia, a differenza di altri paesi europei, le potenzialità produttive della douglasia non sono state sfruttate e valorizzate, nonostante sia una specie idonea per l’arboricoltura di alta collina e di media montagna, capace di valorizzare terreni con bassa produttività.

Grazie all’elevata variabilità genetica che la caratterizza, nei prossimi anni, la douglasia potrà avere una certa importanza per le piantagioni in ambiente appenninico, dove gli effetti del cambiamento climatico cominciano a farsi sentire in maniera sensibile. Perciò, l’attività programmata per il III triennio del Progetto RGV/FAO riguarda lo studio dei meccanismi di interazione “genotipo x ambiente” e la messa a punto di metodi efficaci di monitoraggio dei principali caratteri adattativi, utili per la stima del comportamento relativo di ciascuna provenienza e per l’individuazione di materiali resistenti a estremi di siccità e/o di gelo.

I risultati attesi da questo studio dovrebbero consentire una valutazione più accurata a livello fisiologico sull’adattamento/resistenza e plasticità fenotipica a fattori di stress dei materiali biologici in prova, la stima del

comportamento relativo di ciascuna provenienza prescelta per i caratteri adattativi analizzati e, per ciascun carattere, la stima dell'interazione "provenienza x ambiente".

Vallombrosa (FI) e Faltona (AR) sono i due siti sperimentali di douglasia scelti per le analisi. Sono stati realizzati rispettivamente nel 1973 e nel 1974 nell'ambito della rete sperimentale europea IUFRO che, in 30 parcelle (di cui 22 ancora attive) distribuite in 6 nazioni, ha consentito di mettere a confronto 176 provenienze di *P. menziesii*. La disponibilità di reti sperimentali di lungo termine, che riflettono il comportamento delle varie provenienze per una lunga serie di anni, è particolarmente utile per questa indagine.

Nelle due aree di Faltona e Vallombrosa, diverse per altitudine, esposizione e micro-clima, erano state inserite 80 provenienze americane e 10 provenienze artificiali italiane (Appennino toscano e calabrese). Queste ultime derivano dai materiali di prima introduzione nel nostro Paese (da USA e Canada). A Faltona, a causa della gelata del 1985, tutte le provenienze costiere sono state danneggiate, mentre quelle più continentali sono sopravvissute.

Per le analisi sono state individuate 10 provenienze, risultate migliori nelle ricerche già svolte e più adattabili, 8 rappresentative delle regioni di provenienza americane (per individuare il *range* di variazione della specie da nord a sud) e 2 provenienze artificiali italiane:

- regione di Cascade Range (basse quote): provenienze 1080, 1096;
- regione di Northern Coast Range (basse quote, vicino all'Oceano): provenienze 1094, 1104;
- regione di Southern Coast Range (alte quote): provenienza 1137;
- area interna a Nord del 35° parallelo: provenienze 1162, 1167;
- area interna a Sud del 35° parallelo: provenienza 275-280;
- Italia – Appennino: provenienze I11 (Acquerino – Abetone-PT); I15 (Mercurella - CS).

A partire dall'autunno del 2011 è iniziata la verifica dello stato delle piantagioni di Faltona e Vallombrosa e il rilievo dendrometrico sugli individui presenti nelle parcelle (appartenenti sia alle provenienze scelte per lo studio, sia a quelle non scelte).

Per quanto riguarda l'indagine sulla fenologia del cambio, sono state scelte le 10 piante-campione di ogni provenienza da cui prelevare le micro-carote nel corso delle prossime due stagioni vegetative (2012 e 2013). Poiché nei test ciascuna provenienza è ripetuta in almeno 3 parcelle elementari di 25 individui, distribuite a *random* nell'area sperimentale, sono state selezionate almeno 3 piante per parcella elementare.

Sono stati effettuati dei prelievi preliminari lungo 4 linee (punti cardinali) nelle diverse provenienze per stabilire l'area del tronco "più idonea" per il monitoraggio della fenologia del cambio (Foto 4). Dopo l'analisi comparata dei campioni, è stato deciso di prelevare le micro-carote nella parte del tronco esposta a Nord.

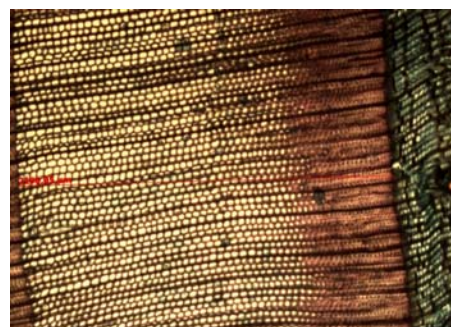


Foto 4: Sezione di *P. menziesii* al microscopio ottico (25 ingrandimenti).

Variabilità genetica

E' stata iniziata anche l'analisi genetica, che ha per obiettivi il riconoscimento delle provenienze italiane, caratterizzandone l'origine mediante comparazione con i materiali originali presenti in collezione, lo studio della variabilità genetica e della struttura genetica delle provenienze scelte, lo studio di eventuali relazioni, correlazioni, effetti con l'andamento climatico e con la diversità adattativa dei materiali e con i boschi da seme italiani (necessità di verificare i livelli di diversità), e di suggerire la miglior gestione colturale dei boschi analizzati. La definizione quindi delle popolazioni di origine più idonee alle aree appenniniche.

In questo primo anno è stata eseguita la necessaria indagine bibliografica. Si sta facendo la messa a punto del metodo di estrazione perché le piante sono troppo alte e non è possibile prelevare gli aghi, quindi il DNA viene estratto da piccole carotine cambiali ottenute con il campionatore "Trephor".

Sono stati selezionati in letteratura i *primer* riportati in Tabella 3:

Tab. 3: Primer scelti per l'analisi genetica delle accessioni italiane di *P. menziesii*

Locus	Forward primer, 3'-3'	Repeat motif	Optimal °T	N ^a	A'	Allele size
PmOSU2C3	AAAGACAACATTATGAAAGG TGGCGTAACAAATAAGAGAAA	(TC)24(AC)8	50(48-51)	35	25	163-251
PmOSU3D5	GGCATCCTATTTTTCATTTT GTGATTACCTAACTTGTGC	(TG)16(AG)26	50(48-51)	35	19	125-193
PmOSU 783	GAGCTGATGCCTTGAAGACT CAAGTCAGTTTACAATTCTCCT	(AT)5.. (AT)5	57 (56-59)	33	15	205-303
PmOSU2G12	AAGGACTCATATGGGAAA AACATCAGTAATAACCTTTT	(AC)11. (Ac),... (GcAc)5 ...(GCAC)4(AC)7... (Ac)6	51(48-51)	34	16	244-310
PmOSU3B2	CTTTGGAGTTCTTAATATAG GATAATAGCACCCCACCATA	(TG)22(cG)7	49(46-49)	32	27	88-176
PmOSU4A7	TTGTAAAAATTCCCATGTAT AAGTGGGGGAGTGTGTAAT	(TG)5... (TG)5. (cG)7(TG), ...(TG)29... (ATc)5	48(48-54)	34	30	196-340
PmOSU1F9	CCTCATGCATTGGACACTC GGATTCTTGAGCAGGTAGG	(AG)34	55 (52-57)	35	33	201-319

Il Protocollo di Amplificazione PCR che verrà testato è quello riportato dagli stessi Autori, a cui verranno fatte eventuali modifiche:

94°C per 10', 6 cicli (riduz. -1°C) di: 95°C per 30", T°annealing +7°C per 30", 72°C per 45', poi 32 cicli : 95°C per 30", T°annealing per 30", 72°C per 45", 72°C per 20', 10°C .

I primer verranno fatti correre in mix secondo le temperature di annealing:

Mix1: PmOSU_2C3 - 6 FAM, PmOSU_3D5- VIC, PmOSU_2G12 -PET

Mix2: PmOSU_4A7- NED, PmOSU_3B2 -6-FAM

Mix3: PmOSU_1F9- VIC , PmOSU_783- NED

L'attività svolta nel 2011 dalla "Rete Semi Rurali"

M.F. NONNE E R. BOCCI

Premessa

Nel 2011 la Rete Semi Rurali ha svolto le proprie attività nell'ambito delle 3 azioni, strettamente correlate tra loro, previste dal Progetto:

1. Divulgare e diffondere i temi del Trattato FAO;
2. Implementare in Italia l'articolo 6 del Trattato FAO sull'uso sostenibile della biodiversità agricola che include la sua valorizzazione;
3. Fornire supporto alla rappresentanza italiana a livello internazionale nell'ambito del Trattato FAO stesso e di convenzioni internazionali strettamente connesse con l'uso e la conservazione della biodiversità agricola.

Azioni 1 e 2

I temi del Trattato FAO e nello specifico del suo art.6 sono stati affrontati e divulgati attraverso azioni di formazione, informazione e divulgazione. Sono state utilizzate differenti modalità di comunicazione: interviste su programmi televisivi e radiofonici (ad esempio RAI 1, Radio 3 Scienza), aggiornamento continuo con eventi, notizie e articoli del Sito web: www.semirurali.net, invio a cadenza mensile di una Newsletter telematica, redazione, stampa e diffusione di materiali informativi e tecnici. Per quanto riguarda le pubblicazioni, sono state redatte, stampate e distribuite 2.200 brochure, 3 notiziari di 16 pagine (per una diffusione totale di circa 500 copie a numero), di cui il primo quasi interamente dedicato al Trattato FAO e alla riunione dell'Organo Direttivo (OD) del Trattato tenutasi a Bali nel marzo 2011, e distribuiti i kit composti dalle 21 schede dedicate a informare sugli aspetti legali e politici della Biodiversità agricola, e sulle pratiche agronomiche di selezione (conservativa e evolutiva), conservazione, trattamento e auto-riproduzione delle sementi.

Nel 2011 la Rete ha anche organizzato e partecipato a visite in aziende agricole e a 40 incontri territoriali. Le Regioni visitate sono state in totale 10: Piemonte, Sicilia, Puglia, Sardegna, Veneto, Lombardia, Toscana, Lazio, Molise e Marche. La discussione sulle politiche e legislazioni legate alla biodiversità agricola è avvenuta anche a livello europeo grazie alla partecipazione al IV seminario europeo "Liberiamo la Diversità" svoltosi in Ungheria, che ha visto la presenza nella sessione finale del Segretario del Trattato FAO. In

Ungheria sono stati 17 i paesi europei a confrontarsi nell'analisi delle politiche sementiere e di sviluppo inerenti la biodiversità agricola e l'implementazione del Trattato FAO.

Lo scambio di esperienze tecniche tra agricoltori europei è stato un altro degli assi di attività dell'associazione, che nel 2011 ha visto la realizzazione di una visita in Francia e in Spagna.

Le attività realizzate hanno permesso di garantire:

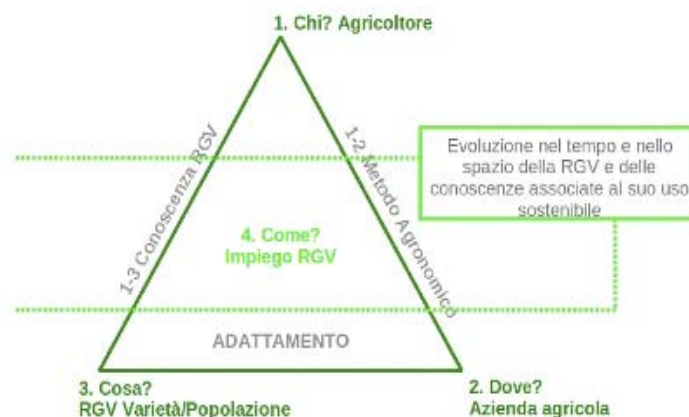
- il sostegno ai sistemi sementieri informali attraverso consulenza tecnica e politica a soggetti (agricoltori e non) attivi nell'uso sostenibile, valorizzazione e diffusione della biodiversità agricola;
- il rafforzamento della collaborazione con soggetti attivi nel campo della biodiversità agricola (per esempio ARSIAL, CRAB, ACRA) sulle azioni futuribili nell'ambito dell'uso sostenibile delle varietà locali, sulla ricerca partecipativa e l'attuazione delle politiche sulle varietà da conservazione;
- il supporto alla crescita delle interazioni tra società civile e istituzioni volte ad una maggiore inclusione degli agricoltori nei percorsi di uso e soprattutto valorizzazione delle risorse genetiche agricole;
- l'animazione degli agricoltori per la diffusione di metodologie e risultati delle prove sperimentali di selezione conservativa ed evolutiva;
- l'informazione e divulgazione sui temi del Trattato FAO;
- approfondire la conoscenza del territorio in relazione alla conservazione e uso sostenibile della biodiversità agricola;
- lo scambio di conoscenze tra agricoltori italiani ed europei grazie all'organizzazione di visite presso aziende agricole che usano e valorizzano le risorse genetiche locali;
- l'analisi e divulgazione delle politiche inerenti la diversità agricola a livello nazionale ed europeo (attraverso le riunioni periodiche del Coordinamento Europeo);
- il supporto a enti locali, società civile e referenti regionali della Sardegna e Sicilia nella realizzazione della legge regionale di tutela delle varietà e razze locali e varietà da conservazione;
- il monitoraggio continuo e un'adeguata informazione sulla nuova legislazione sulle varietà da conservazione (Legislazione, n° di Varietà da Conservazione iscritte al Registro Nazionale, modalità di iscrizione);
- la messa in condivisione delle esperienze istituzionali (Enti di Sviluppo, Regioni, Province) su politiche relative alla biodiversità agricola;
- l'analisi partecipativa, effettuata con gli agricoltori, delle criticità legate alla disponibilità di sementi di varietà locali o adattate a sistemi agroecologici (biologici, biodinamici e sostenibili) e lo studio di possibili soluzioni.

La Base Dati della Rete Semi Rurali

Merita particolare menzione il lavoro partecipativo svolto per la costruzione e implementazione della Base Dati della Rete (BD-RSR). L'esigenza della sua costituzione è nata dalle continue richieste di informazioni riguardo a sementi "differenti" per loro provenienza da quelle disponibili sul mercato italiano, adatte ad un'agricoltura di tipo convenzionale. Perciò coloro che fanno agricoltura biologica o biodinamica riscontrano sempre maggiori difficoltà a reperire sementi, talee e tuberi, adatte al loro ambiente e/o nel poter introdurre varietà e popolazioni su cui lavorare per un loro adattamento locale. Dal 30 ottobre 2011 è iniziata la fase di sperimentazione del suo funzionamento e attualmente si stanno testando le schede di raccolta dati insieme con agricoltori sostenitori della RSR al fine di un ulteriore adattamento finalizzato alla verifica della completezza dei dati raccolti, della loro utilità e comprensione. L'operazione ha riguardato le diverse tipologie di varietà e popolazioni. Gli obiettivi della BD-RSR sono:

- agevolare le informazioni su chi, dove, cosa e come mantiene le RGV;
- aumentare la diversità nei campi e sulla tavola;
- monitorare la diffusione all'interno di

Informazioni nella Base Dati RSR



- sistemi "informali" delle varietà tradizionali e non;
- innescare meccanismi di reciprocità attraverso lo scambio di materiali e informazioni e l'impegno delle persone coinvolte alla valutazione in campo delle varietà;
- innescare meccanismi "attivi e dinamici" di adattabilità-evoluzione tra varietà-territorio (fisico e sociale);
- validazione continua del metodo da parte dei partecipanti.

La BD-RSR (fig.1) è costituita da quattro parti relative a:

- 1-Soggetto detentore dell'informazione;
- 2-Azienda o Luogo di utilizzo dei materiali;
- 3-Varietà/popolazione "conosciuta" ;
- 4-Forme di impiego, o uso, della risorsa.

Particolare attenzione nella raccolta e lettura dei dati è stata data alla rintracciabilità dell'origine della risorsa, al suo uso e allo scambio, in sintesi alla storia dinamica delle RGV.

Azione 3

I risultati inerenti l'azione 3 hanno riguardato la divulgazione delle analisi delle politiche inerenti la diversità agricola a livello europeo dei 17 paesi partecipanti al Seminario Europeo "Let's Liberate Diversity" a Szeged in Ungheria nel marzo 2011. Inoltre il coinvolgimento di un esperto in politiche internazionali e diritti degli agricoltori nella delegazione italiana a supporto sia ai lavori di preparazione che all'esecuzione della IV riunione dell'Organo Direttivo (OD) del Trattato FAO ha permesso di monitorare continuamente i lavori dell'OD durante la sua IV riunione (14-18 marzo, Bali, Indonesia). Sul sito web (www.semirurali.net) e sul Notiziario si sono pubblicizzati i lavori e le risoluzioni prese dal Trattato a Bali.

Il database delle risorse genetiche vegetali

ENGEL P.¹, DE MARCO G.², FIDEGHELLI C.¹

¹CRA-FRU, Roma; ²Ministro per le Politiche Agricole, Alimentari e Forestali

Introduzione

Sono in corso gli ultimi lavori per l'avvio e la consultazione online dell'Inventario delle Risorse Genetiche Vegetali. Il catalogo, accessibile al sito <http://fru.entecra.it>, raccoglie informazioni su oltre 43.000 accessioni custodite presso 22 istituzioni CRA partecipanti al progetto RGV/FAO, nonché il Dipartimento di Biologia Applicata, Università degli Studi di Perugia, il Dipartimento di Scienze dei Sistemi Culturali e dell'Ambiente dell'Università degli studi della Basilicata e l'Istituto di Miglioramento Genetico e la Sperimentazione in Agricoltura "Nazzareno Strampelli" della provincia di Vicenza.

Sono attualmente comprese 317 specie appartenenti alle 8 tipologie di colture più importanti. Prevalgono, numericamente, i cereali e le specie legnose da frutto, seguite da specie di utilizzo foraggero, ortaggi e specie di utilizzo industriale, e, in numero minore, le specie ornamentali, medicinali e forestali (tabella 1).

Tab. 1: Tipo di colture, relativo numero di accessioni e UU.OO. che finora hanno contribuito all'Inventario

Tipo di coltura	UU.OO.	n. accessioni
Cereali	CRA-GPG, CRA-MAC, CRA-RIS, CRA-SCV, Uni PG, Istituto Strampelli	16.798
Ortaggi	CRA-ORA, CRA-ORL, CRA-ORT, Uni PG, Uni PZ	2.784
Frutta e Frutta secca	CRA-FRU, CRA-FRC, CRA-FRF, CRA-SCA,	12.266
Agrumi, Olivo e Vite	CRA-ACM, CRA-OLI, CRA-VIT, Uni PG	
Specie foraggere	CRA-FLC, Uni PG	7.142
Specie industriali	CRA-CIN, CRA-API, CRA-CAT, Uni PG	2.639
Specie ornamentali	CRA-FSO, CRA-SFM, CRA-VIV	509
Specie medicinali e aromatiche	CRA-MPF, Uni PG	303
Specie forestali	CRA-SEL	702
Totale		43.143

Descrittori e funzionalità

Il database, realizzato in collaborazione con un ingegnere informatico del MiPAAF, sarà dotato di una serie di nuove funzioni di ricerca. Infatti, il catalogo consentirà di effettuare o una ricerca semplice (per istituzione, genere, specie, nome dell'accessione, paese di origine, status biologico e status relativo all'inclusione nel



Sistema Multilaterale del Trattato) o una ricerca più complessa, combinando due o più di questi criteri per la selezione mirata delle accessioni di interesse. I dati ricercabili, per il momento, comprendono i 35 descrittori di passaporto elaborati e recentemente aggiornati da IPGRI/FAO, integrati di 3 ulteriori descrittori ritenuti utili per l'identificazione delle accessioni (tabella 2).

Le opzioni di ricerca comprenderanno, inoltre, la possibilità di focalizzare l'indagine sulle accessioni a seconda della tipologia di specie (cereali, ortaggi, fruttiferi etc). Per il futuro è previsto di aggiungere al database anche i descrittori di valutazione specie-specifici per rendere più completa la caratterizzazione del materiale conservato.

Interazioni a livello internazionale

Il database sarà il punto di partenza per il caricamento dell'inventario sul catalogo europeo EURISCO (<http://eurisco.ecpgr.org/>) e servirà come piattaforma principale per le informazioni legate alle accessioni incluse nel MLS del Trattato FAO e anche alle accessioni nella collezione europea AEGIS (<http://aegis.cgiar.org>).

L'auspicio è che, in futuro, si possano includere tutte le collezioni di germoplasma mantenuto in Italia, per una gestione e comunicazione coordinate relative al ricco germoplasma vegetale custodito e studiato in Italia.

Tab. 2: Descrittori di passaporto consultabili nell'Inventario (da: FAO/IPGRI, 2012)

Formali (aspetti legati all'istituzione che custodisce la collezione e alla gestione del materiale)

- Codice identificativo WIEWS dell'Istituto
- Numero dell'accessione, assegnato all'interno della collezione
- Provenienza del materiale/ fonte di reperimento
- Anno di inserimento dell'accessione nella collezione
- Tipo di mantenimento
- Disponibilità

Tassonomici e anagrafici relativi all'accessione

- Genere, specie e sottospecie, con rispettivo/i autore/i
- Eventuali sinonimie tassonomiche
- Nome comune della coltura (in italiano* e inglese)
- Nome/i dell'accessione
- Status biologico
- Paese di origine
- Anno di registrazione*
- Utilizzo della pianta*

Identificativi di materiale reperito da condizioni *in situ*

- Data di reperimento
- Codice WIEWS o descrizione di chi ha raccolto l'accessione
- Codice assegnato all'accessione durante l'attività di reperimento
- Luogo di reperimento; latitudine, longitudine, altitudine

Per materiale derivante da miglioramento genetico

- Codice WIEWS o descrizione del costituente
- Genealogia/ Pedigree

Identificativi per materiale ricevuto da una collezione *ex situ*

- Data di acquisizione
- Codice WIEWS o descrizione donatore
- Codice assegnato all'accessione presso la collezione del donatore

Altro

- Codice WIEWS o descrizione di chi mantiene eventuale duplicazione di sicurezza
- URL del sito dove è ulteriormente descritta l'accessione
- Status di inclusione dell'accessione nel MLS del Trattato FAO
- Status di inclusione dell'accessione nella collezione europea AEGIS
- Altro numero o codice associato all'accessione
- Commenti/ specificazioni

*informazioni aggiuntive a quelle stabilite da FAO/IPGRI

APPUNTAMENTI.....NAZIONALI

21 novembre, Bologna (BO): Presentazione delle Linee Guida per la conservazione e caratterizzazione delle Risorse Genetiche animali, microbiche e vegetali di interesse agricolo. Organizza Il Mipaaf, la Conferenza Stato Regioni, INEA ed il Gruppo di lavoro Biodiversità in Agricoltura. Regione Emilia-Romagna, Bologna.

.....INTERNAZIONALI

29-30 Ottobre, Venezia:

Progetto RISINNOVA – Workshop “Crop improvement in a changing environment: the RISINNOVA project for sustainable rice production in Italy”

Palazzo Cavalli Franchetti.

Web: http://sito.entecra.it/portale/public/documenti/flyer_finale.pdf

4-6 novembre, Naples (USA): XXI ISHS International Pepper Conference.

Web: <http://www.conference.ifas.ufl.edu/pepper2012>

12-16 novembre, Catania (CT): VI International Symposium on Brassicas and XVIII Crucifer Genetics Workshop. ISHS.

Info: Prof. Ferdinando Branca, DISPA, Uni CT

Web: <http://www.brassica2012.it/>

15-17 novembre, Bolzano (BZ): Interpoma. Fiera Internazionale per la coltivazione, conservazione e commercializzazione della mela.

Web: <http://www.fierabolzano.it/interpoma/>

18-23 novembre, Valencia (Spagna): ISHS International Citrus Congress

Web: <http://www.citruscongress2012.org/>

22-23 novembre, Oslo (Norvegia): Seminar “Genetic resources – a treasure trove for the future?”. Organized by the Norwegian Genetic Resource Centre and NordGen.

Web: http://www.skogoglandskap.no/filearchive/grfa_a_treasure_trove_for_the_future.pdf

4-7 dicembre, Vienna (Austria): 13^a Riunione dello *Steering Committee* dell'ECPGR.

Web: http://www.ecpgr.cgiar.org/steering_committee/13th_sc_meeting.html

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

Alessia Mellone

alessia.mellone@entecra.it