

RGL 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 XIII n. 1-2, novembre 2013

ISSN 1974-2738

Progetto RGV/FAO, attività svolta nel 2012

Le Unità Operative del progetto si sono riunite a Pontecagnano presso il CRA-ORT Centro di Ricerca l'Orticoltura il 21 e 22 marzo scorsi per presentare e discutere l'attività svolta e i risultati acquisiti nel 2012 e per discutere i problemi di carattere generale inerenti il Progetto.

Si coglie l'occasione per ringraziare il direttore dr. Teodoro Cardi e la dr.ssa Rosa Pepe e tutti i colleghi e personale del Centro per l'eccellente organizzazione dell'incontro che ha permesso di trascorrere le due giornate in modo proficuo e piacevole.

In questo numero doppio del Notiziario viene pubblicata una parte dei contributi presentati; le rimanenti relazioni saranno pubblicate sul prossimo numero.



Il CRA Centro di Ricerca per l'Orticoltura di Pontecagnano, sede ospitante della riunione del 2013



I partecipanti della riunione

Indice

Titolo della ricerca	U.O.	pag.
Cereali		
Valorizzazione della Biodiversità del Frumento Duro per la produzione di prodotti tradizionali nell'area del Mediterraneo	CRA-ACM, Catania	3
Caratterizzazione e valorizzazione di una collezione di frumenti pigmentati	CRA-CER, Foggia	7
Qualità alimentare e sicurezza di genotipi italiani di mais	CRA-MAC, Bergamo	10
Conservazione e caratterizzazione di una collezione di farro (<i>Triticum dicoccum</i> Schubler) e di spelta (<i>Triticum spelta</i> L.)	CRA-QCE, Roma	14
Conservazione , caratterizzazione e valorizzazione del germoplasma di riso dell'area temperata (<i>Oryza sativa</i> L. ssp. <i>japonica</i>)	CRA-RIS, Vercelli	17
Frumento tenero e monococco	CRA-SCV, Sant'Angelo Lodigiano	19
Colture Foraggere		
Caratterizzazione e valutazione di germoplasma di specie per l'alimentazione zootecnica	CRA-FLC, Lodi	22
Specie Frutticole e Agrumi		
Recupero e valorizzazione di accessioni frutticole <i>in situ</i> ed <i>ex situ</i>	CRA-FRU, Roma	26
Messa a punto di tecniche <i>in vitro</i> di conservazione del germoplasma per la salvaguardia della biodiversità di specie da frutto	CRA-FRU, Roma	29
Caratterizzazione varietale mediante marcatori molecolari di accessioni di <i>Prunus avium</i>	CRA-FRU, Roma	31
Polifenoli e attività antiossidante in drupacee e pomacee	CRA-FRU, Roma	33
Caratterizzazione bio-agronomica, molecolare e nutrizionale del germoplasma frutticolo campano	CRA-FRC, Caserta	36
Ricerca storico-documentale, caratterizzazione e valorizzazione del germoplasma frutticolo italiano e autoctono dell'Emilia-Romagna	CRA-FRF, Forlì	38
Raccolta , caratterizzazione e valorizzazione delle risorse genetiche vegetali riguardanti l'agrumicoltura	CRA-ACM, Catania	43
Specie Ornamentali		
L'attività svolta su Passiflora, Viburbo, Rosmarino	CRA-FSO, San Remo	45
L'attività svolta per il recupero delle rose selvatiche siciliane e per la valorizzazione dell' <i>Euphorbia x lomi</i>	CRA-SFM, Bagheria	48
Caratterizzazione , documentazione e valorizzazione di una collezione di germoplasma di <i>Limonium</i> spp.	CRA-VIV, Pesca	51
Ortive		
Reperimento , conservazione, caratterizzazione agronomica e molecolare, miglioramento genetico e diffusione in coltura di specie orticole autoctone dell'Italia centro-meridionale	CRA-ORA, Monsampolo del Tronto	54
Valutazione della stabilità morfologica in alcuni genotipi di pomodoro candidabili all'iscrizione al Registro Nazionale delle varietà vegetali	CRA-ORT, Pontecagnano	60
Piante aromatiche e medicinali		
Caratterizzazione agronomica, morfologica e qualitativa e valutazione di alcune specie medicinali e aromatiche	CRA-MPF, Villazzano	66
Vite		
Valorizzazione di vitigni locali (uve da vino e uve da tavola)	CRA-UTV, Turi	69

CEREALI

CRA- ACM Centro di Ricerca per l'Agricoltura e le Colture Mediterranee

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

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

Introduzione

Il frumento duro ricopre un ruolo fondamentale nel sistema agroalimentare italiano, sia dal punto di vista nutrizionale sia per gli aspetti economici e culturali. Negli ultimi anni è cresciuto l'interesse da parte dei consumatori verso gli aspetti qualitativi degli alimenti e pertanto il mercato è stato indirizzato verso prodotti salubri e ricchi di elementi nutritivi. Le proprietà nutrizionali dei prodotti derivati dalla trasformazione del frumento duro dipendono dalla composizione della cariosside, nelle cui parti tegumentali si trova concentrata la maggior parte dei microelementi contenuti nella granella, e dalle caratteristiche qualitative della materia prima utilizzata. Presso il CRA-ACM, nel corso del 2012 è proseguita l'attività di caratterizzazione e valorizzazione delle popolazioni siciliane di frumento duro attraverso il reperimento di nuove accessioni all'interno di antiche popolazioni siciliane di grano duro; la determinazione dei parametri fenologici, morfologici, agronomici, merceologici (e parte dei parametri qualitativi) delle accessioni seminate nell'annata agraria 2011/2012; lo studio della composizione delle proteine di riserva della cariosside di una parte dei genotipi; la determinazione del contenuto in microelementi in popolazioni siciliane e in varietà moderne; l'allestimento dei campi sperimentali (semina a novembre 2012) per la moltiplicazione e la caratterizzazione delle accessioni nel 2013; la schedatura informatizzata delle risorse genetiche di frumento duro.

Materiali e metodi

Nel corso dell'annata 2011/2012, presso l'azienda sperimentale del CRA - ACM di Libertinia (CT), sono stati allestiti campi sperimentali di valutazione di genotipi di frumento duro e sono state seminate, in parcelle di 10 m², 250 accessioni di frumento duro, rinnovando una parte della collezione di germoplasma per il mantenimento della vitalità delle sementi. La semina effettuata a novembre 2012 ha previsto anche la moltiplicazione di 12 popolazioni siciliane, oltre che in parcelle replicate, anche in blocchetti a file singole. Durante il ciclo biologico, le accessioni sono state sottoposte in campo ai principali rilievi bio-morfologici e fenologici, utilizzando i descrittori UPOV e IPGRI, utilmente impiegati per la caratterizzazione dei genotipi di *Triticum*. I dati bio-morfologici e fenologici rilevati su ciascun genotipo sono stati utilizzati per la compilazione delle schede informatizzate. E' stato effettuato lo studio della composizione delle proteine di riserva della cariosside di 70 genotipi, attraverso la determinazione delle sub unità gluteniniche ad alto e a basso peso molecolare, mediante tecnica SDS PAGE. E' stata determinata la qualità panificatoria di alcune popolazioni siciliane di grano duro, utilizzate per la produzione di pani tipici locali, rilevando indici colorimetrici, contenuto e qualità del glutine, indici reologici ed effettuando il *baking test*. E' stato infine determinato il contenuto in microelementi di 12 popolazioni siciliane e 12 cultivar moderne di grano duro mediante ICP-OES (Optima 2000 DV, Perkin Elmer, Italia).

Risultati e discussioni

I risultati relativi alla caratterizzazione morfologica hanno riguardato i seguenti descrittori: altezza della pianta, grado di pienezza del culmo, la forma della spiga, la lunghezza delle reste, la lunghezza del rachide e la forma della cariosside. Tutti i dati rilevati sono stati elaborati statisticamente per la ricerca delle componenti principali (PCA) (Fig. 1).

La distribuzione delle accessioni nel dendrogramma ha permesso di distinguere tre *cluster* (Fig. 2).

Il primo è caratterizzato da genotipi che si distinguono per la forma della cariosside e per le reste corte. Appartengono a questo cluster vecchie varietà, fatta eccezione per Biancuccia, che è un'antica *landrace* siciliana.

Il secondo *cluster* comprende le accessioni discriminate per l'altezza della pianta e in parte, per la pienezza del culmo e la lunghezza del rachide. Esso consiste esclusivamente di popolazioni siciliane.

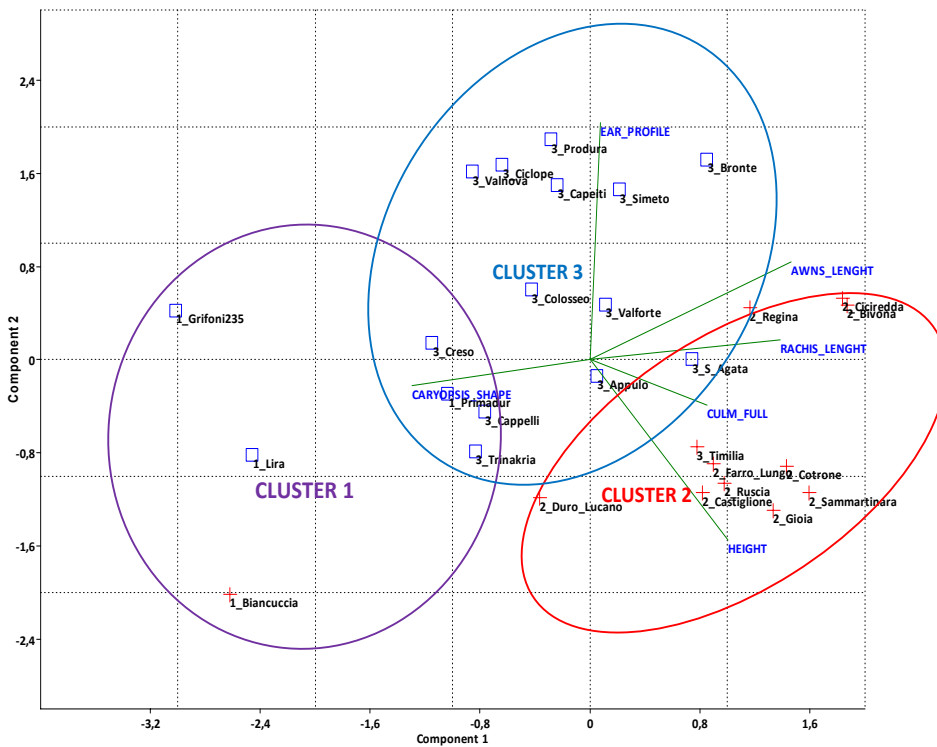


Fig. 1: Genotype x Trait biplot (PCA by "R" software)

Il terzo *cluster* è caratterizzato da accessioni che possiedono un profilo simile della spiga e una bassa statura. Vi appartiene la maggior parte delle varietà, fatta eccezione per Timilia.

Partendo da un'ampia collezione di varietà locali è stata condotta una sperimentazione comprendente 4 accessioni di Timilia e 9 di Russello, a confronto con 4 varietà testimoni, allo scopo di rilevare le principali caratteristiche qualitative della semola: contenuto in proteine, indici colorimetrici, contenuto e qualità del glutine, indici reologici, *baking test*.

Dai risultati delle analisi chimiche e del *baking test* sono emerse differenze significative sia tra le 4 accessioni di Timilia sia fra queste e le varietà testimoni (Tab. 1). Le accessioni di Timilia presentano un più elevato contenuto proteico e in glutine secco, ma un indice di glutine molto basso. I valori più elevati del volume del pane sono stati evidenziati dalle accessioni Timilia 03, Timilia 02 e Timilia 07.

Relativamente ai parametri reologici (Tab. 2), i risultati hanno permesso di evidenziare le peculiari caratteristiche delle accessioni di Timilia, che hanno presentato, in confronto con le moderne varietà testimoni, valori modesti di forza e stabilità dell'impasto, mostrando un'attitudine panificatoria particolarmente idonea alla produzioni di pani tipici locali.

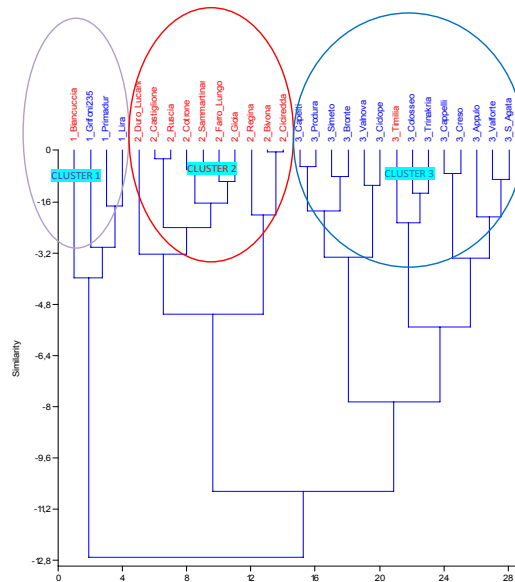


Fig. 2: Dendrogramma (metodo Ward)

Tab. 1: Principali parametri qualitativi e risultati del test di panificazione di accessioni di Timilia e varietà testimoni.

Accessione	Proteine (% s.s.)	Glutine secco (%)	Gluten index	Volume (cm ³)	Texture (1-8) ¹	Peso (g)
Timilia 02	15,8 ab	14,6 ab	1,8 d	492,5 a	6,0 bc	149,6 b
Timilia 03	14,9 c	13,4 b	4,6 d	510,0 a	6,0 bc	146,9 b
Timilia 07	15,3 bc	14,1 ab	41,1 b	477,5 a	5,0 c	164,5 a
Timilia SG1	16,4 a	15,0 a	23,6 c	297,5 c	8,0 a	166,0 a
Bronte	14,5 c	11,4 c	95,3 a	413,8 b	7,0 ab	150,5 b
Ciccio	13,6 e	9,5 d	82,9 a	426,3 b	6,0 bc	150,5 b
Platani	13,6 de	11,0 c	97,0 a	421,3 b	5,5 bc	149,7 b
Simeto	14,5 cd	11,7 c	96,6 a	406,3 b	4,5 c	150,1 b
Media	14,8	12,6	55,4	430,7	6,0	153,5
dev. standard	1,0	2,0	42,2	66,6	1,1	7,4

Tab. 2: Caratteristiche reologiche delle semole delle accessioni di Timilia e di varietà testimoni

Accessione	Alveogramma		Farinogramma			
	W (Jx10 ⁴)	P/L	Assorbimento idrico (%)	Sviluppo (sec.)	Stabilità (sec.)	Indice di caduta (U.B.)
Timilia 02	41,0	1,0	60,7	156	96	145
Timilia 03	34,0	1,0	58,9	156	90	141
Timilia 07	75,0	4,9	64,9	174	126	150
Timilia SG1	69,0	5,7	69,5	180	132	140
Bronte	165,1	1,9	60,9	156	302	62
Ciccio	173,0	2,1	61,2	166	254	65
Platani	193,4	1,8	59,9	180	322	65
Media Timilie	54,8	3,2	63,5	166,5	111,0	144,0
Media Tester	179,4	2,1	60,8	173,5	298,0	64,3
Media generale	117,1	2,6	62,2	170,0	204,5	104,1
dev. standard	68,5	1,7	3,4	13,6	102,9	42,7

Relativamente agli aspetti qualitativi, le accessioni di Russello in studio, pur riportando elevati contenuti in proteine, hanno presentato un glutine scarsamente tenace e molto elastico. Inoltre, rispetto alle moderne cultivar migliorate, sono stati formulati giudizi mixografici mediocri.

I risultati del *baking test* e della panificazione artigianale hanno dimostrato che la popolazione Russello è particolarmente adatta alla produzione del tipico pane a pasta dura degli Iblei.

Tab. 3: Principali parametri qualitativi di accessioni di Russello e varietà testimoni

Genotipi	Proteine (% s.s.)	Analisi mixografica			Glutine secco (%)	Gluten Index	Test SDS (m/L)
		Tempo d'impasto (s.)	Altezza picco (mm)	Giudizio (1-8)			
Accessione A	16,5	142,5	55,5	4,0	14,7	19,9	24
Accessione B	16,1	111,0	55,0	3,5	14,5	12,6	24
Accessione C	16,5	117,0	50,0	3,5	15,3	17,9	25
Accessione D	15,4	96,0	54,0	4,0			
Accessione E	17,0	96,0	53,5	3,5	14,4	16,8	24
Accessione F	15,9	97,5	48,5	3,0	15,0	16,3	23
Accessione G	16,3	108,0	47,0	3,0			
Acc. ACM1	18,0	189,0	65,0	5,0	15,0	58,1	30
Acc. ACM2	18,4	186,0	64,0	5,0	15,4	52,3	29
Media	16,7	127,0	54,7	3,8	14,9	27,7	25,6
dev. standard	1,0	37,2	6,3	0,8	0,4	19,0	2,8

Le cariossidi di 12 popolazioni siciliane e 12 varietà moderne sono anche state analizzate per la determinazione del contenuto in macroelementi e in Fe, Zn, Mn, Cu, Li e Sr (Tab. 4). Sono state

rilevate differenze significative riguardo la concentrazione dei micronutrienti nei due gruppi di genotipi in studio, in particolare per il Fe, lo Zn e lo Sr.

Tab. 4: Contenuto in microelementi (mg/100 g di s.s.) in popolazioni siciliane e varietà moderne.

	Fe	Zn	Mn	Cu	Li	Sr
pop. siciliane	5,3123	4,4171	4,4156	0,6947	0,2173	0,787
cv moderne	3,7008	3,8187	3,1596	0,6878	0,3728	0,5344
	***	*	***	ns	ns	***

L'analisi statistica dei dati (ANOVA e test HSD di Tukey) ha permesso di distinguere nettamente i due gruppi (Fig. 3). Tutte le popolazioni siciliane hanno mostrato una concentrazione di micronutrienti superiore a quella delle varietà moderne.

Il dendrogramma ottenuto consente di distinguere nettamente il cluster delle varietà da quello delle popolazioni siciliane.

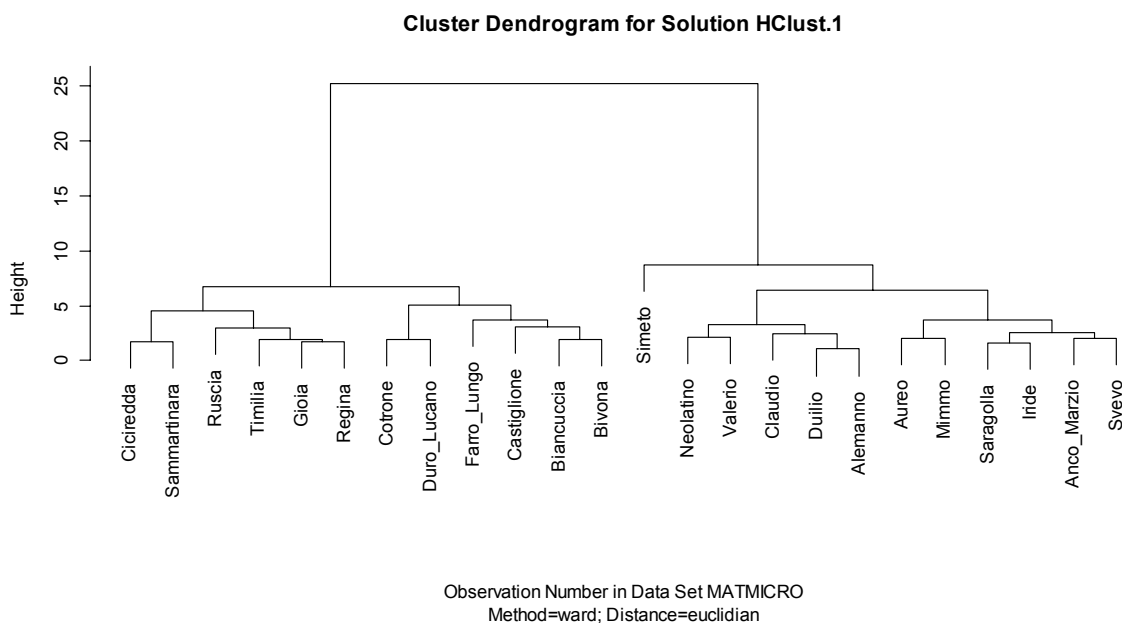


Fig. 3: Dendrogramma realizzato con il metodo Ward

Valorizzazione e diffusione dei risultati

Libertinia (Ct), azienda sperimentale cerealicola del CRA-ACM, 15 maggio 2012: visita guidata ai campi collezione germoplasma, in collaborazione con Assessorato Regionale Agricoltura ed Ente di Sviluppo Agricolo, con la partecipazione di tecnici, operatori della filiera e divulgatori.



CRA- CER Centro di Ricerca per la Cerealicoltura, Foggia

Caratterizzazione e valorizzazione di una collezione di frumenti pigmentati

DONATELLA B.M. FICCO, SALVATORE A. COLECCHIA, VANESSA DE SIMONE, IVANO PECORELLA, CECILIA DI PAOLA, PASQUALE DE VITA

Introduzione

L'Italia è uno dei maggiori produttori mondiali di pasta di grano duro (*Triticum durum* Desf.), destinando alla coltura una superficie di circa 1,2 milioni di ettari per una produzione totale annua di circa 4 milioni di tonnellate. Negli ultimi anni il crescente interesse da parte dei consumatori a favore di prodotti "integrali" a base di cereali ha dato nuovo impulso a iniziative e attività di ricerca e di sperimentazione dirette all'incremento del contenuto di sostanze a valenza nutrizionale della cariosside. La maggior parte di queste sostanze sono localizzate principalmente nelle parti tegumentali della cariosside e sono rappresentate da micronutrienti e sostanze antiossidanti, principalmente polifenoli e carotenoidi. L'attività antiossidante previene la formazione di radicali fungendo da *scavenger* (Young and Woodside, 2001) riducendo l'insorgenza di malattie come il cancro, l'aterosclerosi, l'artrite reumatoide, e altre ancora (Fang et al., 2002). Presso il CRA-CER di Foggia è disponibile una collezione di circa 80 accessioni di frumenti con pericarpo rosso, viola e blu (principalmente frumenti duri ma anche teneri). Nell'ambito del progetto è stata allestita una prova agronomica per valutare le principali caratteristiche agronomiche e qualitative con l'obiettivo di identificare genotipi ad alto contenuto in sostanze antiossidanti.

Materiali e metodi

Lo studio è stato condotto utilizzando una collezione di 76 genotipi di frumento duro e 4 di frumento tenero, comprendenti accessioni di diversa origine e provenienza (*landraces*, varietà obsolete, linee pure) e caratterizzati da una diversa colorazione del pericarpo (Figura 1). I materiali sono stati allevati in pieno campo a Foggia, secondo uno schema sperimentale a blocchi completi e randomizzato con tre repliche e parcelle da 10,2 m². I parametri morfo-agronomici come: altezza



Fig. 1: Frumenti utilizzati nella sperimentazione raggruppati in base al colore del pericarpo della granella: da sinistra a destra colore giallo (A, tenero), blue (B, tenero), rosso (C, tenero), giallo (D, duro) e porpora (E, porpora).

piante, lunghezza reste, colore ariste e glumette, lunghezza rachide, densità spiga e peso 1000 semi (TKW, g) sono stati determinati alla raccolta mentre sui campioni di granella macinati, utilizzando un molino da laboratorio (Tecator Cyclotec 1093) sono state condotte le determinazioni analitiche. In particolare, la determinazione del contenuto di antociani totali è stata eseguita

seguendo il protocollo descritto da Hosseinian et al. (2008), mentre la concentrazione dei pigmenti carotenoidi è stata determinata utilizzando il metodo proposto da Beleggia et al. (2010). Per il contenuto in ceneri è stato utilizzato il metodo UNI ISO 2171, mentre per il tenore proteico della granella è stato seguito il metodo Kjeldahl 46-13 (AACC 2000). La determinazione dell'indice di sedimentazione in SDS, invece, è stata realizzata utilizzando il metodo UNI 10277.

Risultati e discussione

I risultati riferiti ai principali parametri morfologici dei materiali presi in esame hanno fatto registrare una notevole variabilità fenotipica (dati non riportati). L'altezza media delle piante ha fatto registrare valori compresi tra 80 e 135 cm. Valori molto variabili sono stati osservati anche per: i) il peso di 1000 semi, per il quale i valori medi hanno oscillato tra 30 e 63 mg; ii) la lunghezza della spiga, in questo caso i valori sono stati compresi tra 4 e 13 cm e iii) la densità della spiga (rapporto tra la lunghezza del rachide e il numero di cariocidi per spiga) che hanno mostrato un intervallo di valori compresi tra 0,4 e 0,7.

In tabella 1 sono riportati i risultati dei principali parametri qualitativi registrati nell'annata agraria 2011-12. Il contenuto di antociani nei frumenti duri ha oscillato tra 0,13 e 44,08 ppm mentre per i pigmenti carotenoidi i valori medi sono stati compresi tra 5,26 e 8,68 ppm. Se confrontiamo i valori dei frumenti colorati con quelli delle varietà commerciali di frumento duro, impiegate come testimoni, i risultati della sperimentazione hanno fatto registrare in questi ultimi la completa assenza di pigmenti antocianici mentre il livello dei carotenoidi è stato estremamente più elevato rispetto a quello dei frumenti pigmentati. Per i frumenti teneri a pericarpo blu il contenuto di antociani è stato molto più elevato (118 ppm) rispetto ai frumenti tetraploidi e alla varietà commerciale di frumento tenero presa come riferimento (0,79 ppm), mentre i valori medi di carotenoidi della granella sono risultati simili.

Tabella 1. Statistiche descrittive dei caratteri analizzati a Foggia nell'annata agraria 2011-12.

	Antociani [§] (ppm)	Carotenoidi [‡] (ppm)	Proteine (% s.s.)	Volume sedimentazione in SDS (ml)	Ceneri (% s.s.)
<i>T. durum</i> (media)	14,31±1,11	6,17±0.07	14,98±0.15	2,84±0,04	2,22±0,01
Range	0,13-44,08	5,26-8,68	12,47-18,38	2,18-3,86	1,98-2,59
Testimoni cv. duro	0,0	10,0	13,50	3,10	2,10
<i>T. aestivum</i> (media)	118,37±28,29	6,13±0.59	13,54±0.56	4,35±0,26	2,31±0,08
Range	82,75-174,27	5,00-7,00	12,75-14,64	4,09-4,87	2,16-2,45
Testimoni cv. tenero	0,79	4,49	11,90	3,10	2,00

[§]espressi come cianidina 3-glucoside; [‡]espressi come β-carotene

Secondo quanto riportato in letteratura, i risultati riferiti al contenuto di antociani ottenuti in questa valutazione preliminare sono in accordo con quanto riportato recentemente da Abdel-Aal et al. (2006), sia per i frumenti a granella rosso-porpora che a granella blu.

Per quanto riguarda le altre determinazioni qualitative, sui campioni di granella provenienti dalla sperimentazione è stato determinato il contenuto in proteine e l'indice di sedimentazione in SDS (indicatore della qualità e quantità del glutine) al fine di ottenere informazioni aggiuntive sull'attitudine di questi materiali ad essere trasformati in pasta, pane e/o prodotti da forno. In questo caso i valori di proteine nei frumenti duri sono stati mediamente più alti (14,9 % s.s.) rispetto a quelli dei frumenti teneri (13,5 % s.s.), mentre i valori di SDS hanno avuto un comportamento opposto; i valori di SDS per i frumenti duri sono stati mediamente più bassi (2,84 ml) rispetto a quelli dei frumenti teneri (4,35 ml). Tuttavia all'interno della collezione l'intervallo di oscillazione dei valori medi di SDS ha permesso di identificare delle accessioni di frumenti pigmentati con valori superiori a quelli delle varietà di frumento duro commerciali (3,8 vs 3,1 ml) mentre nel caso dei

frumenti teneri a granella blu i valori medi sono stati superiori rispetto alla varietà commerciale di riferimento (4,8 vs 3,1 ml). La collezione di frumenti pigmentati ha fatto registrare anche un contenuto di ceneri più elevato rispetto alle varietà commerciali di riferimento, sia per il frumento duro (2,22 vs 2,10%) che per il frumento tenero (2,31 vs 2,00%).

Conclusioni

In generale, la caratterizzazione fenotipica condotta ha permesso di evidenziare una forte componente genotipica dei caratteri presi in esame. Ciò rende possibile il lavoro di selezione e di miglioramento genetico al fine di ottenere nuovi materiali migliorati anche per altre caratteristiche tecnologiche oppure da destinare alla produzione di alimenti ad alta valenza nutrizionale a base di cereali. Sulla base delle informazioni fenotipiche collezionate nel corso della sperimentazione, infatti, sono stati identificati due genotipi pigmentati, uno di frumento duro ed uno di tenero per i quali è attualmente in fase di allestimento una serie di attività di pastificazione/panificazione per la valutazione reologica e sensoriale dei prodotti finiti.

Bibliografia

- Abdel-Aal, E.-S.M., Young, J.C., Rabalski, I., 2006. Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains. *J. Agric. Food Chem.* 54, 4696-4704.
- Beleggia, R.; Platani, C.; Nigro, F.; Cattivelli, L., 2010. A micro-method for the determination of Yellow Pigment Content in durum wheat. *Journal of Cereal Science* 52: 1 106-110.
- Fang, Y.Z., Wu, G., 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition* 18, 872-879.
- Hosseinian, F.S., Li, W., Beta, T., 2008. Measurement of anthocyanins and other phytochemicals in purple wheat. *Food Chemistry* 109, 916–924.
- Li, W., Shan, F., Sun, S., Corke, H., & Beta, T., 2005. Free radical scavenging properties and phenolic content of Chinese blackgrained wheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(22), 8533–8536.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16, 144-158.
- UNI ISO 10277: 1993. Grano duro. Determinazione dell'indice di sedimentazione. Metodo sodio-dodecil- solfato (SDS).
- UNI ISO 2171: 2007. Determinazione delle ceneri nei cereali, destinati ad uso alimentare.
- Young, I.S., Woodside, J.V., 2001. Antioxidants in health and disease. *J. Clin. Pathol.* 54, 176-186.

CRA-MAC Unità di Ricerca per la Maiscoltura, Bergamo

Qualità alimentare e sicurezza di genotipi italiani di mais

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

Introduzione

Le attività di ricerca all'interno del progetto RGV-FAO si sono indirizzate, nel terzo triennio, alla caratterizzazione di genotipi tradizionali di mais, sia dal punto di vista dei costituenti chimici della cariosside, sia in termini di resistenza o suscettibilità all'attacco di patogeni fungini.

Il germoplasma preso in considerazione per questo studio comprendeva sia varietà (VA), provenienti da Lombardia e Veneto, sia linee inbred (Lo), selezionate a partire da popolazioni locali. Le varietà 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 recuperati in alcune zone e riproposti per la 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; risulta perciò interessante caratterizzare questi materiali da un punto di vista della salubrità e del valore nutrizionale. Le linee Lo, caratterizzate per la composizione chimica della granella, sono state scelte all'interno di un gruppo di materiali che già negli anni scorsi si erano dimostrati interessanti dal punto di vista agronomico e di resistenza a patogeni.

A) Varietà

Nel 2012 è stato ripetuto l'esperimento condotto in campo l'anno precedente. Ventisette varietà italiane di mais sono state caratterizzate per resistenza o suscettibilità ai patogeni fungini 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 in tre punti, una sospensione di spore fungine (10^6 spore/ml) appartenenti a due ceppi di *F. 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* (NCK), definendo tre classi in base al numero di cariossidi contaminate, come riportato in Tabella 1.

L'analisi quantitativa del contenuto in fumonisine totale (FB1, FB2, FB3) viene effettuata mediante immunodosaggio enzimatico competitivo con kit RIDASCREEN® Fumonisin della R-biopharm (Berardo et al., 2011, Food Additives and Contaminants: Part B, 4 (2): 116-124).

Anche per quanto riguarda il contenuto (espresso in ppb- $\mu\text{g}/\text{kg}$) in fumonisine dei materiali inoculati, sono state individuate tre classi (Tabella 1).

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

Classe	Numero cariossidi con micelio (NCK)	Contenuto Fumonisine (ppb- $\mu\text{g}/\text{kg}$)
basso (B)	0-30	$< 10^4$
medio (M)	31-60	$10^4 \geq 10^5$
alto (A)	>60	$10^5 \geq 2 \times 10^5$

La maggior parte delle varietà ha mostrato un livello di suscettibilità al patogeno basso o medio; solo le varietà VA 67 e VA 111 hanno mostrato un valore di NCK superiore a 60 (Tabella 2).

Tabella 2. Varietà valutate con inoculo artificiale (*F. verticillioides*) nel 2012

Varietà	NCK*	Varietà	NCK
VA 56	B	VA 109	M
VA 62	B	VA 111	A
VA 63	B	VA 112	M
VA 65	B	VA 113	M
VA 66	M	VA 114	M
VA 67	A	VA 121	B
VA 68	B	VA 553	M
VA 69	B	VA 572	M
VA 70	B	VA 904	B
VA 74	B	VA 1196	B
VA 83	B	VA 1269	M
VA 89	M	VA 1304	B
VA 90	B	VA 1306	B
VA 108	M		

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

Di particolare interesse è risultato il confronto di questi dati coi risultati del 2011, soprattutto in considerazione del fatto che l'andamento meteorologico nei due anni è stato molto diverso. Nel 2012, infatti, le precipitazioni sono state più abbondanti rispetto all'anno precedente, ma distribuite soprattutto nella fase primaverile, mentre sono risultate assai scarse nei mesi estivi; questa situazione, in aggiunta alle temperature elevate (superiori alle medie degli ultimi 50 anni), ha causato per le piante una condizione di forte stress.

Cinque varietà (VA 62, VA 63, VA 83, VA 1304 e VA 1306) hanno mostrato in entrambi gli anni, in seguito all'inoculo con *Fusarium*, un numero ridotto di cariossidi con micelio evidente. Queste varietà appaiono caratterizzate da bassa suscettibilità all'invasione del patogeno, e sono state perciò considerate interessanti come materiali di partenza per lo sviluppo di alimenti a base di mais. D'altro lato, le varietà VA 67, VA111, VA 553, VA 572 e VA 1269 hanno mostrato, almeno in un anno, un numero elevato di cariossidi infettate, rivelandosi quindi più suscettibili al *Fusarium*. Queste varietà vengono perciò considerate, in via preliminare e in attesa di ulteriori verifiche, meno adatte all'utilizzo per la produzione di alimenti a base di mais.

La determinazione del contenuto in fumonisine nei campioni 2012 è in fase di completamento.

Un parametro interessante collegato alla valutazione delle varietà per la resistenza a *Fusarium* è la misura della capacità antiossidante totale (Total Antioxidant Capacity, TAC) dei campioni. Gli antiossidanti sono una classe di composti che, se assunti con la dieta, contribuiscono a proteggere le cellule dall'attacco dei radicali liberi e a prevenire una serie di gravi malattie. Nella pianta essi risultano coinvolti nella difesa da patogeni fungini e contrastano la produzione di tossine (Boutigny et al., 2008, European Journal of Plant Pathology 121: 411-413). In particolare, studi recenti hanno dimostrato che la sintesi di composti antiossidanti aumenta in plantule di mais in seguito a inoculo artificiale dei semi con *F. verticillioides* (Pereira et al., 2011, Applied Soil Ecology 51:52-59).

La capacità antiossidante totale dei differenti genotipi è stata determinata usando il metodo diretto descritto da Serpen et al. (2008, Journal of Cereal Science 48: 816-830) con alcune modifiche. I campioni di farina (10 mg) sono stati messi a contatto sotto agitazione per 50 minuti a 25 °C con una soluzione radicalica di acido 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic (ABTS) avente OD iniziale (734 nm) = 0,7. Al termine della reazione la capacità antiossidante totale è stata calcolata mediante lettura a 734 nm dell'assorbanza ed espressa in mmoli di equivalenti di trolox (TE) per Kg di sostanza secca. Ogni risultato è la media di tre diverse reazioni, valutate in doppio.

Le varietà analizzate hanno mostrato valori di TAC molto diversi tra loro: per i campioni inoculati con spore fungine si andava da un minimo di 13,28 mmol TE/Kg s.s. (VA83) a un massimo di 24,40 mmol TE/Kg s.s. (VA1269). I valori medi dei tre trattamenti (open, inoculo con acqua e con *F. verticillioides*) sono stati rispettivamente $15,02 \pm 2,4$; $15,21 \pm 2,2$ e $16,43 \pm 2,4$ mmol TE/Kg s.s. Il confronto tra i valori dei campioni open, trattati con acqua e trattati con *F. verticillioides* di ogni varietà è mostrato in Figura 1.

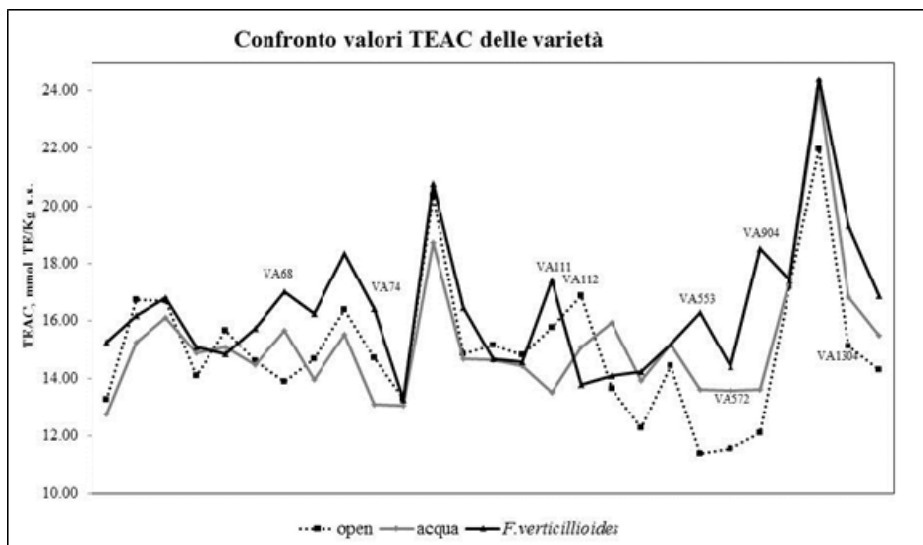


Fig. 1 Confronto tra capacità antiossidante totale dei campioni open, inoculati con acqua sterile e con spore fungine.

B) Linee inbred (Lo): potere nutrizionale potenziale

Tredici linee inbred tradizionali (Lo), selezionate per caratteristiche agronomiche e già testate in campo per la resistenza a *Fusarium*, sono state moltiplicate nel corso del 2011 mediante autofecondazione; da una serie di incroci tra le stesse linee sono state ottenute piante F1. Subito dopo la raccolta e la macinazione delle spighe, sia quelle autofecondate che quelle F1, era stata effettuata una determinazione preliminare del contenuto in carotenoidi mediante lettura allo spettrofotometro. Nel corso del 2012 la composizione in carotenoidi è stata determinata in maniera più precisa con l'analisi quantitativa dei carotenoidi, realizzata mediante RP-HPLC come descritto da Hidalgo et al. (Journal of Cereal Science 44, 182-193, 2006). Un volume di 50 µL è stato iniettato in una colonna Grace-Vydac 201TP54 C18, 250 x 4.6 mm, 5 µm, con metanolo: THF (95:5) come fase mobile. Il contenuto in carotenoidi è stato determinato a 445 nm. Curve di calibrazione specifiche sono state costruite per luteina, zeaxantina, β-criptoxantina e β-carotene; quest'ultima curva è stata usata anche per la determinazione dell'α-carotene.

La Figura 2 rappresenta la distribuzione percentuale dei singoli carotenoidi (luteina, zeaxantina, β-criptoxantina e β-carotene) nelle linee Lo e negli incroci realizzati nell'estate 2011. Il componente principale in queste linee è la zeaxantina (in media il 53% dei carotenoidi totali), seguita da luteina (34%) e β-criptoxantina (11%). Piuttosto ridotto, invece, il contenuto in β-carotene, rispetto a

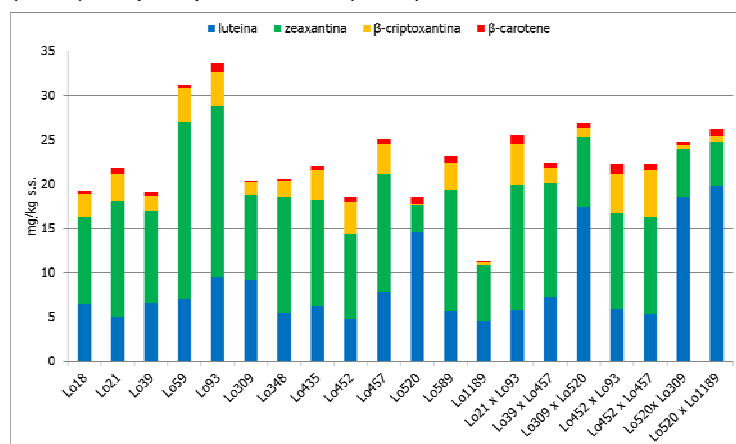


Figura 2. Distribuzione del contenuto di luteina, zeaxantina, β-criptoxantina e β-carotene nelle linee Lo e negli incroci del 2011.

quanto osservato precedentemente da altri autori in linee pubbliche di riferimento. La linea Lo520, che è caratterizzata da cariossidi farinose, ha mostrato avere una composizione in cui predomina la luteina, mentre la percentuale di β-criptoxantina è bassa; questa particolarità si ritrova negli incroci in cui la linea Lo520 è presente come parentale.

La Tabella 3 riporta il contenuto in carotenoidi totali nelle linee riprodotte nel 2011, che hanno mostrato un "range" compreso tra 11,36 (Lo589) e 33,63 mg/kg s.s. (Lo93). Negli incroci tra le linee, il "range" risultava essere

compreso tra 22,40 (Lo39 x Lo457) e 26,60 mg/kg s.s. (Lo520 x Lo1189).

Considerando la somma delle componenti che contribuiscono alla provitamina A, e cioè β -criptoxantina, α -carotene e β -carotene, la percentuale di questa frazione sul totale variava tra 6,7% (Lo520) e 22,9% (Lo452) nel gruppo delle linee e tra 5,1% (Lo520 x Lo309) e 27,1% (Lo452 x Lo457) nel gruppo degli ibridi.

Tabella 3. Contenuto in carotenoidi totali e percentuale di pro-vitamina A nelle linee Lo e negli incroci (campo 2011)

Linea	Carot. totali mg/kg ss	% pro vitamina A*	Linea	Carot. totali mg/kg ss	% pro vitamina A	Cross	Carot. totali mg/kg ss	% pro vitamina A
Lo18	19,28	15,8	Lo435	22,02	17,5	Lo21 x Lo93	26,26	24,1
Lo21	21,81	16,8	Lo452	25,10	22,9	Lo39 x Lo457	22,40	10,5
Lo39	19,11	11,3	Lo457	18,83	16,1	Lo309 x Lo520	27,24	7,4
Lo59	31,17	13,6	Lo520	23,24	6,7	Lo452 x Lo93	22,47	25,7
Lo93	33,63	14,2	Lo589	11,36	16,8	Lo452 x Lo457	22,27	27,1
Lo309	20,51	8,5	Lo1189	19,28	3,8	Lo520 x Lo309	25,81	5,1
Lo348	20,60	10,2				Lo520 x Lo1189	26,60	6,9

*Pro-vitamina A = β -criptoxantina + α -carotene + β -carotene

Conclusioni

Le analisi svolte nel 2012 hanno permesso di confermare la prima valutazione di alcune varietà tradizionali, che in questo periodo suscitano un certo interesse per il loro possibile utilizzo per la produzione di alimenti tipici, destinati alle filiere corte, dal punto di vista della resistenza all'attacco dei patogeni fungini più comuni nell'area della pianura padana. Sono state inoltre identificate linee inbred con elevati contenuti di carotenoidi totali e di pro-vitamina A, linee che potrebbero essere impiegate come parentali nella produzione di ibridi di mais a granella vitrea, caratterizzati da un miglior valore nutrizionale potenziale.

Proseguimento dell'attività di ricerca

Il proseguimento della ricerca prevede:

- il completamento della determinazione del contenuto in fumonisine nelle varietà inoculate nel 2012;
- la scelta dei materiali con più marcate caratteristiche di resistenza al patogeno, da riprodurre nel 2013;
- la determinazione mediante HPLC del contenuto dei carotenoidi nelle linee e negli incroci del campo 2012;
- la valutazione della capacità antiossidante totale negli stessi campioni.

Pubblicazioni

ALFIERI M., BERARDO N., REDAELLI R. 2012. Carotenoids content in Italian maize germplasm. *Tecnica Molitoria International* 63 (13A): 82-89.

ALFIERI M., BERARDO N., REDAELLI R. 2012. Screening of favourable alleles for β -carotene content in maize inbred lines. *Maize Genetic Cooperation Newsletter* 86.

ALFIERI M., TORRI A., BALCONI C., LANZANOVA C., LOCATELLI S., BERARDO N., REDAELLI R. 2012. Analysis of Italian maize genotypes for improving nutritional quality and safety. 56° Congresso SIGA, Perugia, 17-20 settembre 2012 (poster).

ALFIERI M., HIDALGO A., BERARDO N., REDAELLI R. Carotenoid composition and heterotic effect in selected Italian maize germplasm. *Journal of Food Compos. Anal.* (submitted)

BALCONI C., HARTINGS H., LOCATELLI S., LANZANOVA C., PANZA L., TORRI A., ALFIERI M., BERARDO N., REDAELLI R. 2012. Screening of Italian maize inbred lines for nutritional quality, resistance to *Fusarium verticillioides* and different gene expression in resistant and susceptible genotypes. *Maize Genetic Cooperation Newsletter* 86.

BALCONI C., LANZANOVA C., BERARDO N., HARTINGS H., LOCATELLI S., PANZA L., TORRI A., ALFIERI M., REDAELLI R. 2012. Sanità e sicurezza in mais: valutazione di genotipi italiani per qualità nutrizionale,

resistenza a *F. verticillioides* e accumulo di fumonisine. 4° Congresso Nazionale: Le micotossine nella filiera agroalimentare, ISS 11-13 giugno 2012, Roma.

BALCONI ET AL, Evaluation of *Fusarium verticillioides* ear rot resistance and fumonisin accumulation in Italian maize inbred lines. *Phytopatol. Med*, *accepted*.

REDAELLI R., BALCONI C., ALFIERI M., LANZANOVA C., TORRI A., LOCATELLI S., VALOTI P., BERARDO N. Capacità antiossidante totale e resistenza a *Fusarium verticillioides* in varietà italiane di mais. IX Convegno Biodiversità, Bari 6-7 settembre 2012 (poster).

TORRI A., LANZANOVA C., LOCATELLI S., BERARDO N., REDAELLI R., VALOTI P., BALCONI C. Screening of maize Italian germplasm for resistance to *Fusarium verticillioides* ear rot and fumonisins accumulation. 56° Congresso SIGA, Perugia, 17-20 settembre 2012 (poster).

TORRI A., LANZANOVA C., LOCATELLI S., BERARDO N., REDAELLI R., VALOTI P., BALCONI C. Screening of maize italian germplasm for resistance to *Fusarium verticillioides* ear rot and fumonisins accumulation. International MPU Workshop 2012, Plant Protection for the Quality and Safety of the Mediterranean Diet, 24-26 October 2012, Bari, It

CRA-QCE Unità di ricerca per la valorizzazione qualitativa dei cereali, Roma

Conservazione e caratterizzazione di una collezione di farro (*Triticum dicoccum* Schubler) e di spelta (*Triticum spelta* L.)

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

Introduzione

La collezione di farro (*Triticum dicoccum* Schubler) e spelta (*T. spelta* L.), derivante da scambi con altre Istituzioni, in particolare con l'Istituto del Germoplasma (ora Istituto di Bioscienze e Biorisorse, IBBR) del CNR di Bari, viene mantenuta e riprodotta dal CRA-QCE di Roma a partire dal 2000, seminando tutte le accessioni disponibili in file singole di 1 m in due epoche (autunnale e primaverile). Fino al 2004 le semine sono state effettuate nell'altopiano di Leonessa (RI), a un'altitudine di circa 1000 m s.l.m., in un ambiente marginale tipico per la coltivazione del farro; a partire dal 2005 il materiale viene seminato nei campi dell'azienda Inviolatella di Roma, al fine di seguire più da vicino le prove.

Mantenimento e caratterizzazione morfo-fenologica dei genotipi di *T. dicoccum* e *T. spelta* in campo. Semine 2012

L'attività di mantenimento e caratterizzazione del materiale disponibile è proseguita nel 2012 effettuando per tutte le accessioni una sola semina (18/1/2012), a causa di difficoltà legate all'andamento climatico del periodo autunno-invernale che hanno impedito l'esecuzione della semina autunnale.

Utilizzando materiale raccolto l'anno precedente, sono state seminate 463 accessioni di farro e 336 di spelta (Tab. 1). 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. Tutto il materiale è stato raccolto l'11 luglio 2012.

Tab. 1: Accessioni di farro e spelta seminate nel 2012 a Roma

Accessioni	Precessione		Data			
	Farro n.	Spelta n.	semina	emergenza	raccolta	
semina autunnale	183	125	Favino	18/01/2012	20/02/2012	11/07/2012
semina primaverile	280	211				
Totale	463	336				

Le *tabelle* 2 e 3, rispettivamente per le due specie, riportano per i caratteri ciclo e altezza, la media e il relativo errore standard (err.st.), il valore minimo (min) e massimo (max) e la deviazione

standard (dev. st).

Tab. 2: Caratterizzazione delle accessioni di *T. dicoccum* (semina 18/01/2012, Roma)

Accessioni n.	Ciclo (n. giorni dal 1° aprile)					Altezza pianta (cm)				
	media	err. st.	min.	max.	dev. st.	media	err. st.	min.	max.	dev. st.
autunnali 183	53	0,4	34	67	5,9	93	1,3	60	145	18,2
primaverili 280	48	0,4	30	66	7,4	114	1,2	70	165	19,5

Tab. 3: Caratterizzazione delle accessioni di *T. spelta* (semina 18/01/2012, Roma)

Accessioni n.	Ciclo (n. giorni dal 1° aprile)					Altezza pianta (cm)				
	media	err. st.	min.	max.	dev. st.	media	err. st.	min.	max.	dev. st.
autunnali 183	56	0,3	44	67	3,8	105	2,0	60	151	22,1
primaverili 280	55	0,3	36	67	3,8	132	1,1	71	166	16,5

Le accessioni di farro provenienti da semina autunnale hanno mostrato una gamma di valori di spigatura compresi tra il 4 aprile e il 6 giugno, quelle da semina primaverile tra il 30 aprile e il 5 giugno (con un intervallo di 33 e 36 giorni tra le più precoci e le più tardive, rispettivamente). Le altezze sono risultate maggiori nelle accessioni primaverili, sia come valore medio che come estremi. Un intervallo più ristretto nelle spigature è stato registrato per le accessioni di spelta, in particolare per quelle provenienti da semina autunnale (23 giorni), con spigature comprese tra il 14 aprile e il 6 giugno. Mediamente le accessioni di spelta sono risultate più alte di quelle del dicocco: circa 12 cm le autunnali e 18 cm le primaverili; notevole la variabilità evidenziata in entrambe le specie per questo carattere.

Analisi qualitative su materiale raccolto nel 2011

Una prima caratterizzazione qualitativa delle accessioni è stata effettuata con la determinazione di proteine della granella e SDS. Dalla semina primaverile 2011 sono state raccolte 280 accessioni di farro e 211 di spelta. In base al quantitativo di granella disponibile sono state analizzate 257 accessioni di farro (di cui 33 solo per tenere proteico) e 203 accessioni di spelta. Nella tabella 4 si riportano i risultati delle analisi qualitative (proteine della granella e SDS) espressi da media (\pm err.st.), mediana, valore minimo (min), massimo (max) e deviazione standard (dev. st) delle accessioni su cui è stato possibile effettuare entrambe le analisi: 224 farri e 203 spelta, mentre nelle figure 1e 2 vengono riportati gli istogrammi di frequenza (%) per i due caratteri qualitativi presi in esame.

Tab. 4: Proteine di granella e SDS per 224 accessioni di *T. dicoccum* e 203 di *T. spelta*. Semina primaverile Roma 2011

	Caratteri rilevati	Media \pm err. st.	Mediana	Parametri di variabilità Valori		
				min.	max.	dev. st.
<i>T. dicoccum</i> (244 acc.)	Proteine granella (% s.s.)	17,3 \pm 0,1	17,2	13,2	22,8	1,7
	SDS (ml)	32 \pm 0,9	29	14	80	13,4
<i>T. spelta</i> (203 acc.)	Proteine granella (% s.s.)	18,5 \pm 0,1	18,6	13,6	23,5	1,4
	SDS (ml)	56,0 \pm 0,8	57	15	90	11,5

Dai risultati delle analisi qualitative emergono le pregevoli caratteristiche delle due specie derivanti da un elevato contenuto proteico e, soprattutto per lo spelta, da un alto valore di SDS, indice di una ottima qualità del glutine.

Alcune accessioni della semina primaverile erano presenti anche nella semina autunnale (73 farri e 108 spelta) e, in base alla disponibilità di seme, anche queste sono state caratterizzate per contenuto proteico e/o SDS. Nella tabella 5 si riportano i risultati delle analisi qualitative (proteine della granella e SDS) espressi da media (\pm err.st.), mediana, valore minimo (min), massimo (max) e deviazione standard (dev. st) delle accessioni su cui è stato possibile effettuare entrambe le analisi:

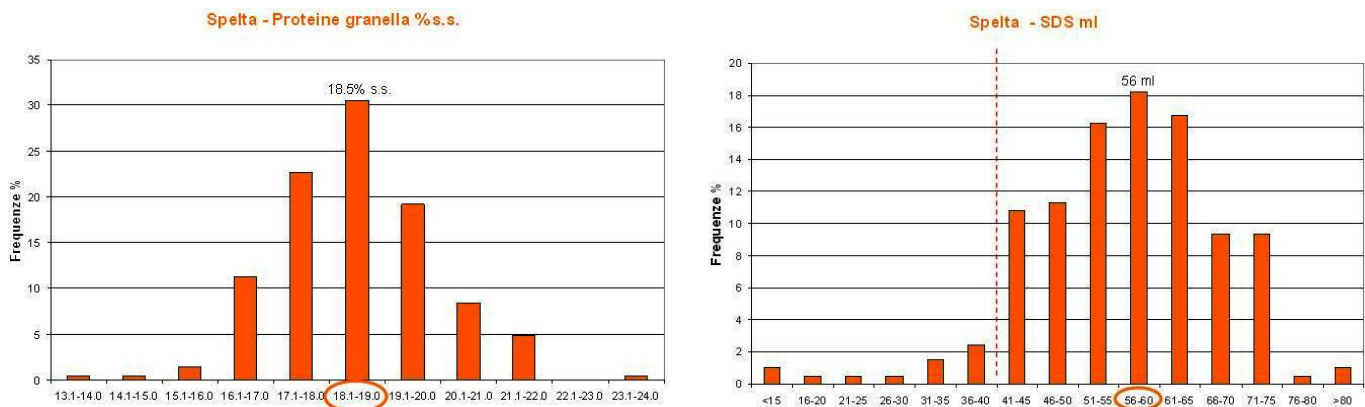


Fig. 1: Semina primaverile 2011. Istogrammi di frequenza (%) per 203 accessioni di spelta relative a contenuto proteico (% s.s.) e SDS (ml).

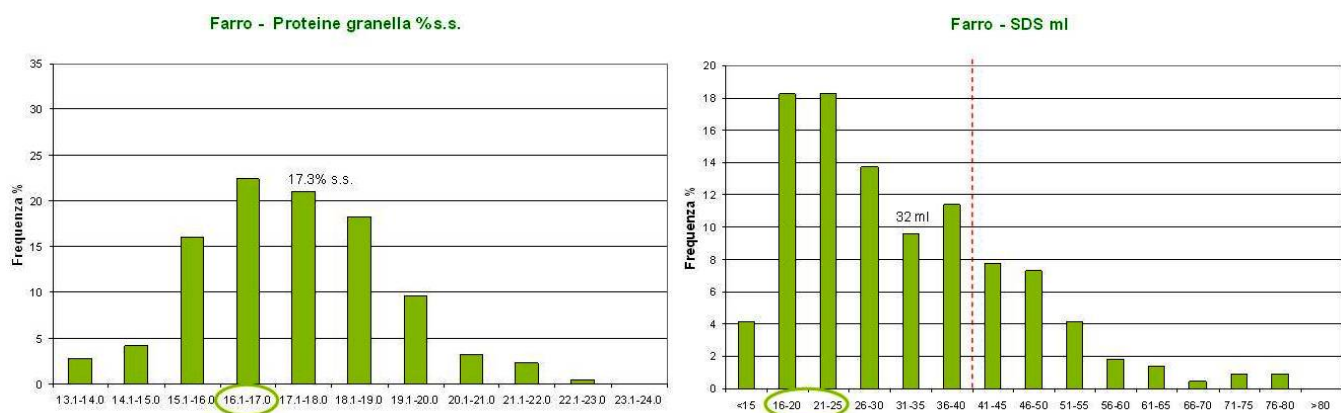


Fig. 1: Semina primaverile 2011. Istogrammi di frequenza (%) per 224 accessioni di farro relative a contenuto proteico (% s.s.) e SDS (ml).

Tab. 5: Proteine di granella e SDS per 67 accessioni di *T. dicoccum* e 107 di *T. spelta*. Semina autunnale Roma 2011

	Caratteri rilevati	Media \pm err. st.	Mediana	Parametri di variabilità Valori		
				min.	max.	dev. st.
<i>T. dicoccum</i> (67 acc.)	Proteine granella (% s.s.)	15,8 \pm 0,2	15,8	12,5	19,5	1,9
	SDS (ml)	27 \pm 1,1	27	12	63	9,0
<i>T. spelta</i> (107 acc.)	Proteine granella (% s.s.)	15,0 \pm 0,2	14,8	11,8	21,7	1,6
	SDS (ml)	49,0 \pm 1,1	49	24	80	11,1

I risultati confermano le buone caratteristiche qualitative delle due specie anche se, almeno in questa annata, emergono sensibili contrazioni dei valori di proteina e SDS nella semina autunnale rispetto a quella primaverile per entrambe le specie.

La variabilità dei dati, tra l'altro ben distribuita, indica una interessante fonte di diversità genetica della collezione, potenzialmente utilizzabile in programmi di breeding o per impiego diretto dei materiali.

Dalla valutazione di tutti i dati disponibili (epoca di spigatura, altezza pianta, peso 1000 semi, proteine e SDS) sono state scelte 130 accessioni con caratteristiche interessanti, da utilizzare a partire dalle semine 2013: 61 accessioni di *T. dicoccum* (48 da semina primaverile e 13 da autunnale) e 69 di *T. spelta* (39 da semina primaverile e 30 da autunnale) con l'obiettivo di aumentare la quantità di seme disponibile e confermare le caratteristiche qualitative anche in relazione a una prima valutazione delle potenzialità produttive.

CRA-RIS Unità di Ricerca per la Riscicoltura, Vercelli

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

GIAMPIERO VALÈ, ROSARIA PERRINI, DANIELA CAVALLUZZO; CHIARA BISELLI, GABRIELE ORASEN, ERMINIO ALBERTARIO

Collaborazioni: GIANNI TACCONI, SIMONA URSO, LUIGI CATTIVELLI (CRA-GPG, Fiorenzuola d'Arda); RAFFAELLA GRECO, PAOLO RICCARDI, PIETRO PIFFANELLI (PTP, Lodi)

Introduzione

Le attività di ricerca condotte nel progetto di ricerca hanno riguardato l'analisi della variabilità aplotipica del gene GBSS per l'accumulo di amilosio e la caratterizzazione fenotipica di una collezione di germoplasma in due condizioni diverse di *management* dell'acqua di irrigazione.

1. Analisi della variabilità aplotipica del gene GBSS per l'accumulo di amilosio

Precedenti attività avevano portato alla 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. Una ulteriore caratterizzazione degli alleli al gene GBSS è quindi stata condotta utilizzando 20 genotipi di riso con un "range" del contenuto di amilosio che variava dai tipi *waxy* al 15-26%. Su questi

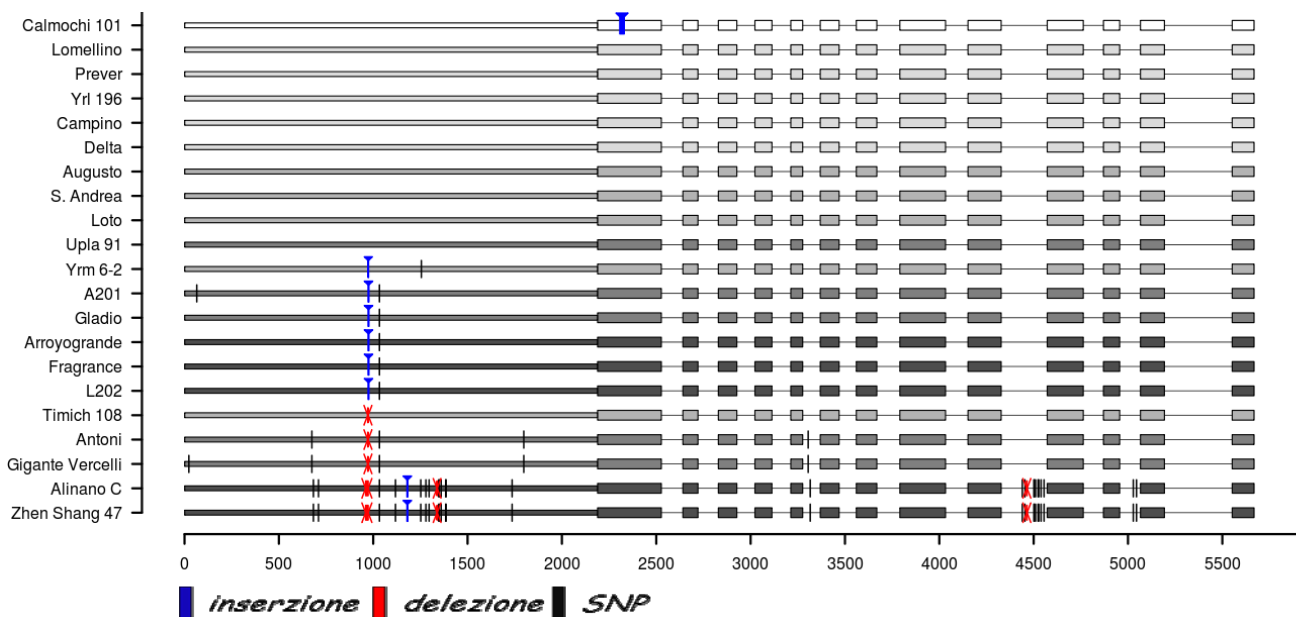


Fig. 1: Identificazione di nuovi polimorfismi nella sequenza del gene GBSS in 20 varietà di riso

genotipi sono state condotte 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'introne 1 (CT repeat); d) identificazione della variabilità presente nella regione regolatoria 5' (circa 1,5 kb nella regione 5' non trascritta) tramite sequenziamento al fine di identificare possibili differenze che potrebbero influenzare il livello di trascrizione del gene). I risultati ottenuti mediante risequenziamento hanno consentito di identificare nuovi polimorfismi nella regione regolatoria del gene GBSS e a livello degli introni. In particolare i nuovi polimorfismi identificati nelle varietà ad alto contenuto di amilosio, Alinano e Zhen Shang consentono agevolmente di discriminare questi aplotipi da quelli a contenuto intermedio di amilosio fornendo quindi le basi per la selezione assistita del carattere. In aggiunta, polimorfismi unici sono stati identificati anche nelle varietà Gigante Vercelli e Antoni, ad intermedio contenuto di amilosio; queste informazioni nel complesso permetteranno quindi di discriminare le due categorie di varietà.

2. Caratterizzazione fenotipica di una collezione di germoplasma in due condizioni di management dell'acqua di irrigazione

Al fine di identificare accessioni di riso dotate di maggiore adattabilità alle coltivazioni in condizione aerobica e di verificare variazioni fenotipiche collegate a tale tecnica di gestione idrica, 300 accessioni di riso sono state valutate in triplicato in condizioni di coltivazione aerobica (somministrazione irrigua solo quando il potenziale dell'acqua nel terreno scendeva sotto i -40 KPa) e nella condizione classica di coltivazione in sommersione.

Sulle 300 accessioni sono stati condotti 12 rilievi fenotipici in pre-raccolta e 12 rilievi fenotipici in post-raccolta.

Sebbene i dati ottenuti dalle rilevazioni fenotipiche siano tutt'ora in fase di elaborazione, i risultati preliminari hanno consentito di evidenziare alcuni risultati di estremo interesse. Tra questi si può includere la osservazione che le diverse accessioni mostrano in generale valori di taglia superiore in condizioni di sommersione, ma alcune accessioni mostrano una altezza superiore in condizioni di aerobiosi (Fig. 2). Analogamente, per caratteri come la data di fioritura, di maturazione e culmi di accostamento, il lavoro ha consentito di identificare accessioni che presentano valori superiori di questi caratteri nelle condizioni di coltivazione aerobica.

Conclusioni

Le attività di analisi della variabilità alplotipica del gene GBSS hanno consentito di identificare polimorfismi che potranno essere sfruttati per realizzare marcatori molecolari per assistere la selezione del carattere "contenuto di amilosio". Le attività di fenotipizzazione nelle due condizioni di somministrazione idrica, seppure condotte per il momento per un solo anno di sperimentazione, stanno consentendo di identificare accessioni che meglio tollerano le condizioni di aerobiosi.

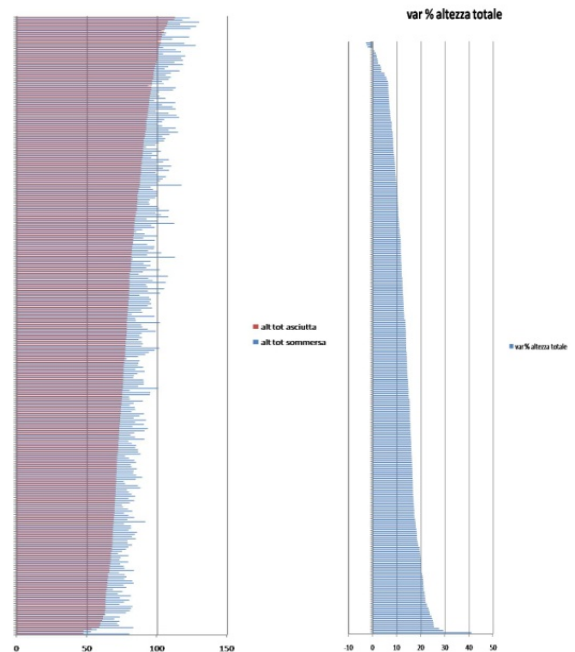


Fig. 2: Panel sinistro: valori di crescita delle accessioni di riso in condizioni aerobiche (linee viola) e in sommersione (linee azzurre). Panel destro: variazioni % della crescita in condizioni sommerse rispetto a quelle in aerobiosi; è possibile notare nella parte alta del panel la presenza di alcune linee che mostrano valori maggiori di accrescimento nelle condizioni di aerobiosi.

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

Frumento tenero e monococco

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

Introduzione

Obiettivo generale dell'attività di CRA-SCV nell'ambito del terzo triennio del progetto RGV-FAO è la 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*, loci per caratteri quantitativi (QTLs) importanti per le specie.



Materiali e metodi

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 *landraces*, 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 ad utilizzare la pratica dell'incrocio, avviata da Nazareno Strampelli. 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).

Continuando il lavoro svolto nell'anno 2011 (v. Notiziario RGV n. 2-3/2012), nella campagna agraria 2011-2012 le linee di monococco e frumento sono state coltivate in due località, S. Angelo Lodigiano e Lodi, in file individuali lunghe un metro, e valutate per caratteristiche agronomiche, fenotipiche e qualitative, in modo da ottenere un ulteriore anno di osservazioni.

Sulle piante in campo sono stati rilevati portamento (all'accestimento), data di spigatura, altezza della pianta, capacità di accestimento, suscettibilità al freddo e a fitopatie quali ruggini (*Puccinia* spp), septoriosi (*Septoria* spp.), fusariosi (*Fusarium* spp) e oidio (*Erysiphe graminis*). 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), effettuando le misurazioni su 5 spighe per ogni linea e riportando il dato finale come media delle osservazioni. Sono stati valutati: forma, lunghezza e colore della spiga, numero di spighe per spiga e di semi per spigetta, dimensioni, tessitura e colore delle cariossidi. Per ciascuna linea è stato inoltre determinato il peso dei 1000 semi. Nel caso del frumento tenero, le linee sono state ridotte a sfarinato integrale e sottoposte ad analisi NIR (Near Infrared Reflectance) per la determinazione del contenuto proteico e dell'*hardness* e in seguito caratterizzate mediante il test del volume di sedimentazione in SDS (Preston *et al.* 1982).

Risultati:

1. Frumento tenero

Come già osservato lo scorso anno, 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 LxG. In particolare, passando dalle varietà più vecchie a quelle più recenti, si

osservano la tendenza verso una spigatura più precoce e il graduale abbassamento della taglia, una riduzione progressiva del peso dei semi e del contenuto proteico, che non è tuttavia associata, come potrebbe essere atteso, a una minore qualità. Infatti, il volume di sedimentazione, 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, indicando chiaramente una migliore qualità delle proteine presenti nelle linee di più recente costituzione.

Per ciascuna linea, 10 semi provenienti da una spiga raccolta in purezza nel primo anno di progetto sono stati utilizzati per l'estrazione del DNA e la creazione di una "DNA *biorepository*".

I DNA sono stati inviati alla ditta TraitGenetics di Gatersleben per l'analisi a elevata processività mediante l'array Infinium iSelectHD 90K di Illumina. I risultati sono arrivati agli inizi di febbraio del corrente anno: sono stati individuati 81587 SNPs validi e funzionali. Le analisi della struttura della popolazione e dell'*association mapping* stanno per essere avviate e saranno l'oggetto principale dell'attività del terzo anno di progetto.

2. Monococco

I risultati dei dati morfo-agronomici di campo del 2011-12 sono ormai definitivi, mentre sono ancora in fase di registrazione quelli relativi alle caratteristiche di spighe, cariossidi e farina.

Differenze significative tra località e tra campioni di origine diversa sono state osservate per la maggior parte dei tratti, mentre l'interazione località x origine, in genere, non è risultata significativa. In generale, la data di spigatura aumenta in monococchi dell'Europa continentale rispetto a quelli provenienti dai paesi mediterranei (Figura 1). Al contrario, il peso dei 1000 semi di campioni dell'Europa meridionale è stato superiore a quello dei campioni delle regioni settentrionali (Figura 2).

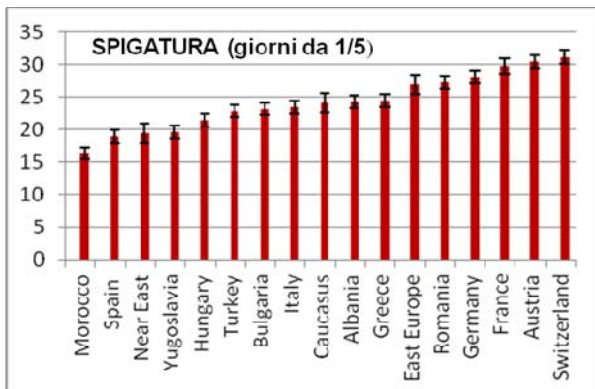


Fig 1. Valori medi per il carattere *Epoca di spigatura* dei monococchi, divisi per regione di origine. Gli errori standard sono rappresentati mediante barre.

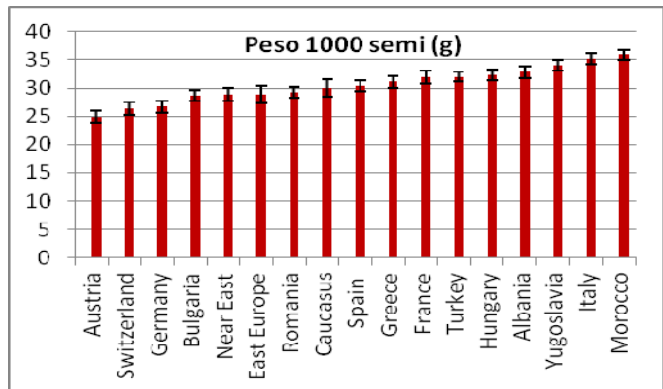


Fig 2. Valori medi per il carattere *Peso di 1000 cariossidi* dei monococchi, divisi per regione di origine. Gli errori standard sono rappresentati mediante barre.

Nel complesso, la lunghezza delle spighe varia da 5 a 10 cm, anche se monococchi provenienti da paesi diversi sono significativamente differenti, ma senza un chiaro gradiente Sud-Nord (Figura 3).

Al contrario, il numero di spighette per spiga è aumentato andando verso Nord (Figura 4).

Altre caratteristiche con differenze significative tra i campioni di diversa origine sono lunghezza seme, contenuto proteico e volume di sedimentazione in SDS.

Come nel caso del frumento tenero, per ciascuna linea, 10 semi provenienti da una spiga raccolta in purezza nel primo anno di progetto sono stati utilizzati per l'estrazione del DNA e la creazione di una "DNA repository".

L'analisi molecolare ha comportato lo "screening" dei genotipi mediante 28 marcatori microsatelliti (SSRs) e 4 coppie di "primer" AFLP (E37M59, E37M61, E41M48, E41M49).

Le quattro combinazioni di microsatelliti hanno rivelato 487 polimorfismi (in media 17,4 per microsatellite), confermando l'ampia variazione genetica suggerita dalle caratteristiche morfo-fisiologiche.

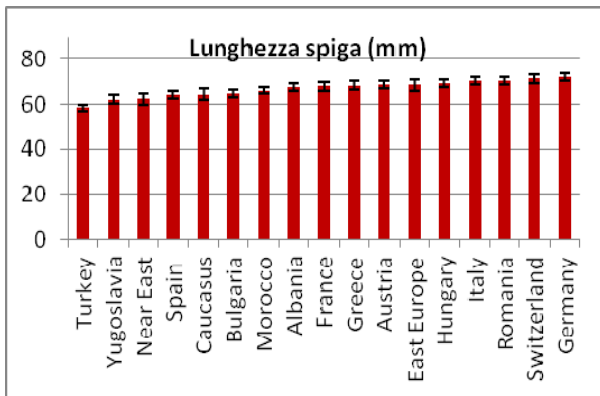


Fig 3. Valori medi per il carattere *Lunghezza della spiga* dei monococchi, divisi per regione di origine. Gli errori standard sono rappresentati mediante barre.

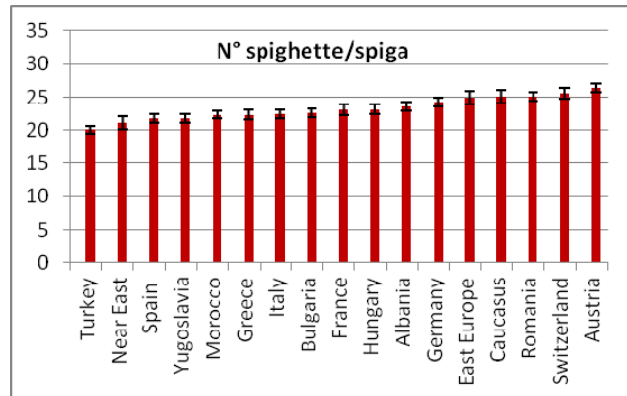


Fig 4. Valori medi per il carattere *n°spighette/spiga* dei monococchi, divisi per regione di origine. Gli errori standard sono rappresentati mediante barre.

Nella Figura 5 è riportato il dendrogramma ottenuto analizzando i dati mediante l'algoritmo di Neighbour-Joining, utilizzando l'indice di similarità genetica di Jaccard. I gruppi derivanti dall'analisi non sono ascrivibili a specifiche caratteristiche dei genotipi che li compongono; uniche eccezioni sono i genotipi selvatici, *T. boeoticum* e *T. urartu*, riuniti in due sottogruppi distinti, e i genotipi provenienti da Marocco e Spagna, raggruppati in un unico sottogruppo. Un ulteriore piccolo sottogruppo comprende alcune linee di provenienza italiana.

L'analisi mediante AFLP ha evidenziato 610 bande polimorfiche (in media 152,5/combinazione). L'analisi dei risultati è tuttora in corso. Non appena tutti i dati molecolari saranno disponibili, sarà eseguita una dettagliata analisi di *association mapping* per tutte le caratteristiche registrate.

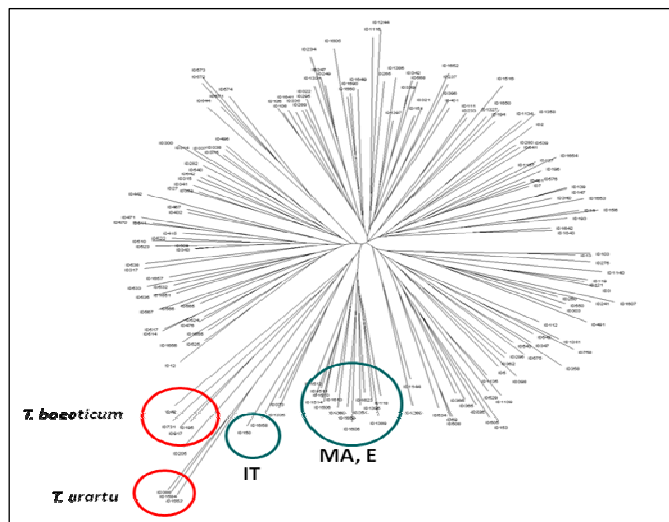


Fig 5. Dendrogramma ottenuto dall'analisi dei microsatelliti mediante l'indice di Jaccard. Sono evidenziati i genotipi selvatici *T. boeoticum* e *T. urartu* (in rosso) e i genotipi provenienti da Marocco e Spagna (MA, E) e Italia (I).

Bibliografia

- International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR) 1985. Revised descriptor list for wheat (*Triticum* spp.) AGPG: IBPGR/85/210. Disponibile online al sito: http://www.bioversityinternational.org/nc/publications/publication/issue/descriptors_for_wheat_revised.html
- Preston K.R., March P.R., Tipples K.H. 1982. An assessment of SDS-sedimentation test for prediction of Canadian bread wheat quality. *Can. J. Plant Sci.* 62: 545-553.

SPECIE FORAGGERE

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

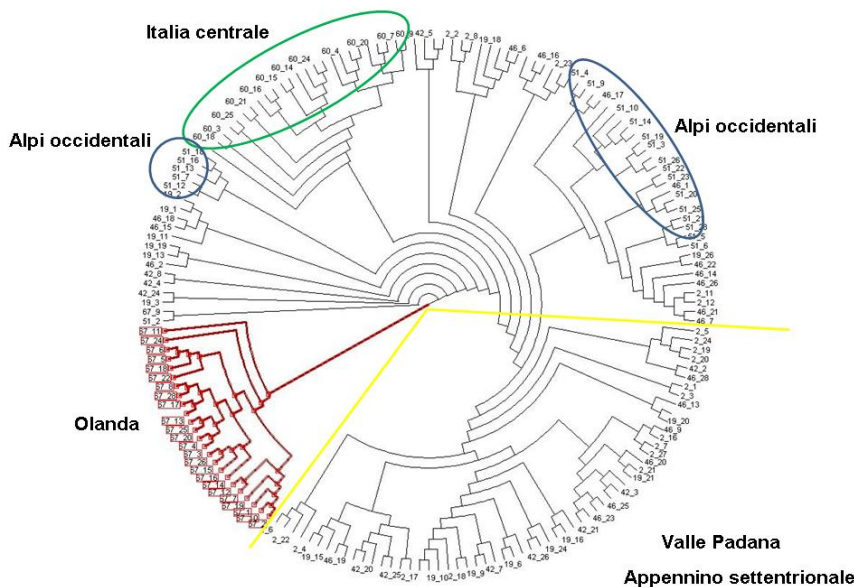
Caratterizzazione e valutazione di germoplasma di specie per l'alimentazione zootecnica

P. ANNICCHIARICO, L. PECETTI, M. ROMANI, M. CARELLI, P. RUDA, A.M. CARRONI, A. TAVA, S. PROIETTI

L'attività 2012 si è svolta secondo 6 linee:

1) Caratterizzazione molecolare di popolazioni di trifoglio bianco

Questo lavoro si propone di chiarire se il trifoglio bianco di tipo Ladino (var. bot. *giganteum*), una delle principali risorse genetiche foraggere italiane, si è effettivamente originato da popolazioni autoctone oppure è derivato da popolazioni introdotte in tempi remoti dall'Olanda (come proposto da alcuni studiosi). Sono stati caratterizzati 20 genotipi per ciascuna delle seguenti sette popolazioni: i) una popolazione naturale e un ecotipo aziendale di Ladino collettati in Lombardia; ii) l'ecotipo olandese Dutch Groninger; iii) quattro popolazioni naturali italiane raccolte secondo un gradiente nord-sud rispetto alla Pianura padana (in quota e in fondovalle nella provincia di Sondrio, sull'Appennino emiliano, e in un'area appenninica dell'Italia centrale). La caratterizzazione è stata eseguita attraverso 32 marcatori (due per ciascuno dei 16 cromosomi della specie).



La classificazione dei singoli genotipi (Fig. 1) ha rivelato una netta separazione sul piano molecolare dei genotipi derivati dall'ecotipo olandese rispetto a quelli di origine italiana. Anche i genotipi della popolazione dell'Italia centrale e di quella alpina di alta quota si sono dimostrati piuttosto distinti, mentre differenze piuttosto modeste sono state riscontrate tra le altre popolazioni. I risultati indicano origine autoctona del trifoglio bianco Ladino.

Figura 1. Classificazione tramite analisi cluster (metodo UPGMA) di 140 genotipi di trifoglio bianco appartenenti a sette popolazioni, in base alla loro diversità per 32 marcatori SSR

2) Confronto tra tipologie varietali contrastanti di pisello per la consociazione con cereali

Il pisello proteico di tipo *semi-dwarf* (provvisto cioè di geni del nanismo) sul quale si è concentrato il moderno miglioramento genetico ha dimostrato un forte svantaggio competitivo in consociazioni con cereali finalizzate alla produzione di insilato o, eventualmente, a quella di seme (quest'ultima è di possibile interesse nei sistemi biologici). Esiste comunque variabilità per statura della pianta anche nell'ambito dei tipi *semi-dwarf*. Il lavoro ha messo a confronto una nuova linea afilea (cioè con cirri) di pisello (Linea '1/15b'), sviluppata nell'ambito del progetto RGV-FAO e priva di

geni del nanismo, con due varietà commerciali afile con stessa lunghezza del ciclo ma di tipo *semi-dwarf*, una più alta (Attika) e una convenzionale (Spirale) nell'ambito di questa tipologia.

Le tre linee sono state valutate a Sanluri (Sardegna) in purezza e in consociazione binaria sia con triticale sia con orzo in esperimenti distinti, valutando la produzione di sostanza secca totale e di ogni componente alla maturazione cerosa del cereale. Per la consociazione con orzo è stata anche valutata la resa di granella (con una varietà di orzo di precocità simile a quella del pisello). Le dosi di semina dei componenti le consociazioni sono state la metà di quelle raccomandate per le purezze.

I principali risultati ottenuti, illustrati in Tabella 1, possono essere così sintetizzati:

- le differenze di altezza tra le tre linee di pisello si sono confermate molto elevate;
- le consociazioni hanno mostrato rese totali in biomassa tendenzialmente superiori alle purezze dei loro componenti con l'eccezione della purezza di orzo (non superiore a $P < 0.05$ alla migliore consociazione); lo svantaggio competitivo del pisello è stato più accentuato con orzo;
- la linea alta ('1/15b') e quella *semi-dwarf* di tipologia alta (Attika) hanno evidenziato, rispetto alla *semi-dwarf* convenzionale (Spirale), maggiore biomassa in purezza e maggiore proporzione di pisello nel miscuglio (con tendenza più accentuata e significativa nell'esperimento con orzo).

Tabella 1. Sostanza secca totale di purezze e consociazioni binarie di un cereale con tre linee contrastanti di pisello, in esperimenti separati con orzo e triticale condotti in Sardegna^a

	Sostanza secca totale (t/ha) ^b	Percentuale di pisello ^b
<i>Esperimento con orzo</i>		
Purezza di orzo	15.11 a	–
Purezza di pisello '1/15b'	11.26 cd	–
Purezza di pisello 'Attika'	11.53 cd	–
Purezza di pisello 'Spirale'	8.72 e	–
Consociazione orzo + '1/15b'	13.22 bc	18.3 ab
Consociazione orzo + 'Attika'	14.06 ab	21.1 a
Consociazione orzo + 'Spirale'	13.14 bc	10.2 b
<i>Esperimento con triticale</i>		
Purezza di triticale	13.97 ab	–
Purezza di pisello '1/15b'	12.73 ab	–
Purezza di pisello 'Attika'	14.58 a	–
Purezza di pisello 'Spirale'	11.52 b	–
Consociazione triticale + '1/15b'	14.01 ab	46.2 a
Consociazione triticale + 'Attika'	14.58 a	41.8 a
Consociazione triticale + 'Spirale'	14.21 ab	34.9 a

^a Linea '1/15b', alta (non *semi-dwarf*), altezza media in purezza: 116 cm; 'Attika', *semi-dwarf* di tipo 'alto', altezza media: 79 cm; 'Spirale', *semi-dwarf* convenzionale, altezza media: 62 cm.

^b Medie entro esperimento con lettere diverse differiscono a $P < 0.05$.

Questi risultati suggeriscono l'utilità di un tipo *semi-dwarf* (più tollerante all'allettamento rispetto al tipo alto quando destinato alla produzione di seme) che sia però stato selezionato per una statura più elevata all'interno di questa tipologia varietale.

La resa di seme in consociazione con orzo ha comportato proporzioni ridotte (inferiori al 5%) per tutte le linee di pisello, sebbene tendenzialmente superiori in presenza di 'Attika', suggerendo l'importanza di adottare dosi di semina proporzionalmente più elevate per il pisello.

3) Attività di selezione di varietà di favino

Due potenziali varietà con seme privo di tannini (caratteristica utile per l'alimentazione dei monogastrici) sono state moltiplicate nella primavera-estate del 2012 e poi seminate sia a Lodi sia a Sanluri in esperimenti in blocchi randomizzati con 4 repliche, in cui sono state messe a confronto fra di loro e con due varietà commerciali, di cui una con seme privo di tannini, e una che ha tannini e ampio adattamento agli ambienti italiani a clima mediterraneo o subcontinentale.

4) Caratterizzazione morfofisiologica e tolleranza al pascolamento di genotipi di erba medica

Questa attività ha lo scopo di verificare le relazioni genetiche tra dormienza autunnale (ovvero, stasi vegetativa nella stagione fredda), portamento della pianta, tolleranza al pascolamento e componenti della resa di seme, e di identificare germoplasma tollerante al pascolamento e caratterizzato da limitata dormienza autunnale e buona produzione di seme. La tolleranza al pascolamento si è spesso rivelata positivamente correlata a una accentuata dormienza autunnale, e questa relazione è poco desiderabile per ambienti con inverni miti, quali quelli mediterranei, in cui le piante di erba medica hanno una limitata stasi vegetativa autunno-invernale.

Nel corso dell'anno è proseguita la fenotipizzazione di 4 *mapping populations*, ognuna comprendente circa 110 progenie clonali, replicate 3 volte in un dispositivo a blocchi randomizzati, ottenute dalle possibili combinazioni di incrocio semplice tra due genotipi dell'ecotipo Mamuntanas (eretto, poco dormiente e con buona produzione di seme, ma poco tollerante al pascolamento) e due genotipi della varietà Camporegio (prostrata, tollerante al pascolamento, dormiente e con modesta produzione di seme). Le progenie sono state caratterizzate per diversi caratteri: biomassa della parte aerea, diametro della pianta, portamento della pianta, attività vegetativa nella stagione fredda (rilevata come lunghezza degli steli sia alla ripresa vegetativa che in tardo autunno). Dall'inizio di giugno a metà settembre (109 giorni) è stata condotta una prova di pascolamento, utilizzando un elevato carico di ovini (circa 40 capi/ha), rilevando la persistenza alla fine della stagione.

Tabella 2. Variabilità tra popolazioni e tra progenie entro popolazioni, e valori medi delle popolazioni per alcuni caratteri morfofisiologici

	Vigore pianta (g S.S., 2 tagli primav.)	Lungh. fogliola (cm)	Largh. fogliola (cm)	Attività vegetat. stagione fredda (lungh. steli, cm)	Diametro pianta (cm)	Portam. pianta (1: prostrato; 6: eretto)	Persistenza dopo pascolam. (%)
Pop. A ¹	63.13 b	2.49 b	0.95 b	5.39 a	13.12 a	3.51 ab	93.2
Pop. B ²	70.53 a	2.64 a	0.96 b	4.25 d	12.50 b	3.44 b	93.3
Pop. C ³	62.24 b	2.43 c	0.90 c	4.59 c	11.74 c	3.24 c	91.1
Pop. D ⁴	66.17 ab	2.69 a	1.00 a	4.87 b	12.51 b	3.61 a	90.6
ANOVA tra Popolazioni	***	***	***	***	***	***	ns
ANOVA tra progenie⁵	***	*	***	***	***	***	***

¹ Incrocio Mamuntanas 7 × Camporegio 2

² Incrocio Mamuntanas 1 × Camporegio 7

³ Incrocio Mamuntanas 1 × Camporegio 2

⁴ Incrocio Mamuntanas 7 × Camporegio 7

⁵ Entro popolazione

L'analisi dei dati ha mostrato una grande variabilità, sia a livello medio tra popolazioni (eccetto che per la persistenza dopo pascolamento) sia tra progenie entro popolazioni (Tabella 2). In ogni popolazione, i rispettivi parentali si sono generalmente situati verso gli estremi del "range" di valori fatti registrare dalle progenie. A questa tendenza ha fatto eccezione il vigore della pianta, in cui i valori dei due parentali erano sempre piuttosto intermedi nel *range* dei valori delle progenie. Le correlazioni tra la persistenza dopo il pascolamento e alcuni caratteri morfofisiologici hanno confermato una tendenza a una migliore tolleranza da parte dei tipi più prostrati e con maggiore diametro della corona. L'indesiderata correlazione negativa tra tolleranza al pascolamento e attività vegetativa nella stagione fredda non è stata univoca in tutte le popolazioni, al punto che nella popolazione D si è osservato un'associazione tendenzialmente positiva tra questi due caratteri.

5) Valutazione del profilo chimico dei metaboliti secondari di *Bituminaria bituminosa*

Per questa indagine è stata utilizzata una popolazione naturale originaria dell'isola d'Elba, la quale è stata studiata chimicamente tramite estrazione in successione con solventi di polarità crescente: esano, cloroformio e metanolo. L'estrazione ha prodotto frazioni non polari, polari ed

acidiche dell'estratto, comprendenti una gamma vastissima di composti: sesquiterpeni, idrocarburi a lunga catena, alcoli saturi e insaturi a lunga catena, acidi saturi e insaturi, calconi, fitoli, furocumarine, steroli, gliceroli, flavonoidi e saponine, oltre ad alcuni composti non ancora identificati. L'analisi dettagliata dei risultati e delle opportunità di applicazione che essi possono offrire è ancora in corso.

6) Attività di moltiplicazione, rigenerazione, documentazione e avviamento alla conservazione a lungo termine di accessioni

L'attività di conservazione a lungo termine del seme delle accessioni (a temperatura di -18°C e umidità del seme di circa 7%) è proseguita in modo ordinario.

Un impegno notevole è stato rappresentato dall'aggiornamento dei file di documentazione della collezione che sono destinati all'inserimento nel sistema PlantA-Res (secondo le indicazioni ricevute dal Coordinamento del progetto), soprattutto per quanto riguarda i dati di caratterizzazione e valutazione delle accessioni (mentre i *passport data* erano già sostanzialmente disponibili). Per una collezione come la nostra – comprendente 4455 accessioni di 54 specie diverse, di cui circa il 60% costituito da ecotipi e popolazioni naturali autoctoni caratterizzati e valutati in decine di esperimenti diversi – questo lavoro ha richiesto la preliminare standardizzazione di parecchie migliaia di dati in un formato che rendesse comparabili le informazioni prodotte per una stessa specie da valutazioni condotte in periodi diversi.

Pubblicazioni

ANNICCHIARICO P., I. THAMI ALAMI, 2012. Enhancing white lupin (*Lupinus albus* L.) adaptation to calcareous soils through lime-tolerant plant germplasm and *Bradyrhizobium* strains. *Plant Soil* 350, 131-144.

ANNICCHIARICO P., M.A. PAGNOTTA, 2012. Agronomic value and adaptation across climatically-contrasting environments of Italian red clover landraces and natural populations. *Grass Forage Sci.* 67, 597-605.

ANNICCHIARICO P., 2012. Agronomic value and morphophysiological diversity of non-Ladino Italian white clover wild populations compared with variety germplasm. *Crop Pasture Sci.* 63, 377-388.

PECETTI L., R. USAI, M. ROMANI, P. FRASCHINI, M. SALIS, 2012. Evaluation of berseem clover (*Trifolium alexandrinum* L.) germplasm in Sardinia, Italy. *Italian J. Agron.* 7, 202-205.

ANNICCHIARICO P., L. PECETTI, M. ROMANI, S. PROIETTI, 2012. Conservazione, caratterizzazione, valutazione e valorizzazione di germoplasma di specie foraggere e proteiche. *Dal Seme* 7 (1), 20-27.

ANNICCHIARICO P., S. PROIETTI, 2012. Nuove varietà di trifoglio bianco per prati e pascoli avvicendati. *L'Informatore Agrario* 68(7), 48-51.

SPECIE ARBOREE DA FRUTTO

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

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

F.R. DE SALVADOR, MARCO CHIERICO, VIRGILIO IRIONE, FILIPPO SOLIGO

Presso il CRA-FRU, durante il 2012, sono continuate le attività previste dalla scheda di ricerca e dal gruppo di lavoro “valutazione agronomica” e consistente in:

1. Raccolta, propagazione e immissione nelle collezioni del Centro Nazionale Germoplasma (CNGF) del materiale frutticolo autoctono.

L'individuazione del germoplasma è avvenuta in collaborazione con Istituzioni locali, Associazioni dei produttori, agricoltori. Sono state moltiplicate per una successiva immissione in collezione, 42 nuove accessioni di albicocco, 14 di ciliegio e 44 di susino.

Sono state messe a dimora le piante ottenute negli anni 2011 e 2012, delle specie albicocco (2), ciliegio (12), melo (56), noce (10), pero (33), susino (8).

2. Caratterizzazione e descrizione delle accessioni raccolte

Le accessioni che si intendono inserire nel CNGF dovrebbero essere potenzialmente “uniche”, avere cioè uno o più caratteri che le distinguono dal materiale già presente.

La verifica preliminare dell'unicità del materiale è piuttosto difficile soprattutto nell'ambito delle varietà autoctone, stante l' ampia diffusione di nomi diversi per genotipi che in realtà spesso sono uguali. L'acquisizione di tutte le informazioni disponibili sulle potenziali nuove accessioni che vengono individuate, consente di effettuare una prima selezione eliminando eventuali omonimie.

Spesso però non esistono le condizioni per tale primo *screening* e allora è necessario effettuare una valutazione comparativa in campo.



Foto 2: San Castrese, vecchia varietà vesuviana di albicocco

Tale valutazione di tipo fenologico, vegetativo, carpologico e più in generale agronomica è continuata sulla base di apposite schede descrittive predisposte dal Gruppo di lavoro sulla Biodiversità Agricola del Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali. La determinazione di tali aspetti permette oltre alla discriminazione del materiale più recente di ampliare soprattutto le informazioni del materiale esistente in collezione per diversi caratteri interessanti ad uso multiplo. Tra questi, il miglioramento genetico, la reintroduzione in coltivazione per il consumo fresco, la trasformazione tecnologica del prodotto, l'estrazione di sostanze nutraceutiche.

Le osservazioni condotte sulla pianta e sui frutti delle varietà autoctone italiane hanno permesso di individuare, nelle diverse specie e accessioni presenti nella collezione del CNGF, numerose caratteristiche di interesse agronomico. Di seguito si riporta una sintesi di tali caratteristiche osservate sulle specie di drupacee, definite prioritarie nel 2012:



Foto 1: Kronio, vecchia varietà siciliana di ciliegio dolce

ALBICOCCO: Delle 67 varietà autoctone presenti nel CNGF, si è distinto un totale di 50 per caratteri interessanti, quali ad esempio:

- scarso fabbisogno in freddo	Cannetta
- fioritura tardiva	Bianco precoce, Cibo del Paradiso, Reale, d'Imola
- qualità polpa (consistenza, sapore)	Boccuccia liscia, Ebolitana, Portici, Setacciara
- polpa bianca	Bianco precoce, Cibo del Paradiso, Precoce di Toscana
- resistenza/tolleranza agli stress biotici	Bianco precoce, San Castrese (<i>Monilinia</i> spp.); Ceccona, Nonno, Portici (Sharka); Ceccona, Ottavianese (<i>Xanthomonas arboricola</i> p.v. <i>pruni</i>); Ottavianese, San Castrese (oidio)

CILIEGIO DOLCE: Delle 330 varietà autoctone presenti nel CNGF, si è distinto un totale di 110 per caratteri interessanti, quali ad esempio:

- scarso fabbisogno in freddo	Kronio, Nera di Nuchis
- autofertilità	Carruffale di Bonnanaro, Kronio
- qualità polpa (consistenza, sapore)	Ferrovia, Malizia, Napoletana,
- Scarsa suscettibilità al "cracking"	Bertiello, Ciliegia del fiore, Mestre, Pagliaccio
- facile distacco dal peduncolo	Angiolina, Casanova, Flamengo Srim, Zuccherina di Bitonto
- resistenza/tolleranza agli stress biotici	Calizzu, Durone di Mattarello, Morettone manico lungo (<i>Monilinia fructigena</i>); Lo Conte, Smirne (<i>M. laxa</i>); Ciassarola, Ciliegia del fiore, Roana tardiva (<i>M. fructigena</i> e <i>laxa</i>), Colafemmina (ragnetto rosso)

PESCO: Delle 104 varietà autoctone presenti nel CNGF, si è distinto un totale di 67 per caratteri interessanti, quali ad esempio:

- forma del frutto piatta	Tabacchiere
- polpa rossa	Sanguigna di Savoia, Sanguinella
- qualità polpa (consistenza, sapore)	Bella di Cesena, Buco Incavato I, Paola Cavicchi precoce
- resistenza/tolleranza agli stress biotici	Bella di Cesena, Cesarini, Ciccio Petrino, Zingara Nera (bolla), Kamarat, Paola Cavicchi precoce (Sharka), Percoca Romagnola 7 (<i>Ceratitidis capitata</i>)

SUSINO EUROPEO: Delle 73 varietà autoctone presenti nel CNGF, si è distinto un totale di 29 per caratteri interessanti, quali ad esempio:

- polpa rossa	Caleca, Cariadoggia
- qualità polpa (consistenza, sapore)	Croccorighedda, Grogga, Pazza di Somma
- resistenza/tolleranza agli stress biotici	Prugna d'Italia (<i>Xanthomonas arboricola</i> p.v. <i>pruni</i>), Prugna d'Italia, Zucchella (<i>Monilinia laxa</i>)

Analisi PCA su alcune accessioni di pesco

L' utilizzazione dei caratteri più interessanti presenti nelle accessioni delle diverse specie ai fini del miglioramento genetico presuppone la conoscenza del comportamento degli stessi nella popolazione e delle relative correlazioni positive o negative che è possibile evidenziare.

In tale ottica è stato avviato, nel pesco, su 57 cultivar (13 pesche, 40 nettarine, 4 percoche), uno studio statistico dei principali caratteri quantitativi e qualitativi utilizzando l'analisi delle Componenti Principali.

I risultati dell'elaborazione hanno messo in evidenza che, nel pesco, la variabilità dei caratteri è maggiore che nelle nettarine e che nelle pesche è rappresentata per il 42% dall'epoca di maturazione, dal peso dei frutti, dalla consistenza della polpa e per un ulteriore 34% dai principali caratteri qualitativi.

La durata dello sviluppo del frutto (data di maturazione) è positivamente correlata con il calibro e la consistenza del frutto, mentre il peso dello stesso è associato negativamente ai caratteri qualitativi quali resistenza alle manipolazioni, sovraccolore dell'epidermide e contenuto in solidi solubili.

Questo studio preliminare ha messo in evidenza come la statistica multivariata può costituire una buona metodologia per valorizzare i dati raccolti nell'ambito delle collezioni di germoplasma e comprendere allo stesso tempo quali sono i parametri più rappresentativi su cui concentrare l'attività di raccolta dati.

Tale aspetto, infatti, costituisce la parte più onerosa e critica nella gestione delle collezioni di germoplasma frutticolo per le notevoli e spesso concentrate necessità di personale tecnico da destinare ai rilievi di campo, ma anche per la successiva fase di acquisizione e organizzazione dei dati. In tal senso è anche continuata l'implementazione del sistema di acquisizione dati, basato sulla tecnologia RFID che, nella specie melo, è in fase di validazione.

Il gruppo di lavoro "Valutazione Agronomica" ha collaborato attivamente nel 2012 con i colleghi degli altri tre gruppi nell'ambito delle rispettive competenze:

- a) "gruppo molecolare", verifica identità genotipica, associazione caratteri fenologici e morfologici a marcatori molecolari;
- b) "gruppo nutraceutica", individuazione e studio di accessioni aventi frutti con caratteristiche chimico-nutraceutiche distintive nell'ambito delle collezioni esistenti;
- c) "gruppo propagazione" collaborazione nella moltiplicazione di specie o cultivar "recalcitranti".

3. Attività di cessione e scambio di materiale

Il Centro Nazionale Germoplasma ha fornito, su richiesta, a vivaisti e privati materiale di propagazione di cultivar autoctone e commerciali delle diverse specie, compatibilmente con il rispetto delle norme fitosanitarie. E' in corso la messa a punto di un protocollo di riferimento per la cessione del materiale stesso in sintonia con quello di altre banche del germoplasma frutticolo, a livello europeo ed extra-europeo.

4. Aggiornamento del Centro documentazione e del sito Web dedicato

Il Centro Nazionale Germoplasma frutticolo ha curato, per tutte le accessioni in conservazione, il mantenimento di un database in cui sono compresi:

I "descrittori di passaporto essenziali" (n°41 "record" comprendenti, tra gli altri, il codice dell'Istituzione di riferimento, numero o codice identificativo, data di acquisizione, genere, specie, sottospecie, nome comune, nome dell'accessione, sinonimi, Paese di origine, status biologico dell'accessione, pedigree, codice dell'Istituzione costituttrice, anno di reperimento o costituzione, coordinate geografiche di reperimento, altitudine, fonte di reperimento).

I "descrittori specifici" (quali vigoria dell'albero, epoca di fioritura e entità, formazioni fruttifere, dimensione, forma, colore, sovraccolore, consistenza, tessitura, sapore, grado rifrattometrico, acidità totale, comportamento nei confronti delle principali avversità biotiche).

5. Attività informativa e divulgativa sul germoplasma frutticolo

Nel 2012, il Centro Nazionale del Germoplasma Frutticolo ha organizzato la 52^a e 53^a Mostra frutticola del Centro di ricerca per la Frutticoltura con la presentazione di campioni di frutti delle diverse specie e la pubblicazione di due "brochure" riportanti le principali caratteristiche fenologiche e carpologiche di fruttiferi autoctoni.

6. Pubblicazioni

DE SALVADOR, F.R.; CHIERICO, M.; IRIONE, V.; SOLIGO, F. 2012. Centro Nazionale Germoplasma Frutticolo - Mostra Pomologica, Roma, 21 luglio 2012.

DE SALVADOR, F.R.; CHIERICO, M.; IRIONE, V.; SOLIGO, F. 2012. Centro Nazionale Germoplasma Frutticolo - Mostra Pomologica, Roma, 22 settembre 2012

CRA-FRU Centro di Ricerca per la Frutticoltura, Roma - Gruppo Colture *in vitro*

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

E. CABONI, S. MONTICELLI, A. GENTILE, A. FRATTARELLI, E. CATENARO, M. AGOSTINELLI

Allestimenti di nuove accessioni di fruttiferi

Nel 2012 sono state applicate le procedure di allestimento in olivello spinoso (cv Hergo e Leikora), pecan (cv Cheyenne, Elliot e Kiova), mirabolano (5 genotipi), ciliegio dolce (Ravenna Tardiva, Ravenna gambo corto, Durona, Core e Graffione di Palombara) e pesco (Independence). Per i mirabolani e per il pesco sono stati applicati protocolli precedentemente messi a punto per altre cultivar. Per ciliegio, olivello e pecan sono stati messi a



Fig. 1. Germogli di ciliegio, cv Graffione, in moltiplicazione

confronto vari tempi di applicazione degli agenti sterilizzanti e, per quanto riguarda i terreni di coltura, varie combinazioni di sali (Nitch; Lepoivre; MS, WPM) e fitoregolatori (BA; GA3 e IBA) per definire il miglior protocollo di allestimento.

Attualmente sono in coltura le 3 cultivar di ciliegio, Durona, Core e Graffione di Palombara e la cultivar di olivello spinoso, Leikora, su cui sono in corso le prove sperimentali per ottimizzare la fase di moltiplicazione, radicazione e ambientamento. Per le altre cultivar di ciliegio, di olivello e per il pecan stanno proseguendo le prove per ottimizzare la fase di allestimento.

Ottimizzazione della conservazione in *slow growth* di cultivar autoctone di pero

Le prove per individuare le migliori condizioni per la conservazione in crescita rallentata *in vitro* di cultivar locali di pero (*Pyrus communis* L.) sono state effettuate su espianti di due cultivar antiche autoctone del Lazio, Angelica e Bella di Giugno, inserite nel Registro Volontario Regionale del Lazio.

Le colture di germogli delle due cultivar sono state mantenute a 4°C per 12 mesi nei seguenti terreni: LP standard con 45 g/L saccarosio (SAC 45), LP standard con 30 g/L saccarosio e ritardante di crescita (RC, 10-15 µM), LP standard con 30 g/L saccarosio (SAC 30-controllo) e poi trasferite in condizioni di coltura standard per la moltiplicazione. Dopo una subcoltura sono stati rilevati i tassi di moltiplicazione.

Dopo 12 mesi di crescita rallentata si è osservata, per tutti i trattamenti, una sopravvivenza del 100% dei germogli. Tutte le colture di germogli hanno mostrato, alla fine del periodo di crescita

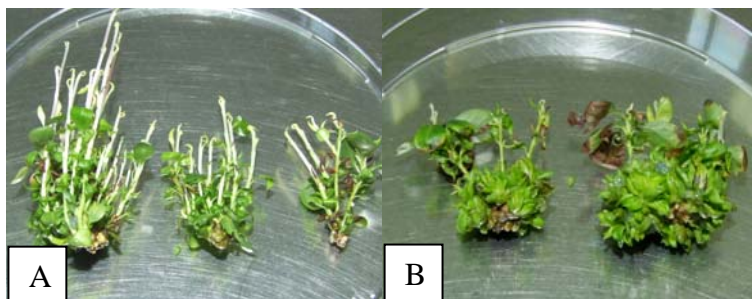


Fig. 2. Germogli provenienti dalla conservazione di 12 mesi in saccarosio 45 g/L (A) e con il ritardante di crescita alla concentrazione più alta (B)

rallentata, come anche osservato in precedenti prove su altri fruttiferi, una riduzione della capacità proliferativa (tasso di moltiplicazione) rispetto al controllo non conservato.

Il trattamento con saccarosio 45 g/L (SAC 45) e quello con il ritardante di crescita alla concentrazione più alta (CR 15 µM) hanno permesso di ottenere un tasso di moltiplicazione, dopo la conservazione, superiore al controllo e al trattamento con il ritardante di crescita alla

concentrazione inferiore (RC 10 µM). Sono in corso ulteriori prove per valutare l'effetto dei due trattamenti sugli espianti per la conservazione per periodi superiori all'anno.

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

Sono state avviate le prove di crioconservazione, mediante il metodo dell'incapsulazione-disidratazione su ciliegio utilizzando i portinnesti Gisela 6 (*P. cerasus* x *P. canescens*), CAB 11E (*P. cerasus*) e MaxMa Delbard® 14 Brokforest (*P. mahaleb* x *P. avium*) al fine di trasferire successivamente il protocollo sulle cv di ciliegio in allestimento. Gli apici, prelevati da germogli moltiplicati *in vitro* in condizioni colturali standard o mantenuti per 3 mesi a 5° C al buio, sono stati inseriti nelle sfere di alginato e trattati seguendo il protocollo precedentemente riportato (Arias Padrò *et al.*, 2012) e immersi in azoto liquido. In tutti i genotipi, dopo l'immersione in azoto liquido, solo gli apici provenienti da germogli mantenuti per 3 mesi a 5° C, al buio hanno mostrato ricrescita.

Questi risultati preliminari mostrano il ruolo del pre-trattamento al freddo in queste specie come precedentemente mostrato da altri autori in altre specie da frutto (Kushnarenko *et al.*, 2009 e referenze incluse). La sopravvivenza è stata del 15%, 20% e 35% in MaxMa 14, CAB 11E e Gisela 6, rispettivamente. Altre prove sono in atto per ottimizzare la ricrescita e per trasferire il protocollo sulle cultivar antiche di ciliegio attualmente in moltiplicazione.

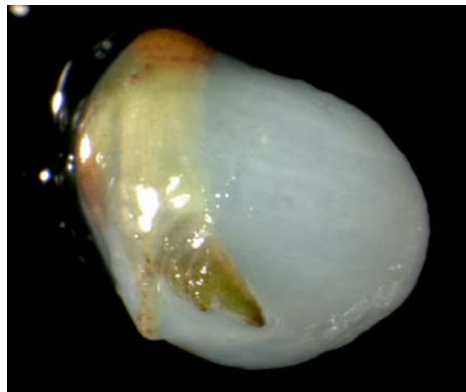


Fig. 3: Apice incapsulato di Gisela 6 in ricrescita dopo trattamento in azoto liquido

Pubblicazioni

ARIAS PADRÒ, M.D.; FRATTARELLI A.; SGUEGLIA A.; CONDELLO E.; DAMIANO C.; CABONI E. 2012. Cryopreservation of white mulberry (*Morus alba* L.) by encapsulation-dehydration and vitrification. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, Springer, 108(1): 167-172; ISSN 0167-6857.

CONDELLO E.; FRATTARELLI A.; PANIS B.; CABONI E. 2012. Crioconservazione di cultivar di melo mediante droplet vitrification. *Acta Italus Hortus*. Vol. 6, pgg. 287-289.

SGUEGLIA A.; CONDELLO E.; FRATTARELLI A.; ARIAS PADRÒ M.D.; NOTA P.; CABONI E. 2012. Crioconservazione di cultivar italiane di nocciolo. *Acta Italus Hortus* . Vol. 6, pgg. 290-292.

CABONI E.; CARAMONI M.; FRATTARELLI A.; LUCIOLI S.; FORNI C. 2012. Application of slow growth as a tool to improve *in vitro* preservation of apple (*Malus domestica* Borkh) germplasm.

Libro abstract di Convegno Soc. Botanica Italiana 107° Riun. ann. Benevento 18-21 Settembre

CABONI E.; FRATTARELLI A.; CATENARO E.; SCARPINO F.; FORNI C.; MONTICELLI S. 2012. Cryopreservation of shoot tips by encapsulation-dehydration in cherry hybrid rootstocks. Convegno COST Action FA1104 "Sustainable production of high-quality cherries for the European market"

CONDELLO E.; FRATTARELLI A.; BERRETTONI D.; MULEO R.; CABONI E. 2012. Approcci di crioconservazione di *Pyrus communis* mediante il metodo della droplet vitrification. *Acta Italus Hortus* . Vol. 6, pag. 300.

FIDEGHELLI C.; PAVIA R.; FRATTARELLI A.; CATENARO E.; CABONI E. 2012. Selection of Myrobalan rootstocks for sweet cherry . Convegno 10th Int. Symposium on Orchard System. Stellenbosh (SA), 3-6 dicembre.

CRA-FRU Centro di Ricerca per la Frutticoltura, Roma – Gruppo Analisi Molecolare
Caratterizzazione varietale mediante marcatori molecolari di accessioni di *Prunus avium*

MARIA TERESA DETTORI, JESSICA GIOVINAZZI, EMILIANO CONDELLO, IGNAZIO VERDE

Introduzione

Presso il Centro di Ricerca per la Frutticoltura di Roma è conservata una collezione di circa 600 accessioni di ciliegio dolce delle quali non è stata ancora affrontata la caratterizzazione molecolare. Il ciliegio dolce, una drupacea con genoma diploide, non dispone dell'ampia varietà di strumenti di indagine genetica a disposizione della drupacea di riferimento del genere *Prunus*, il *Prunus persica*. Per questa ragione nel terzo triennio del progetto si è deciso di sviluppare nuovi marcatori molecolari SSR da utilizzare per la caratterizzazione di ciliegio (ma anche di altre drupacee). A questo scopo si è deciso di usufruire della sequenza di Pesco (*Prunus persica* v1.0, Verde et al. 2013) rilasciata nell'aprile 2010 e, per facilitare la lettura dei marcatori molecolari, che il nuovo set di 16 *primer* SSR (2 per gruppo di associazione, indipendenti tra loro) sarebbe stato costituito da microsatelliti con sequenze ripetute tri, tetra o pentanucleotidi. Questi tipi di marcatori, infatti, garantiscono una maggiore leggibilità (ma un minor polimorfismo) rispetto alle più comuni ripetizioni dinucleotidiche. I marcatori SSR individuati in *Prunus persica* v1.0 sono disponibili all'indirizzo <http://services.appliedgenomics.org/projects/drupomics/files/SSR.gff3.bz2>.

Durante il primo anno di progetto sono stati sviluppati marcatori SSR utilizzati nel secondo anno del progetto. 191 accessioni sono state analizzate tramite 16 coppie di *primer* (15 single locus e una multilocus). Gli amplificati sono stati separati mediante corsa elettroforetica capillare con sequenziatore CEQ8000 DNA Analysis System.

Risultati e discussione

L'esame dei risultati ha evidenziato che 4 accessioni analizzate erano state catalogate erroneamente come *Prunus avium* ma appartenevano al ciliegio acido (*P. cerasus*) e sono state quindi escluse, portando così il numero di accessioni di ciliegio dolce analizzate a 187.

Tab. 1: *Primer* sviluppati per ciliegio

Nome del primer	Scaffold/ Gruppo di associazione	Locus single/multi	n° alleli osservati	n° profili osservati	Ho*	PIC**
Sc1-(3)-27J	1	s. locus	3	5	0.68	0.49
Sc1-(3)-29J	1	s. locus	6	9	0.53	0.53
Sc1-(3)-37J	1	s. locus	2	3	0.46	0.46
Sc2-(3)-16J	2	s. locus	4	7	0.72	0.58
Sc2-(4)-11J	2	m. locus	4	8	-	-
Sc2-(4)-22J	2	s. locus	8	17	0.72	0.7
Sc3-(4)-25J	3	s. locus	2	2	0.05	0.05
Sc3-(5)-24J	3	s. locus	2	3	0.25	0.25
Sc4-(4)-74	4	s. locus	3	4	0.42	0.38
Sc5-(4)-8 J	5	s. locus	3	5	0.50	0.38
Sc5-(5)-4 J	5	s. locus	5	10	0.65	0.65
Sc6-(5)-19 J	6	s. locus	3	3	0.23	0.19
Sc6-(5)-20J	6	s. locus	3	4	0.11	0.11
Sc7-(3)-12 J	7	s. locus	3	5	0.57	0.38
Sc7-(5)-4J	7	s. locus	2	2	0.15	0.14
Sc8-(3)-13 J	8	s. locus	3	4	0.25	0.22
totale alleli			56			

*Ho: eterozigosi osservata; **PIC: Polymorphism Information Content

I 15 *primer* single locus evidenziano un totale di 52 alleli, da 2 a 8 per locus esaminato, mentre il *primer* multilocus individua 6 alleli. Dei 52 alleli, 2 sono unici cioè caratterizzano ciascuno una sola accessione e 8 rari (frequenza <5%). Per ciascun locus sono state calcolate le frequenze alleliche, l'eterozigosi osservata e il PIC (*Polymorphism Information Content*), un indice che definisce l'informatività di un marcatore molecolare e che dipende dal numero di alleli e dalla loro distribuzione nella popolazione. Solo per 3 *coppie* di *primer* il PIC è risultato >0,5 (valore soglia oltre il quale l'SSR può essere considerato sufficientemente informativo). Questo potrebbe spiegare i risultati ottenuti: contrariamente a quanto osservato nel corso delle prove del primo anno per la scelta dei *primer*, effettuate su 18 cultivar (tutte completamente distinte dai *primer*) solo 106 accessioni (pari al 56,7% del totale) sono completamente distinte, mentre le altre 81 si distribuiscono in 26 gruppi (1 gruppo di 11 accessioni, 2 di 7, 1 di 4, 8 di 3 ed, infine, 14 gruppi di 2 accessioni l'uno).

Risultati preliminari ottenuti analizzando 96 accessioni di albicocco (*Prunus armeniaca*) con un **sottoinsieme** degli stessi *primer* (lavoro attualmente ancora in corso), mostrano la completa caratterizzazione del 93,6% delle accessioni di albicocco. Per quanto riguarda il ciliegio dolce, sorprendentemente, nonostante la specie sia allogama, la variabilità identificata in passato è risultata piuttosto bassa, paragonabile a quello di una specie autogama come il pesco (Guarino *et al.*, 2009). Nel caso delle accessioni analizzate nel corso del secondo anno, la scarsità di informazioni sull'origine genetica e sui caratteri della maggior parte delle accessioni saggiate non consente di escludere che molte di queste accessioni, in gran parte locali reperite in tutto il territorio nazionale, non siano in realtà strettamente imparentate o addirittura rappresentino semplicemente lo stesso clone. Alcune delle accessioni a pedigree noto provengono da mutazione gemmaria. Van compact e Early Van compact sono mutanti di Van, Stella compact di Stella, Bella Italia grossa e Bella Italia Mutazione di Bella Italia. Ancora, Burlat C1 e probabilmente anche Early Burlat derivano per mutazione da Burlat. Germersdorfer orias 92 è un mutante di Schneiders Späte Knorpel. La maggior parte di queste accessioni, come atteso nel caso delle cultivar provenienti da mutazione gemmaria (nelle cultivar derivanti da mutazione gemmaria il numero di loci coinvolto è generalmente molto ridotto) non sono discriminate fra loro. Eccezioni: Early Van Compact, diversa da Van e Burlat C1 diversa da Burlat.

Bibliografia

- Guarino C., Santoro S., De Simone L., & Cipriani G. (2009). *Prunus avium*: nuclear DNA study in wild populations and sweet cherry cultivars. *Genome*, 52(4), 320-337. doi:10.1139/G09-007.
- Verde I, Abbott AG, Scalabrin S, Jung S, Shu S, Marroni F, Zhebentyayeva T, Dettori MT, Grimwood J, Cattonaro F, Zuccolo A, Rossini L, Jenkins J, Vendramin E, Meisel LA, Decroocq V, Sosinski V, Prochnik S, Mitros T, Policriti A, Cipriani G, Dondini L, Ficklin S, Mgoodstein D, Xuan P, Del Fabbro C, Aramini V, Copetti D, Gonzalez S, Shorner D, Falchi R, Lucas S, Mica E, Maldonado J, Lazzari B, Bielenberg D, Pirona R, Miculan M, Barakat A, Testolin R, Stalling A, Tartarini S, Tonutti P, Arús P, Orellana A, Wells C, Main D, Vizzotto G, Silva H, Salamini F, Schmutz J, Morgante M, Rokhsar DS (2013). The high-quality draft genome of peach (*Prunus persica*) identifies unique patterns of genetic diversity, domestication and genome evolution. *Nat Genet* 45:487–494.

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

Polifenoli e attività antiossidante in drupacee e pomacee

DANILO CECCARELLI, CAROLINA TALENTO, EMILIA CABONI

Introduzione

La ricerca ha come obiettivo generale la caratterizzazione nutraceutica di varietà di drupacee e pomacee conservate nella collezione del Centro Nazionale del Germoplasma Frutticolo del CRA-FRU di Roma. Tale attività, che viene condotta parallelamente alle osservazioni a carattere agronomico, pomologico e genetico, è finalizzata a ottenere un quadro delle proprietà qualitative delle accessioni presenti nella collezione. Particolare attenzione viene rivolta alle varietà di origine autoctona e antica per una loro eventuale valorizzazione (anche attraverso confronti con cultivar commerciali) o utilizzazione in programmi di miglioramento genetico futuri.

Le indagini eseguite nel corso del 2012 sono state focalizzate su ciliegio e susino, due fra le più importanti tipologie di frutto presenti nel panorama produttivo nazionale e particolarmente interessanti per l'alto contenuto in sostanze bioattive che presentano.

Per tutte le varietà oggetto di studio le analisi sono state condotte considerando il frutto nella sua interezza (buccia e polpa) e hanno riguardato:

- il contenuto in solidi solubili totali (SST) con metodo rifrattometrico;
- il valore del pH;
- l'acidità totale, mediante metodo titrimetrico;
- la capacità antiossidante totale (CAT) con il metodo del DPPH;
- il contenuto in fenoli totali mediante saggio di Folin-Ciocalteu;
- il contenuto in antociani totali con metodo colorimetrico.

Ciliegio

Complessivamente sono state effettuate analisi chimico-fisiche e spettrofotometriche su 29 varietà di ciliegio dolce (*Prunus avium*), di cui 25 a buccia rossa e 4 a buccia bianca, individuate sulla base delle interessanti caratteristiche agronomiche e pomologiche evidenziate in studi precedenti.

Per quanto concerne il tenore di acidità totale i valori, espressi in g di acido malico/L di succo, sono variati da un minimo di $6,2 \pm 0,33$ della cv Graffione ad un massimo di $14,2 \pm 0,10$ della cv Flamengo Srim. Il contenuto in SST ha mostrato il valore minimo nella cv Graffione con $13,2^\circ$ Brix, e massimo nella cv Ciliegia d'Ottobre con $21,2^\circ$ Brix.

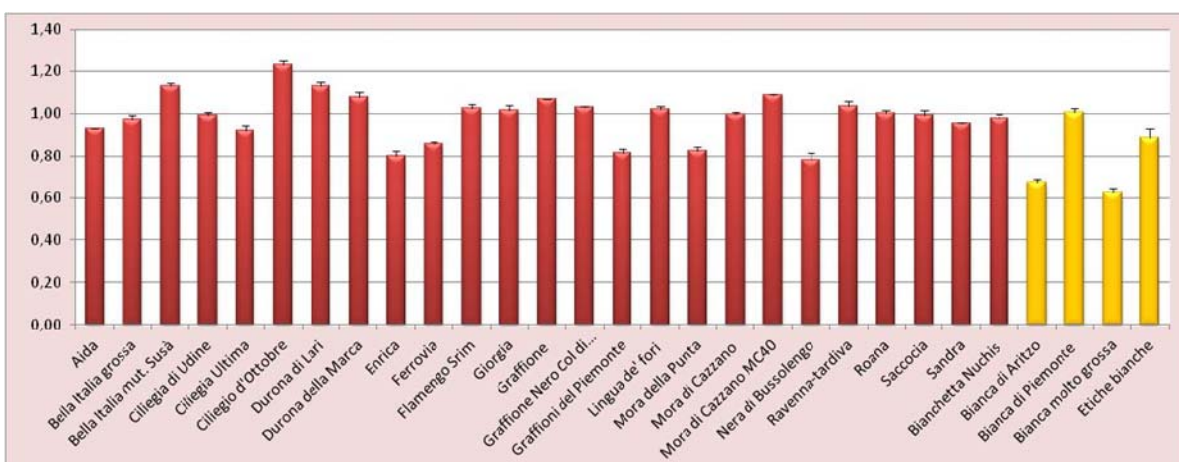


Fig. 1 – Ciliegio. Capacità antiossidante totale (µg di Trolox/mg pf). In giallo le varietà a buccia bianca. Le barre di errore mostrano la DS.

Relativamente alla CAT (Fig. 1), espressa in μg di Trolox (Tx)/mg di peso fresco (pf), quasi tutte le varietà hanno mostrato valori rilevanti e, in particolare, la Ciliegio d'Ottobre ($1,23 \pm 0,01$), la Bella Italia mutazione Susà ($1,13 \pm 0,01$) e Durona di Lari ($1,13 \pm 0,02$).

Per il contenuto in fenoli totali si evidenzia Ciliegio d'Ottobre con $270,13 \pm 2,95 \text{mg}$ di acido gallico equivalenti (GAE)/100g pf, seguita da Nera di Bussolengo ($243,72 \pm 2,75 \text{mg}$ GAE/100g pf) e Ciliegia Ultima ($184,30 \pm 2,57 \text{mg}$ GAE/100g pf).

Infine, per quanto riguarda il contenuto in antociani totali, espressi come mg di cloruro di cianidina/100g pf, i valori più elevati si sono evidenziati nelle cv Giorgia ($44,76 \pm 2,14$), Lingua de Fori ($41,74 \pm 1,06$) e Nera di Bussolengo ($41,14 \pm 1,79$).

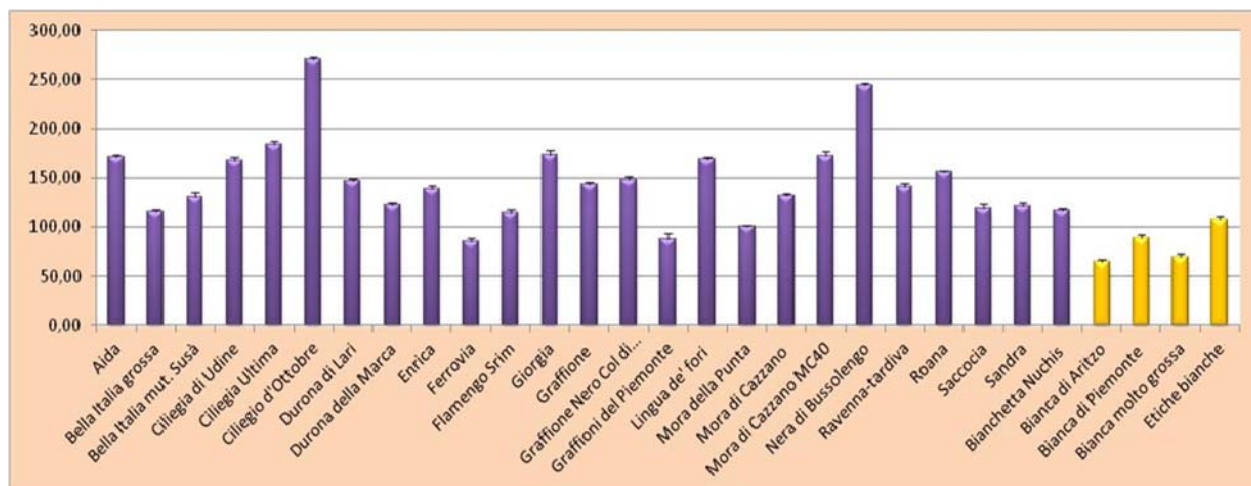


Fig. 2: Ciliegio. Polifenoli totali (mg GAE/100g pf). In giallo le varietà a buccia bianca. Le barre di errore mostrano la DS.



Bella Italia mutaz. Susà



Bella Italia grossa



Bianca di Arizzo



Etiche Bianca

Susino

Per il susino sono stati caratterizzate complessivamente 25 varietà, di cui 22 appartenenti a *Prunus domestica* e 3 a *P. salicina*.

Le analisi sono state effettuate su campioni di frutto intero ed hanno messo in evidenza che:

- i valori di acidità totale, espressi in g di acido malico/l, sono variati da un valore minimo di $5,23 \pm 0,02$ mostrato dalla cv French Prune a un massimo di $19,45 \pm 0,14$ di Brignone;
- il tenore dei SST è variato da $13,57^\circ$ Brix di Miuru a $28,33^\circ$ Brix di French Prune;
- la cultivar Liablù ha mostrato la più elevata CAT con $3,58 \pm 0,06 \mu\text{g}$ Tx/mg p.f., seguita da Sangue di Drago ($3,10 \pm 0,13$), Castagnola ($2,48 \pm 0,08$) e Agostina Dott. Mancini ($2,35 \pm 0,13$). Il valore più basso è stato trovato nella cv Stanley, $0,68 \pm 0,06 \mu\text{g}$ Tx/mg pf (Figura 3);
- per il contenuto in fenoli totali i valori più alti sono stati mostrati da Liablù ($299,07 \pm 2,09 \text{mg}$ GAE/100g pf) seguita da Sangue di Drago ($292,16 \pm 2,09 \text{mg}$ GAE/100g pf) e Faccia di Rosa ($270,14 \pm 1,09 \text{mg}$ GAE/100g pf);

- le cultivar Brignone ($18,29 \pm 0,05$ mg di cloruro di cianidina/100 g pf) e Miuru ($17,08 \pm 0,07$ mg di cloruro di cianidina/100g pf) si sono distinte per i più elevati contenuti in antociani totali. In generale questi dati, sebbene preliminari, hanno messo in evidenza che molte varietà autoctone come Castagnola, Agostina dott. Mancini, Faccia di Rosa, Prugna di Drò, presentano caratteristiche nutraceutiche molto interessanti, spesso superiori a quelle delle più diffuse cultivar commerciali (D'Ente 707, Stanley).

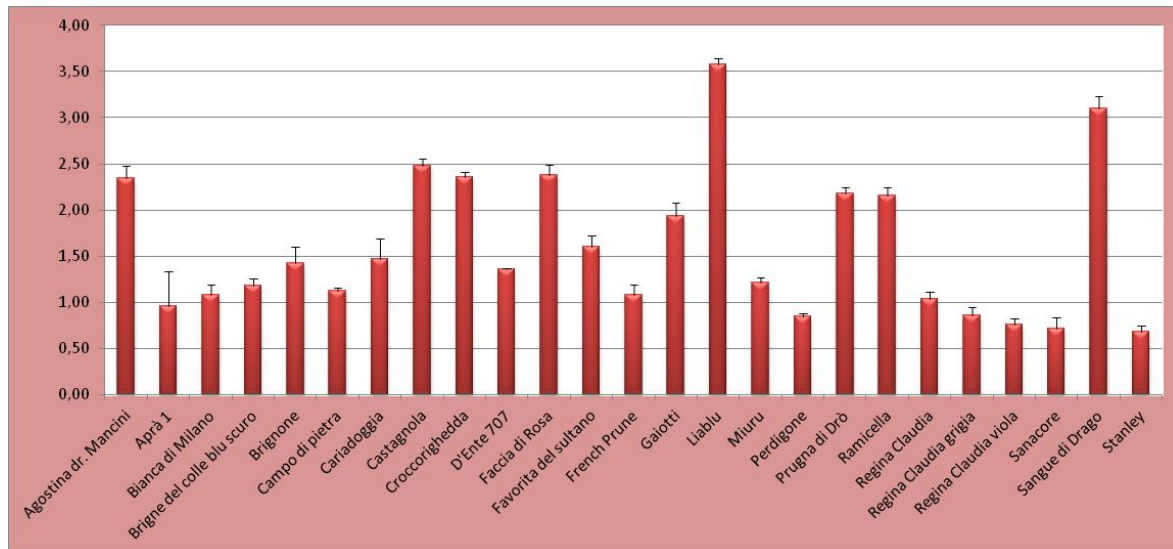


Fig. 3: Susino. Capacità antiossidante totale (µg di Trolox/mg pf). Le barre di errore mostrano la DS.



Brianone



Favorita del Sultano



Liablù

Pubblicazioni

SIMEONE A.M., NOTA P., CECCARELLI D., DEL TORO A., PIAZZA M.G., DE SALVADOR F.R., CABONI E., KRUPA T. 2012. Anthocyanins in blueberry cultivars: effect of the growing area. *ISHS Acta Horticulturae*. 926:713-716. ISBN 978-90-66056-84-8. ISSN 0567-7572.

SIMEONE A.M., NOTA P., DEL TORO A., PIAZZA M.G., CECCARELLI D., CABONI E., FIDEGHELLI C. 2012. Characterization of peach cultivars by HPLC analysis of polyphenols. *ISHS Acta Horticulturae*. 939:375-377. ISBN 978-90-66056-65-7. ISSN 0567-7572.

CECCARELLI D., NOTA P., TALENTO C., SCOSSA F., SIMEONE A.M., FIDEGHELLI C., CABONI E. 2012. Nutraceutical characterisation of Italian cherry cultivars. *II Symposium on Horticulture in Europe*. Angers 1-5 July. Abstract.

CABONI E., MONTICELLI S., GAZZA L., LUCIOLI S., CECCARELLI D., SCOSSA F., FRATTARELLI A., GENTILE A. 2012. L'attività di ricerca e di conservazione del germoplasma frutticolo presso il CRA-Centro di Ricerca per la Frutticoltura di Roma. *Convegno Fascination of Plants Day*. Roma 18 maggio. Comunicazione poster.

CRA- FRC Unità di Ricerca per la Frutticoltura, Caserta

Caratterizzazione bio-agronomica, molecolare e nutrizionale del germoplasma frutticolo campano

MILENA PETRICCIONE, TERESA MIGLIOZZI, MARIA SILVIA PASQUARIELLO, LAURA RITA CAPUANO, PIETRO REGA

Introduzione

La perdita della biodiversità rappresenta oggi uno dei problemi di maggiore interesse per il futuro dell'umanità ed è determinante per l'evoluzione dell'agricoltura; è per questa ragione che le risorse genetiche vanno accuratamente conservate e studiate. La Regione Campania è una delle regioni italiane più ricche di germoplasma frutticolo autoctono e negli ultimi tempi sono stati effettuati studi mirati al recupero, alla caratterizzazione e alla valorizzazione di varietà ed ecotipi locali delle diverse specie. La caratterizzazione agronomica e pomologica è stata poi affiancata da analisi biochimiche e molecolari che permetteranno di acquisire nuove informazioni sulle accessioni in studio.

Materiali e metodi

Lo studio è stato effettuato su nuove accessioni e su quelle già individuate dal CRA-Unità di Ricerca per la Frutticoltura di Caserta. Sono state condotte varie tipologie di analisi:

- bio-agronomiche: valutando la diversa capacità vegeto-produttiva (habitus vegetativo, epoca di ripresa vegetativa, fioritura e maturazione) delle varie accessioni presenti nei campi di collezione del germoplasma realizzati presso le aziende sperimentali del CRA-FRC appartenenti alle specie: pesco, susino europeo e melograno;

- biometriche e qualitative: sui frutti 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 mediante saggi spettrofotometrici;

- molecolari: sono state effettuate analisi molecolari al fine di evidenziare l'eventuale variabilità genetica esistente tra le cinque accessioni della varietà locale di pesco Silvette, utilizzando marcatori RAPD (*Random Amplification of Polymorphic DNA*), in particolar modo utilizzando 20 primer decamerici (Operon Technologies). I profili elettroforetici ottenuti mediante analisi RAPD sono stati convertiti in una matrice binaria (0 = assenza e 1 = presenza di banda) sulla base della quale è stata successivamente calcolata una matrice di similarità. L'analisi *cluster* è stata effettuata utilizzando il metodo *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages* (UPGMA) e il software SPSS, versione 16. Le similarità genetiche sono state calcolate utilizzando l'indice di Jaccard (Jaccard, 1908).

- biochimiche: è stata effettuata un'estrazione delle proteine totali da frutti di melograno dell'accessione PR1 secondo il protocollo di Pasquariello e collaboratori (2012). Gli estratti sono stati sottoposti ad HPLC e i picchi purificati e sottoposti a sequenziamento N-terminale. L'estrazione è stata condotta su buccia, grani e semi separatamente.

Risultati e discussioni

Nel 2012 sono state caratterizzate e valutate le accessioni di susino europeo precedentemente individuate nella regione Campania che per le sue particolari condizioni pedo-climatiche, presenta un vasto germoplasma. Complessivamente sono state valutate 11 accessioni assimilabili al gruppo europeo, Cape e Piecor Bianca, Del Carmine, Fiocco Bianco, Fiocco Rosa, Pappagona Gialla, Pappagona Rossa, Pappagona Verde, Pazzo di Somma, Riardo 1, Santa Maria e Sant'Angiolese. Le analisi fenologiche e pomologiche sono state effettuate su tutte le accessioni individuate che maturano in un'epoca compresa tra la II decade di giugno e la II decade di settembre, ma la maggior parte di esse risulta a media maturazione (II decade di Luglio- II decade di agosto).



Fig. 1. Susino europeo Cape e Piecor Bianca

Le accessioni assimilabili al gruppo delle europee hanno una pezzatura del frutto estremamente variabile che assume valori compresi tra 16.9 ± 3.1 g e 63.2 ± 4.2 g, la forma longitudinale del frutto è generalmente ellittica-oblunga, il colore di fondo della buccia è per il 70% dei casi giallo, i noccioli sono medio-piccoli, di forma allungata, la consistenza della polpa è medio-soda.

La varietà S. Angiolese si differenzia dalle altre accessioni del gruppo europeo perché risulta avere il peso del frutto più basso (16.9 ± 3.1 g), mentre la Cape e Piecor Bianca (Fig. 1) risulta avere il peso del frutto più elevato (63.2 ± 4.2 g).

Sono state analizzate accessioni di Silvette provenienti da comuni diversi della provincia di Caserta codificate come Silvette 1, Silvette 2, Silvette 3 e Silvette Rossa e presenti nel campo collezione del CRA-FRC.

Tutte le accessioni hanno frutto di grossa pezzatura con un peso medio di circa 330 g con forma rotonda sia in sezione longitudinale sia in sezione trasversale, leggermente asimmetrico. L'apice è arrotondato, la cavità peduncolare larga e poco profonda, la linea di sutura è superficiale. La buccia è sottile, staccabile, il colore di fondo bianco con sovraccolore rosso, mazzato e sfumato. La polpa è di colore bianco e mediamente venata di rosso al nocciolo, di consistenza poco soda, fondente e dalla tessitura fine. Il nocciolo è grosso, semiaderente, di color marrone, subgloboso con la presenza sulla superficie di rughe e depressioni. Il contenuto di zuccheri espressi come °Brix oscilla da 11 per la Silvette standard a 16.5 per la Silvette Rossa, mentre il contenuto di acidi espressi come g/l di acido malico è pari a 2.



Fig. 2. Accessioni Silvette 1(A), Silvette 2 (B) e Silvette 3 (C).

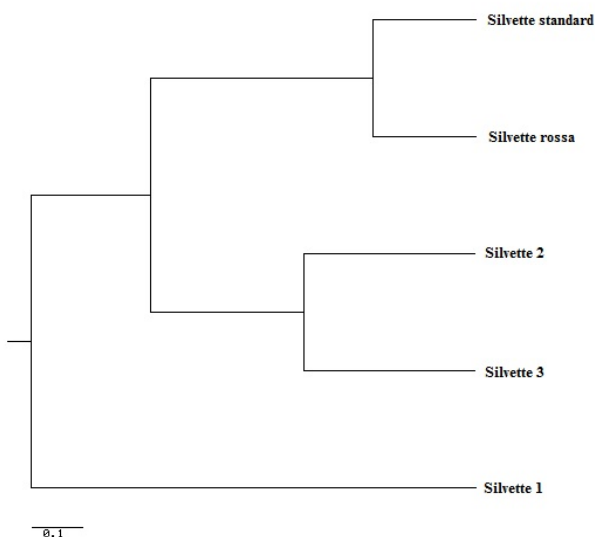


Fig. 3 Dendrogramma delle accessioni di pesco ottenuto mediante il metodo UPGMA usando il coefficiente di Jaccard.

Analisi qualitative effettuate sui frutti delle cinque accessioni analizzate hanno messo in evidenza che il contenuto di polifenoli e flavonoidi della 'Silvette' standard è inferiore rispetto a quello delle altre varietà locali, in termini di quantità, con valori rispettivamente di $55,1 \pm 1,65$ mg/100g FW e $66,2 \pm 0,2$ mg/100g FW. Le accessioni Silvette 1, Silvette 2 e Silvette 3 mostrano infatti un contenuto polifenolico rispettivamente di $97 \pm 1,20$ mg/100g FW, $83,1 \pm 1,90$ mg/100g FW e $63,8 \pm 2,55$ mg/100g FW e similare risulta l'andamento del contenuto dei flavonoidi i cui valori riscontrati sono: $6,86 \pm 0,02$ mg/100g FW, $8,93 \pm 0,54$ mg/100g FW e $6,65 \pm 0,2$ mg/100g FW (Fig. 2). La Silvette Rossa invece mostra valori poco inferiori rispetto alla Silvette standard $48,4 \pm 0,35$ mg/100g FW per il contenuto polifenolico e $6,43 \pm 0,28$ mg/100g FW per la quantità di flavonoidi.

Le cinque accessioni di Silvette sono state analizzate anche dal punto di vista genetico per valutare la variabilità presente all'interno di questa cultivar. Il dendrogramma (Fig. 3) ottenuto dalla *cluster analysis* mostra due principali raggruppamenti (A e B). Il *cluster* "A" comprende il profilo genetico della Silvette 1. Il *cluster* "B" è a sua volta articolato in due ramificazioni distinte: il sub-*cluster* B1 comprende il profilo genetico della Silvette standard e della Silvette rossa (con un indice di similarità espresso dal coefficiente di Jaccard, per quanto riguarda la Silvette standard pari a 0,875 rispetto alla Silvette rossa mentre

rispetto alla Silvette 1 (pari a 0,688), il sub-*cluster* B2 include il profilo genetico della Silvette 2 e Silvette 3 (con una percentuale di similarità della Silvette 2 pari a 0,722 rispetto alla Silvette 3; rispetto alla Silvette 1 invece pari a 0,438). Dai risultati ottenuti si evince che la Silvette 1 è geneticamente diversa dalla Silvette standard, dalla Silvette Rossa, le quali risultano geneticamente più simili, come anche le Silvette 2 e Silvette 3.

Le analisi biochimiche condotte sui frutti di melograno PR1 hanno messo in evidenza che la concentrazione proteica dei campioni estratti dall'albedo, dagli arilli e dai semi è molto più elevata in questi ultimi con valori di 4.7 µg/µl, mentre nell'albedo e negli arilli è rispettivamente di 0.018 e 0.07 µg/µl. Nonostante ciò, soltanto i cromatogrammi ottenuti mediante HPLC analizzando l'estratto proteico ottenuto dai grani hanno messo in evidenza un picco a Tr 25.1, il cui sequenziamento N-terminale ha mostrato corrispondenza con il dominio N-terminale della Peamacleina, e un nuovo picco al Tr 21.9 dal cui sequenziamento N-terminale e dalla successiva ricerca in banca dati è emerso possa corrispondere ad una tiorina una proteina molto piccola costituita all'incirca da 47 amminoacidi con un PM di 5 kDa appartenente alla classe delle defensine.

CRA- FRF Unità di Ricerca per la Frutticoltura, Forlì

Ricerca storico-documentale, caratterizzazione e valorizzazione del germoplasma frutticolo italiano e autoctono dell'Emilia-Romagna

GIOVANNINI D., BARUZZI G., BERGAMASCHI M., MALTONI M.L., LEONE A., LIVERANI A., QUACQUARELLI I., SIRRI S., FAEDI W.

1. Recupero e salvaguardia di vecchie varietà di fruttiferi autoctone della regione Emilia-Romagna e di genotipi di fragola a diversa ploidia. Catalogazione bibliografica di vecchie varietà italiane di melo e pero.

E' proseguita l'azione di reperimento presso repository pubblici e/o presso privati e propagazione di accessioni di germoplasma frutticolo della tradizione regionale e di accessioni di specie di *Fragaria* a diversa ploidia. Presso aziende frutticole locali, in particolare, nel 2012 sono state acquisite alcune vecchie varietà di pesche romagnole che mancavano alla collezione *multicrop* - Rossa di Lugo, Bella di Gambettola, Morellona, San Varano 1, San Varano 2 e San Varano 3. Queste sono state innestate su GF677 e attualmente sono in conservazione sotto tunnel in attesa degli esiti della verifica dello stato sanitario, in particolare l'assenza di virus.

Prospezioni territoriali effettuate in collaborazione col CRPV (Centro Ricerche Produzioni Vegetali) hanno consentito l'individuazione, presso produttori locali, di alcune accessioni della vecchia pesca Buco Incavato, spesso come singoli esemplari conservati per motivi affettivi e per uso familiare. Di questa vecchia varietà, la cui origine si fa risalire tra la fine dell'800 e gli inizi del '900, sono state descritte numerose selezioni, distinte in letteratura con l'aggiunta di lettere o numeri diversi al nome Buco Incavato, ma non è mai stata condotta una analisi genetica. Dai rilievi effettuati in concomitanza con la maturazione, i frutti degli esemplari neo-reperiti sono risultati nel complesso abbastanza rispondenti alle descrizioni pomologiche d'epoca e a quelli prodotti dalle accessioni CRA-FRF (acquisite presso i repository di



Fig. 1: Frutti di una delle accessioni di 'Buco Incavato' mantenute nelle collezioni CRA-FRF. Trattasi di una vecchia varietà a pasta bianca coltivata in Emilia-Romagna nei primi decenni del '900, della quale sono state descritte numerose selezioni.

germoplasma CRA-FRU e dell'Università di Bologna) ma con lievi differenze morfo-fenologiche, in particolare nella profondità della sutura e nella data di maturazione, sia tra loro che rispetto alle 'Buco Incavato' della collezione CRA-FRF. Per accertare se si trattasse di differenze dovute al diverso ambiente colturale o differenze genetiche, le accessioni suddette sono state sottoposte ad analisi di *fingerprinting* impiegando 6 marcatori microsatelliti (SSR) che un precedente studio (Giovannini et al., 2012) aveva individuato come altamente polimorfici. Le analisi hanno evidenziato sia profili molecolari identici (stesso genotipo), sia profili leggermente diversi anche se con numerosi alleli comuni, a supporto dell'ipotesi di una popolazione varietale, più che di casi di sinonimia. D'altra parte, nel periodo in cui ci sono le prime segnalazioni di Buco Incavato, la propagazione per seme, anziché su portainnesto, era una pratica ancora abbastanza diffusa, e la selezione dei migliori fenotipi può avere favorito l'affermazione di più genotipi sotto la stessa denominazione varietale.

La ricerca documentale finalizzata all'individuazione di nomi e descrizioni di vecchie varietà di melo coltivate in epoca storica sul territorio nazionale, partita nel 2011, è proseguita per tutto il 2012. Sono state catalogate oltre 5.000 accessioni di melo, descritte in 128 pubblicazioni di cui 62 antecedenti al 1900 (13 addirittura anteriori al 1700). Sono stati archiviati oltre 2.700 file in formato non modificabile (*.pdf) contenenti immagini, descrizioni, brani di testi in cui la varietà viene citata. Per 3.205 delle accessioni catalogate è disponibile una qualche descrizione, spesso comprensiva di immagine del frutto. Sono 1.550 le immagini inserite (disegni o foto originali). Sono, infine, circa 1.800 le accessioni di cui non sono disponibili descrizioni ma che, in quanto oggetto di citazione nei testi consultati, sono state comunque catalogate. E' stato strutturato un apposito programma informatico, che attraverso specifiche interrogazioni permette, oltre alla rapida consultazione del catalogo elettronico, di visionare i documenti originali.

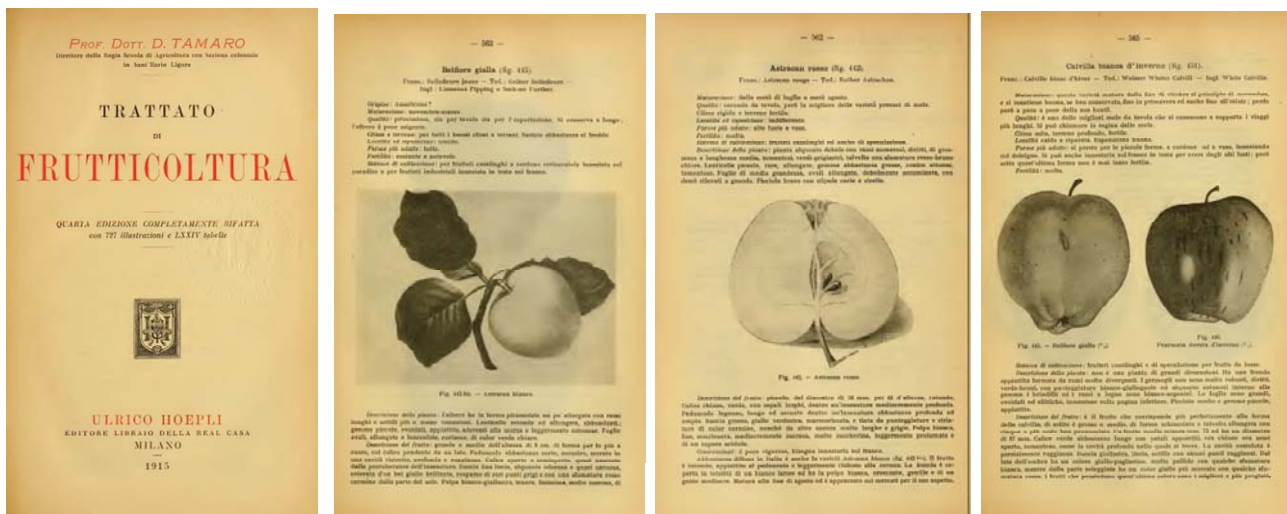


Fig. 2: Esempi di file archiviati in formato *.pdf relativi alle pagine descrittive di tre varietà di melo (Belfiore Gialla, Astracan Rosso, Calvilla Bianca d'inverno) nel Trattato di Frutticoltura di Tamaro D. (1915).

2. Caratterizzazione agronomica, pomologica, qualitativa e molecolare di vecchie varietà di fruttiferi e di accessioni di fragola a diversa ploidia.

Ad oggi, l'entità numerica delle vecchie varietà romagnole mantenute al CRA-FRF è di circa un centinaio di accessioni, raccolte sia nella collezione *multicrop* (17 melo, 10 pero, 8 pesco, 6 susino, 10 ciliegio) che nelle collezioni specie-specifiche. Per quelle che hanno superato la fase improduttiva, ai rilievi agronomici (es. vigore e portamento della pianta/albero) sono stati affiancati i rilievi fenologici (es. epoca fioritura e maturazione), pomologici (es. peso, forma del frutto) e qualitativi (brix, acidità titolabile, consistenza della polpa, colore della buccia e della polpa) utili alla descrizione accurata della varietà. Sono proseguiti anche i rilievi sulla suscettibilità di campo del

germoplasma frutticolo a oidio e bolla (pesco); a ticchiolatura e oidio (melo); monilia (ciliegio); oidio e vaiolature fogliari (fragola). Le vecchie pesche romagnole Gialla tardiva e Percoca di Romagna si sono confermate come particolarmente rustiche e scarsamente suscettibili a monilia, patogeno causa di notevoli danni economici alle produzioni peschicole e rispetto alla quale non si conoscono varietà commerciali dotate di resistenza. Le vecchie mele Panaia, Permain Dorè, Decio e Durello hanno mostrato scarsa sensibilità alla ticchiolatura in campo, a fronte di Mela Vitigna, Mela Rosa Brisighella, Mela Rosa Coriano, che sono invece risultate le più colpite. Mela Rosa, Durello, Tellina e Commercio sono, inoltre, risultate poco suscettibili all'oidio.

In fragola, i rilievi di suscettibilità a oidio e vaiolatura fogliare hanno evidenziato la scarsa sensibilità ad oidio delle selezioni 06.002.03 e 05.054.05, ottenute dalla combinazione di incrocio (00.108.3 x Alba). Nel *pedigree* delle due selezioni citate compare *F. chiloensis* a frutto rosso, impiegata come parentale per trasmettere la resistenza a oidio e alla vaiolatura fogliare indotta da patogeni fungini.



Dalla sinistra, piante delle vecchie varietà 'Souvenir de Charles Machiroux', 'Jescou' (*F. x ananassa*) e 'Siegerland' (*F. moschata*) mantenute nella collezione di germoplasma fragola CRA-FRF.

E' proseguito lo studio iniziato 2011 allo scopo di evidenziare le differenze qualitative, in particolare quelle nutraceutiche, tra genotipi appartenenti a diverse specie di *Fragaria*. Numerose variabili qualitative sono state misurate sui frutti campionati da 22 genotipi a diversa ploidia, 10 diploidi, 6 esaploidi e 6 ottoploidi: contenuto di solidi solubili, acidità titolabile, consistenza della polpa, colore dell'epidermide, singoli zuccheri e acidi organici, vitamina C, contenuto totale di polifenoli, antociani totali, CAT. I dati ottenuti nel biennio sono stati elaborati con tecniche di analisi multivariata per evidenziare le principali differenze tra le specie, e individuare, nell'ambito di ciascuna specie, le accessioni che producono frutti con migliori parametri salutistici. Sulla base dei soli parametri qualitativi dei frutti, è stato possibile distinguere i genotipi analizzati in tre *cluster* principali, corrispondenti ai tre livelli di ploidia di appartenenza: mediamente le fragole diploidi sono risultate più ricche in polifenoli totali, così come si sono contraddistinte per un'attività antiossidante e un'acidità titolabile più elevate rispetto alle esaploidi e alle ottoploidi. I frutti delle esaploidi sono risultati i più dolci, soprattutto a confronto con le ottoploidi, e i più poveri di acido ascorbico, mentre per acidità titolabile, attività antiossidante e contenuto di polifenoli totali sono risultati intermedi agli altri due livelli di ploidia.

I dati descrittivi rilevati nel 2012 sulle varietà antiche in collezione sono stati inseriti su foglio elettronico, quindi trasferiti nei database CRA-FRF in un formato idoneo al trasferimento nel database predisposto da CRA-FRU. L'elenco di tutte le accessioni di fruttiferi e fragola conservati presso le collezioni CRA-FRF, corredato dei descrittori di passaporto, è stato inviato a CRA-FRU per il trasferimento sul database delle accessioni conservate presso centri ed Unità di Ricerca CRA (<http://planta-res.entecra.it>).

4. Valorizzazione delle vecchie varietà di fruttiferi e fragola attraverso attività di divulgazione e/o di *breeding*.

Alcune vecchie varietà di fruttiferi e fragola sono state inserite nei programmi di *breeding* come parentali portatori di caratteri di interesse. Nel 2012, sono state impiegate negli incroci due vecchie varietà di pesco caratterizzate da elevata rusticità: Gialla Tardiva, di cui le valutazioni di campo confermano la buona tolleranza a oidio e monilia e Percoca di Romagna 7, che da studi condotti a

CRA-FRU risulta particolarmente resistente alla mosca della frutta. In fragola, sulla scorta dei risultati dello studio multivariato effettuato sulle variabili qualitative analizzate nel 2011 su 22 genotipi del genere *Fragaria*, sono stati individuati alcuni genotipi con valori nutraceutici particolarmente elevati. Nel 2012 è stato pianificato ed effettuato l'incrocio tra la fragolina di bosco Sara, e Alpine. Dalle due libere impollinazioni di accessioni delle vecchie pere Cocomerina precoce e tardiva, portatrici del carattere "elevato contenuto di antociani" nella polpa, sono stati ottenuti 833 semi. In melo, l'antica varietà Decio, portatrice di rusticità e buona adattabilità ambientale è stata incrociata con una varietà commerciale di ottime caratteristiche organolettiche e da questo incrocio sono stati ottenuti 432 semi. Sono attualmente presenti nei campi di selezione circa 750 semenzali ottenuti da incroci fra varietà di germoplasma locale e nazionale (Mela Rosa, Abbondanza Rossa, Annurca, Mela Lauria, Rugiada NR) con cultivar commerciali. Nel 2012 sono state messe a dimora 11 piante di Cornetta liberamente impollinata nel 2011.

Attività divulgative

Tra le iniziative mirate alla valorizzazione delle risorse genetiche, come consuetudine, anche nel 2012 CRA-FRF ha organizzato, collaborato all'organizzazione e/o partecipato a numerosi eventi inerenti le risorse genetiche frutticole: incontri tecnici; mostre pomologiche con esposizione di campioni di frutti delle proprie collezioni frutticole e di fragola; divulgazione delle proprie attività di ricerca inerenti le risorse genetiche; eventi di approfondimento e degustazione dei frutti di vecchie varietà autoctone, in collaborazione ad associazioni locali, in occasione di fiere e manifestazioni locali. CRA-FRF ha altresì partecipato a diversi eventi nazionali ed internazionali presentando poster o comunicazioni orali inerenti le risorse genetiche.

Partecipazione a eventi sul territorio:

- 20 maggio: La frutta si conosce mangiandola: la fragola, Bentivoglio (Bo);
- 27 luglio: "Pesche in festa 2012", San Martino in Villafranca (FC);
- 22 agosto: Degustazione 'Buco Incavato', Massa Lombarda (RA);
- 14 ottobre: La frutta si conosce mangiandola: mele e pere, Bentivoglio (Bo);
- 15 ottobre: 'Conosciamo la mela' per i bambini della scuola dell'infanzia;
- 27 novembre: Geo&Geo, Roma.

Organizzazione o partecipazione a mostre pomologiche:

- 6 luglio: Brisighella (RA);
- 21 luglio e 22 settembre, Roma;
- 26-27 luglio, Faenza;
- 22 settembre, Roma;
- 25-26-27 settembre, MACFRUT a Cesena;
- 12 ottobre, Zevio (VR);
- 25 ottobre, Presentazione di frutti Salone del gusto a Torino;
- 27 novembre, Presentazione di frutti Mipaaf a Roma.



Alla cerimonia d'impianto di astoni di 'Buco Incavato' presso il Museo della Frutticoltura a Massa Lombarda (RA), maggio 2012, erano presenti anche i bambini della scuola elementare.

Pubblicazioni

Origini e diffusione del pesco ed evoluzione della peschicoltura in Emilia-Romagna”, Tesi di laurea di Samuele Lullo, relatori Marangoni, Giovannini e Toselli. Anno accademico 2011/12;

GIOVANNINI D., DETTORI M.T., LEONE A., LIVERANI A., SIRRI S., TELLARINI S., VERDE I. 2012. Assessment of genetic variability in Italian heritage peach resources from Emilia-Romagna using microsatellite markers. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 87 (5) 435-440.

MALTONI M.L., GIOVANNINI D., FAEDI, W. 2012. Fruit Quality Traits of Strawberry Genotypes with Different Ploidy Level. 7th International Strawberry Symposium, Beijing, China, 18-22 febbraio 2012, pag. 204. Abstract.

GIOVANNINI D., BUSCAROLI C., LEONE A., LIVERANI A., MISSERE D., SIRRI S., TELLARINI S. 2012. Reintroduzione in coltura di antiche varietà da frutto autoctone del territorio romagnolo: i progetti comprensoriali delle province di Ravenna e Forlì-Cesena. IX Convegno Nazionale Biodiversità, 6-7 settembre 2012, Bari. Abstract.

GIOVANNINI D., BRANDI F., LEONE A., QUACQUARELLI I., SIRRI S., LIVERANI A. 2012. Recupero e caratterizzazione di varietà che hanno fatto la storia della peschicoltura in Romagna IX Convegno Nazionale Biodiversità, 6-7 settembre 2012, Bari. Abstract.

MALTONI M.L., GIOVANNINI D., QUACQUARELLI I., FAEDI W. 2012. Caratterizzazione qualitativa di frutti di *Fragaria* a diversa plodia. IX Convegno Nazionale Biodiversità, 6-7 settembre 2012, Bari. Abstract.

GIOVANNINI D., GIMELLI N., LEONE A., QUACQUARELLI I., LIVERANI A., SIRRI S. 2012. Studies on Heritage Sweet Cherry Resources at CRA-FRF. 1th Working Group and 2th Management Committee Meetings, COST Action FA1104 , Palermo 21-23 novembre 2012. Poster.

MARCHESE A., MARRA F.P., GIOVANNINI D., LEONE A., MAFRICA R., PANGALLO S., CARUSO T. 2012. Identification of self(in)-compatibility genotypes and microsatellite marker based fingerprinting of traditional Italian sweet cherry accessions. WG1 meeting ‘ Application of Genomic approaches to breeding cherries COST Action FA1104 on ‘ Sustainable Production of high-quality cherries for the European Market’, Trento, 1 ottobre 2012. Poster.

GIOVANNINI D., BARUZZI G., BERGAMASCHI M., LIVERANI A., MALTONI M.L., SIRRI S., FAEDI W., 2012. Recupero, conservazione e valorizzazione del germoplasma frutticolo italiano e autoctono dell’Emilia-Romagna. *Notiziario Risorse Genetiche Vegetali* 2/3 : 36-39.

MALTONI M.L., GIOVANNINI D., FAEDI, W. 2012. Fruit Quality Traits of Strawberry Genotypes with Different Ploidy Level. 7th International Strawberry Symposium, Beijing, China, 18-22 febbraio 2012, pag. 204. Abstract

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

Raccolta, caratterizzazione e valorizzazione delle risorse genetiche vegetali riguardanti l'agrumicoltura

GIUSEPPE REFORGIATO RECUPERO, GIUSEPPE RUSSO, SANTO RECUPERO, CONCETTA LICCIARDELLO, MARIA PATRIZIA RUSSO, PAOLA CARUSO, DONATA PIETRO PAOLO, FLORIANA CALDARERA

Introduzione

Nel 2012 l'attività effettuata da CRA-ACM ha riguardato

A) Nell'ambito della ricostituzione del germoplasma proveniente dalle vecchie collezioni, l'attività effettuata nel 2012 presso l'azienda sperimentale Palazzelli ha riguardato **l'innesto in campo di 49 accessioni di Citrus**, di cui 19 di interesse ornamentale (Tab. 1).

B) L'attività iniziata nel 2010 riguardante la **caratterizzazione con marcatori SNP di alcune accessioni di arancio** (biondo e pigmentato) **e di clementine** si è conclusa con la pubblicazione nel 2012 su *Molecular Breeding* del lavoro 'Use of an expressed sequence tag-based method for single nucleotide polymorphism identification and discrimination of Citrus species and cultivars' di Bernardi J. et al.

Attraverso *Quality SNIP Software* sono state individuati 4.400 contigs di *C. clementina* e 4.100 di *C. sinensis* contenenti putativi SNPs. Successivamente su un totale di 163 SNP validati, 81 sono risultati polimorfici, ma solo 3 sono risultati polimorfici all'interno della specie.

C) Nell'ambito della valorizzazione delle risorse genetiche nel 2012 si è proceduto alla **brevettazione** di:

- C 1867 proposto alla brevettazione europea (CPVO) (2012/0556) con il nome di Early Sicily
- E 522 proposto alla brevettazione europea (CPVO) (2012/0557) con il nome di Sweet Sicily
- F6 P12 proposto alla brevettazione europea (CPVO) (2012/0557)
- ARCOBAL proposto all'Ufficio Italiano Brevetti

Early Sicily:

I frutti sono distribuiti principalmente nella parte interna della chioma, hanno un forte attacco al peduncolo; il peso medio varia tra i 150-180 g, sono facilmente sbucciabili, hanno una forma oblata o leggermente arrotondata. La polpa ha caratteristiche intermedie tra il clementine e l'arancio Tarocco; il succo raggiunge il 47%. Questa varietà può essere raccolta entro la metà di novembre, mantenendo una qualità accettabile fino a metà dicembre.

Sweet Sicily:

Il peso medio varia tra i 180-210 g. I tegumenti dei segmenti, a differenza di altri triploidi, sono particolarmente sottili e rendono la polpa molto deliquescente e gustosa. Sulla base dei parametri chimici del succo (SST, acidità e rapporto di maturazione) rilevati in fasi progressive di maturazione, Sweet Sicily può considerarsi maturo entro la metà di novembre e mantenere una qualità accettabile fino a metà dicembre.

Early Sicily e Sweet Sicily potranno ampliare la disponibilità dei mandarini pigmentati per un più ampio periodo, incentivando una più efficiente fidelizzazione del consumatore. L'idea originaria era quella di produrre frutti di mandarino arricchiti con antocianine, il cui valore salutistico costituisce un plus valore, preso oggi in considerazione da parte di un consumatore sempre più attento. Ovviamente i frutti di questi ibridi, a causa della loro precocità, non riescono ad esprimere la pigmentazione rossa quando raccolti nei mesi di novembre-prima quindicina di dicembre, perché non si possono avvantaggiare di esposizioni a temperature fredde necessarie ad attivare la

biosintesi dell'antocianina. In questi casi si potrà fare ricorso alla loro conservazione in frigorifero per due - tre settimane a 5°C, per stimolare la pigmentazione antocianica.

F6 P12:

Proposto alla brevettazione Europea (CPVO) (2012/0557) come portainnesto per gli agrumi. Questo ibrido è stato ottenuto nell'ambito del programma di miglioramento genetico del portainnesto, che ha previsto l'utilizzo del monoembrionico *C. latipes* (Swing.) Tan., come genitore femminile e l'arancio trifogliato come genitore maschile. Il positivo risultato ottenuto in combinazione con gli aranci Tarocco e Washington Navel e il clementine hanno motivato l'interesse per la sua brevettazione.

D) L'attività di valorizzazione riguardante l'aspetto ornamentale:

ARCOBAL, ibrido di interesse ornamentale proposto all'Ufficio Italiano Brevetti, è stato ottenuto dal limone Meyer X arancio Doppio Sanguigno. Le caratteristiche striature rosso-intenso dei suoi frutti rappresentano una condizione di unicità nell'ambito del genere *Citrus*.

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

n.	nome	n.	nome
1	ar. dolce Demmi	26	clemapo mutato
2	ar. Moro Nuc. 58 8D 1 Russo	27	mand. Nova
3	ar. Moro Sabuci 9	28	satsuma a foglia mutata
4	ar. Moscato di spina II	29	tang. Mapo
5	ar. Navel Washington mutazione a frutto grosso Az. Grimaldi (Xirumi)	30	tang. Orlando CRC 2790LM x DS-19 (lim. Meyer x ar.doppio sanguigno)
6	ar. Sanguigno zuccherino	31	LM X LR-14 (lim. Meyer x lima Rossa)
7	ar. Sanguinello Moscato Romeo III Nuc.	32	LM X CH-3 (lim. Meyer x chinotto)
8	ar. Tarocco a buccia gialla e polpa pigmentata	33	LM X CH-8 (lim. Meyer x chinotto)
9	ar. Tarocco allungato a cilindro	34	LM X CH-13 (lim. Meyer x chinotto)
10	ar. Tarocco asciutto	35	LM X DS-29 (lim. Meyer x ar.doppio sanguigno)
11	ar. Tarocco Basso	36	LM X LR-7 (lim. Meyer x lima Rossa)
12	ar. Tarocco Dal Muso (contr. Bernaldo)	37	C 4528 (clem. Oroval x limone Cavone 4x)
13	ar. Tarocco M (marze Maugeri ISA)	38	C 4257 (lim. Meyer x doppio Lentini)
14	ar. Tarocco Meli	39	04-K5 (chinotto x cedro mano di Buddha)
15	ar. Tarocco Paoli	40	04-K3 (chinotto x cedro mano di Buddha)
16	ar. Tarocco Virgillito	41	04-K3 (chinotto x cedro mano di Buddha)
17	ar. Washington (mutazione a frutto grosso)	42	2005-H (kum. ovale x limequat Lakeland)
18	clem. Campobasso	43	04-F5 (kumq. Ovale libera impoll.)
19	clem. Comune variegato	44	04-F4(kumq. Ovale libera impoll.)
20	clem. Hernandine	45	C 5306 (lemonfiore) (clem. Oroval x lim. Cavone 4x)
21	clem. piccolo Ramacca	46	C 4536 (clem. Nules x lim. Zag. Bianca)
22	clem. precoce 2	47	C 6535 (clem. Rosso)(clem. Nules x ar. Tarocco 4x)
23	clem. SRA 89	48	C 4257 (lim. Meyer x lim. doppio Lentini)
24	clem. Tardivo	49	lim. Rosso Nuc. ISA
25	clem. Tardivo Carbonello		

*da 31 a 49 di interesse ornamentale

SPECIE ORNAMENTALI

CRA-FSO Unità di ricerca per la Floricoltura e le Specie Ornamentali, Sanremo

L'attività svolta su *Passiflora*, *Viburbo*, *Rosmarino*

ANNALISA GIOVANNINI, CLAUDIO CERVELLI, ENRICO FARINA, CARLA DALLA GUDA, LAURA DE BENEDETTI, PASQUALE CASELLA, SERGIO ARIANO, CESARE BIANCHINI

PASSIFLORA

Modalità di mantenimento della collezione

La collezione di passiflore attualmente presente presso il CRA-FSO è composta da 43 genotipi (26 specie botaniche e 17 fra varietà e ibridi registrati). Le piante sono coltivate in serra con riscaldamento basale invernale e ombreggiatura nella stagione estiva, in vasi corredati da un supporto rigido in plastica e ferro per consentire l'avvolgimento dei viticci e un cartellino di riconoscimento, in cui è indicato il nome della specie e il sottogenere di appartenenza e dove è riportata una riproduzione fotografica del fiore.

Coltura *in vitro*

Le accessioni *P. x allardii*, rigenerate da fiori immaturi e *P. x allardii*, *P. 'Guglielmo Betto'* e *P. 'Manta'* rigenerate da viticci, sono continuamente micropropagate sul terreno di coltura MSS e BAP 1,33 μM , con sub-colture mensili. E' stato messo a punto inoltre un protocollo di sterilizzazione con ipoclorito di sodio 2% dei semi e un protocollo di semina *in vitro* sul terreno di coltura MS arricchito con BAP 11 μM e GA_3 1,4 μM in condizioni di luce e temperatura controllate. La germinazione assistita ha permesso lo sviluppo *in vitro* del genotipo ibrido *P. 'Clara Luna' x P. caerulea* (Foto 1).



Foto 1: Sviluppo del genotipo ibrido *P. 'Clara Luna' x P. caerulea* ottenuto tramite germinazione assistita *in vitro*

Descrittori morfo-biologici

L'analisi delle componenti principali (PCA), basata su 15 descrittori morfologici (media della lunghezza e larghezza della corolla, dei petali, dei sepali, della corona dei filamenti e delle brattee, media della lunghezza e larghezza delle foglie, lunghezza dei piccioli fiorali, fogliari e dell'androginofo), è stata utilizzata per caratterizzare i nuovi ibridi ottenuti da incroci interspecifici, realizzati presso il CRA-FSO. I primi due assi spiegavano il 92% e il 6% della varianza totale osservata. I caratteri diametro della corolla, lunghezza del picciolo florale e dimensioni delle foglie, che risultano più affini alla coordinata uno, sono quelli che meglio sono riusciti a discriminare i genitori *P. sublanceolata* e *P. foetida* var *hastata*, appartenenti al sottogenere *Dysosmia*, dai loro ibridi. L'analisi *cluster* (*hierarchical clustering*) è stata utilizzata per la visualizzazione dei risultati della caratterizzazione morfologica degli ibridi.

Marcatori molecolari

Per la caratterizzazione del germoplasma vegetale, oltre all'analisi del fenotipo mediante descrittori morfologici e fisiologici, è stata affiancata quella dell' "impronta genetica" con l'analisi del DNA. Dopo aver verificato 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. 2012), è stata utilizzata una nuova tecnica di *fingerprinting* basata sull'amplificazione degli introni dei geni per la β -tubulina in collaborazione con il Dott. Luca Braglia dell'Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria del CNR di Milano. Con questa analisi è stato possibile discriminare le specie, le varietà e gli ibridi presenti in collezione. In particolare, per

quanto riguarda i due incroci interspecifici realizzati presso il CRA-FSO nel 2010 (*P. sublancoolata* x *P. foetida* var. *hastata* e *P. Vivacemente*' x *P. watsoniana*), è stato possibile confermare la condizione ibrida delle piante ottenute: esse hanno infatti mostrato di ereditare le bande caratteristiche di entrambi i genitori (Giovannini et al. 2012).

I risultati ottenuti possono già essere utilizzati come integrazione dei descrittori fenotipici e come riferimento in programmi di miglioramento genetico. Durante tutta l'estate e l'autunno 2012 sono continuate le attività di incrocio e raccolta dei frutti maturi (Foto 2).

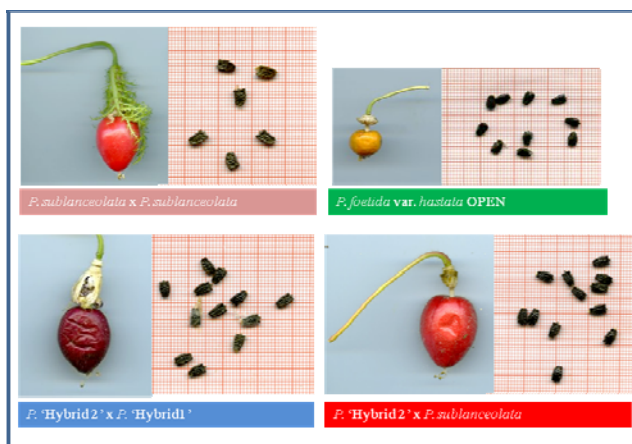


Foto 2: Scansioni di frutti e semi di *Passiflora* ottenuti da incroci effettuati presso il CRA-FSO.

VIBURNO

E' proseguita la registrazione delle fasi fenologiche nelle collezioni di Sanremo (IM)(100 m slm) e di Vezzanelli di Zignago (SP) (600 m slm). Le osservazioni fenologiche sui viburni sono state accorpate a quelle degli anni precedenti, per una analisi basata su più anni di osservazione. Si sono confermate maggiori velocità di crescita di alcune specie o cultivar di viburno a Vezzanelli di Zignago rispetto a Sanremo (es. *V. setigerum*, *V. cinnamomifolium*, *V. sieboldi* 'Seneca'), ma a Sanremo le fioriture sono risultate notevolmente anticipate. La morte di alcune accessioni a Vezzanelli ha evidenziato la loro sensibilità alle temperature invernali dell'ambiente pre-appenninico. Le varietà di *Viburnum plicatum* hanno confermato la necessità di un parziale ombreggiamento per la maggiore sensibilità rispetto ad altre specie alle alte temperature estive.

Sono stati presi accordi con la Regione Liguria per l'inserimento del "Giardino dei Viburni" di Vezzanelli, inaugurato al pubblico il 28 aprile 2012, nella Rete dei Giardini Botanici Liguri.

E' stato preparato un libro sulla collezione di Viburni, esaminandone gli aspetti botanici e agronomici, oltre ad una introduzione illustrante aspetti storici dell'uso ornamentale dei viburni.

ROSMARINO

Incremento e mantenimento della collezione

Attraverso la pianificazione ed esecuzione di varie missioni di collezione effettuate nel 2012 (Corsica, Sardegna, Isola di Capraia, Monte Argentario, Lazio) sono state acquisite numerose accessioni spontanee al fine di un campionamento delle popolazioni naturali ma anche, nel caso di specifici genotipi individuati sul posto, per selezionare potenziali nuove varietà, riproducibili agamicamente, dotate di insolite e interessanti caratteristiche di importanza ornamentale (parte vegetativa o riproduttiva). Il materiale vegetale è stato prelevato sotto forma di talee, che sono poi state messe in radicazione a Sanremo; le piantine ottenute sono state coltivate in pien'aria in vasi di diametro 15 cm in condizioni uniformi ambientali, irrigue e nutrizionali per permettere un reale confronto delle caratteristiche intrinseche del genotipo. In analoghe condizioni di mantenimento sono le varietà di rosmarino, che sono coltivate in vasi da 30 o 60 cm di diametro (foto 3).



Foto 3: Fioritura a fine ottobre in pien'aria delle varietà di rosmarino

Alcune accessioni spontanee hanno fiorito già entro la fine del 2012 mostrando in alcuni casi una abbondante formazione di fiori anche in pieno inverno (foto 4).

Sono state inoltre acquisite da vivaisti specializzati e aziende di produzione di piante aromatiche ulteriori 9 varietà di rosmarino. Nel complesso le accessioni di rosmarino della collezione presso il CRA-FSO (specie, ibridi, varietà, materiale spontaneo) è stato portato a 138, comprendente 48 varietà e 86 accessioni spontanee di *R. officinalis* e 4 accessioni di specie diverse da *R. officinalis*.



Foto 4: Fioritura in piccoli vasi di alcune accessioni di origine spontanea

Fenologia

Preliminari osservazioni sulla fenologia delle varietà hanno evidenziato marcate differenze nella precocità di fioritura, risultando inoltre le varietà erette spesso più tardive di quelle semierette e prostrate. I periodi di più abbondante fioritura sono in genere il fine inverno – inizio primavera e metà-tardo autunno, ma in condizioni idriche non limitanti sono ridotti i periodi dell'anno su cui sono completamente assenti fiori sulla pianta; ciò avviene per la stragrande parte delle varietà.

La fioritura è avvenuta su racemi laterali all'asse principale di crescita nel periodo primaverile, nell'autunno la fioritura è stata osservata anche apicalmente ai fusti. Al fine di meglio definire i periodi e gli stadi di fioritura è stato definito un tipo di scheda di rilievo fenologico basata sui parametri adottati dal Gruppo di lavoro nazionale per i giardini fenologici – specie legnose.

Altre attività

In collaborazione col Dipartimento di Farmacia dell'Università di Pisa è stata effettuata la caratterizzazione chimica dell'olio essenziale di 11 varietà di rosmarino, i cui risultati sono in fase di elaborazione.

In base a dati biometrici sinora acquisiti è iniziata la stesura delle schede descrittive varietali secondo i descrittori e il modello definiti l'anno precedente.

Organizzazione di eventi e partecipazione a convegni

- Giornata "Porte Aperte" al CRA-FSO a Sanremo il 18 maggio 2012 in occasione del Fascination Day. Visita alle collezioni di Viburno, Rosmarino e Passiflora.

- Partecipazione al IX Convegno sulla Biodiversità, Bari sett. 2012: Dr. Cervelli

- Partecipazione al XXIV Eucarpia Symposium –Section Ornamentals, Varsavia, sett. 2012: Dr.ssa Giovannini

- Inaugurazione del Giardino dei Viburni di Vezzanelli (SP), 28 aprile 2012: organizzato da Dr. Farina, Dr.ssa Carla Dalla Guda, in collaborazione col Comune di Zignago (SP)

Pubblicazioni

GIOVANNINI A., DENTE F., DE BENEDETTI L., NICOLETTI F., BRAGLIA L., GAVAZZI F., MERCURI A. 2012. Interspecific hybridization in ornamental passion flowers. *Acta Horticulturae*, 953: 111-118.

NICOLETTI F., BRAGLIA L., DE BENEDETTI L., DENTE F., BALLARDINI M., A. MERCURI, A. GIOVANNINI. 2012. Caratterizzazione molecolare di passiflore ornamentali. *Acta Italus Hortus*, 6: 241-244.

CERVELLI C., MASSELLI L. 2012. Variabilità delle caratteristiche morfologiche in varietà ornamentali di rosmarino e definizione di descrittori specifici. IX Convegno sulla Biodiversità, 5-7 settembre 2012, Bari, Libro dei Riassunti pag. 5.

FARINA E., DALLA GUDA C. 2012. Collezioni di Viburni in Italia. ACE International. Realizzazione di un documento descrittivo delle accessioni della collezione di Passiflora. File pdf sul sito del CRA-FSO www.istflori.it.

CRA-SFM Unità di ricerca per il recupero e la valorizzazione delle specie floricole mediterranee, Bagheria (PA)

L'attività svolta per il recupero delle rose selvatiche siciliane e per la valorizzazione dell' *Euphorbia x lomi*

GIANCARLO FASCELLA, G. GIARDINA, G. PROVENZANO

ROSE SICILIANE

Propagazione *in vitro* di Rose siciliane spontanee

Sono state micropropagate accessioni autoctone appartenenti al genere *Rosa* e reperite in vari areali della Sicilia al fine di definire un protocollo di produzione di massa per genotipi a elevata potenzialità ornamentale e paesaggistica.

L'introduzione *in vitro* di rose siciliane ha evidenziato come l'adattabilità a tale tipologia di coltura vari in funzione del genotipo, con specie che sono risultate recalcitranti alla micropropagazione, facendo rilevare altissime percentuali di disseccamento dei germogli.

Le prove di moltiplicazione *in vitro* a diversa concentrazione di benziladenina (BA, 0 - 0.25 - 0.5 - 0.75 mg/L), sulle accessioni introdotte con successo, hanno evidenziato una chiara influenza sia del contenuto in BA del substrato che del genotipo sul tasso di moltiplicazione delle plantule. Il numero di germogli prodotto da ciascun espianto è andato, infatti, aumentando proporzionalmente all'aumentare della dose del fitoregolatore di crescita, passando da valori prossimi allo zero rilevati in corrispondenza del controllo (privo di ormone) ad un massimo di 1.4 germogli/espianto ottenuti con la più elevata concentrazione di BA (0.75 mg/L). I tassi di moltiplicazione *in vitro* sono variati anche al variare della specie testata: *Rosa canina* e *R. sempervirens* si sono contraddistinte per una maggiore capacità di emissione di germogli/espianto rispetto a *R. micrantha* e *R. corymbifera* (Fig. 1).

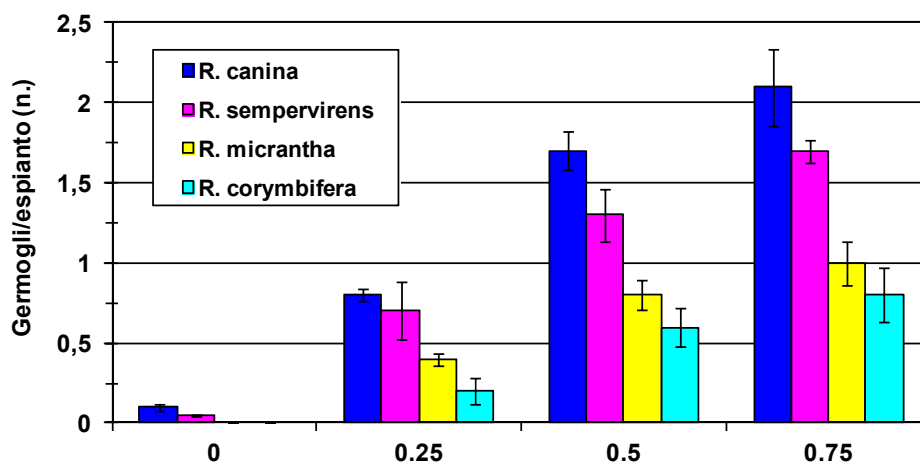


Fig. 1 – Effetto del genotipo e della concentrazione di BA (mg/L) sul tasso di moltiplicazione *in vitro* degli espianti di *Rosa* spp.

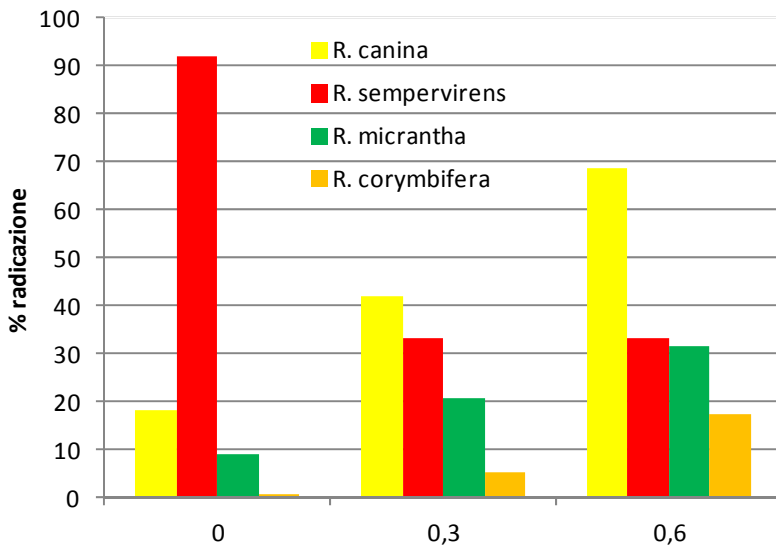


Fig. 2 – Effetto del genotipo e della concentrazione di IAA (mg/L) sul tasso di radicazione *in vitro* dei microgermogli di *Rosa* spp.

basse (9.3%) sono state registrate in corrispondenza del controllo (Fig. 2). Su *R. sempervirens*, invece, il controllo ha fatto registrare i maggiori tassi di radicazione (98.1%), mentre le altre due tesi hanno evidenziato valori più ridotti e non si sono differenziate statisticamente tra loro (33.0% in media). La concentrazione di IAA sembra che non abbia avuto alcun effetto sul numero di radici prodotto da ciascuna plantula delle quattro specie oggetto di studio; parametro, invece, che è variato al variare del genotipo testato. La lunghezza delle radici pare essere, invece, influenzata negativamente dal dosaggio del fitoregolatore di crescita in tutte le specie studiate, con valori via via decrescenti rilevati all'aumentare dell'IAA.

Moltiplicazione gamica di Rose siciliane autoctone

I modesti risultati ottenuti nel corso del 2011 (scarificazione fisica con acqua calda) hanno determinato l'avvio di nuove prove di moltiplicazione da seme, utilizzando la scarificazione chimica con acido cloridrico (HCl 1M) con differenti tempi di immersione (0, 3 e 6 minuti) su acheni provenienti da frutti (cinorrodi) a diverso stadio di maturazione (verdi, gialli e rossi) di *R. canina* e *R. sempervirens*.

Dalle prove condotte nel 2012 è emerso come la germinabilità dei semi sia stata influenzata dal genotipo e dallo stadio di maturazione dei frutti piuttosto che dalla scarificazione chimica. Si è passati infatti, da valori prossimi al 70% su semi germinati di *R. sempervirens* a livelli molto più modesti (intorno al 21%) su semi di *R. canina* (Fig. 3). Differenze

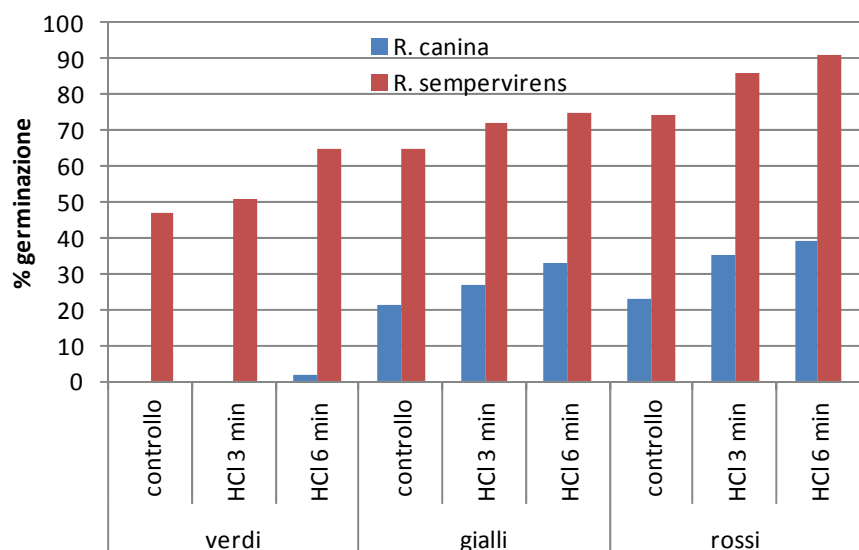


Fig. 3 – Effetto dello stadio di maturazione dei frutti e della scarificazione chimica (HCl 1M) sul tasso di germinazione dei semi di *Rosa canina* e *Rosa sempervirens*

significative tra le due specie sono state registrate anche per quanto riguarda il tempo medio di germinazione, passando da 52 giorni per i semi di *R. sempervirens* a 70 gg. per quelli di *R. canina*. L'influenza del grado di maturazione dei cinorrodi sulla germinabilità dei semi è stata più marcata su *R. canina* che su *R. sempervirens*: nella prima specie si è passati da valori del 2% quando i frutti venivano raccolti verdi a valori pari al 24% e al 36% quando i semi venivano estratti da cinorrodi gialli e rossi, rispettivamente; la germinabilità della seconda specie è variata dal 54% per semi da frutti verdi al 71% e al 85% per semi da cinorrodi gialli e rossi, rispettivamente.

Germinabilità e T.M.G. non sono stati comunque condizionati dai tempi di immersione dei semi in soluzione con HCl, non facendo registrare, per entrambe le specie in prova, differenze significative tra il controllo e gli altri due trattamenti sperimentali (3 e 6 minuti).

EUPHORBIA x LOMI

Coltivazione di ibridi di *Euphorbia x lomi* in condizioni di stress idrico

E' stata condotta una prova di allevamento in vaso di 3 ibridi di *Euphorbia x lomi* a diverso colore delle infiorescenze (Nam Chok, Porn Ying Yai e Udom Sab) incentrata sulla valutazione dell'eventuale tolleranza alla carenza idrica.

Dalla prova di coltivazione delle piante sottoposte a stress sono emersi dei risultati interessanti sulle risposte a questa tipologia di stress abiotico. La risposta bio-morfologica delle piante, allevate a tre livelli di potenziale matriciale (20, 35 e 50 kPa), attraverso il monitoraggio dell'umidità del substrato di coltivazione mediante tensiometri, è sostanzialmente variata al variare della cultivar e non tanto con il regime irriguo adottato.

Infatti, per alcuni dei parametri considerati (altezza delle piante, numero di foglie/pianta, area fogliare e numero di germogli), differenze statisticamente significative sono state rilevate solo tra i tre ibridi in prova, con i valori più elevati registrati sulla cv. Nam Chok, ma non tra i livelli di stress.

L'entità dello stress idrico sembra, infatti, che abbia avuto effetto solo sulla quantità di infiorescenze prodotta da ogni pianta, con i valori più elevati registrato nella tesi con il più alto livello di stress (50 kPa) e in corrispondenza della cv. Nam Chok. Anche la produzione di biomassa e la ripartizione della sostanza secca sono state influenzate dallo stress idrico, oltre che dal genotipo: il più elevato peso secco totale, così come quello del fusto e della radice, è stato registrato su piante della cv. Nam Chok sottoposte a livello intermedio di stress (35 kPa).

Da queste indicazioni è possibile dedurre come alcuni ibridi di *Euphorbia x lomi* siano sostanzialmente tolleranti lo stress idrico e quindi siano particolarmente indicati per attività florovivaistiche da condurre negli ambienti mediterranei caratterizzati da elevate temperature e irradiazioni, nonché da ridotta disponibilità irrigua delle aziende.

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

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

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

Attività svolta

Il CRA-VIV di Pescia porta avanti un'attività di allestimento, conservazione, caratterizzazione biometrica e molecolare di una collezione di specie, ecotipi, ibridi e varietà di *Limonium*.

L'attività di allestimento e conservazione della collezione presso il CRA VIV ha previsto, nel 2012, una serie di interventi di riorganizzazione, risanamento e razionalizzazione della collezione.

Le piante già presenti in collezione (Fig.1) sono state espianate e conservate in vaso a partire dalla primavera 2012, mentre la serra che ospita la collezione è stata sottoposta a una serie di trattamenti fitosanitari e di rilavorazione del terreno.



Fig. 1: Aspetto originale della collezione prima dell'espianato e della lavorazione del terreno

Contestualmente, la collezione è stata integrata e aggiornata grazie all'acquisto di semi da ditte sementiere. Le nuove specie inserite in collezione sono state: *L. bellidifolium* var. Dazzing Blue, *L. cofrentanum*, *L. perezii*, *L. carpetanicum*, *L. gmelinii*, *L. gmelinii* subsp. *hungaricum*, *L. caesium*, *L. costae* e *Psylliostachys suworowii*.

Una nuova tipologia di analisi molecolare (dopo quelle riguardanti l'utilizzo di marcatori molecolari come RAPDs, AFLP e SSR, utilizzate negli anni scorsi) è stata condotta adottando la tecnica del *DNA barcoding* con diverse tipologie di marcatori (geni e spaziatori intergenici) più comunemente utilizzate sulle piante. Lo scopo è stato quello di valutare la capacità discriminativa di tali sequenze a livello interspecifico. Le piante sono quindi state sottoposte a estrazione del Dna, il quale è stato successivamente amplificato con i *primer* specifici. Il prodotto di PCR, dopo essere stato analizzato tramite corsa elettroforetica su gel di agarosio, è stato sottoposto a purificazione con kit commerciale e successivamente inviato al servizio di sequenziamento.

Le sequenze ottenute sono state elaborate tramite software Chromas e allineate col software Mega 5.1. Da tali allineamenti sono stati ottenuti alberi elaborati con il Metodo di Massima Parsimonia e con UPGMA, utilizzando il programma PAUP* Version 4.0.

Resultati ottenuti

Le specie/varietà sottoposte a indagine molecolare sono state: *L. gmelinii* (5 accessioni), *L. serotinum* (6 accessioni), *L. otolepis* (2 accessioni), *L. deracifolium* (2 accessioni), *L. aureum*, *L. gougetianum*, *L. densissimum*, *L. binervosum*, *L. minutum*, *L. sinensis* (2 accessioni), *L. virgatum*, *L. latifolium* (2 accessioni), *L. bonduelli*, *L. sinuatum* e *L. perezii*.

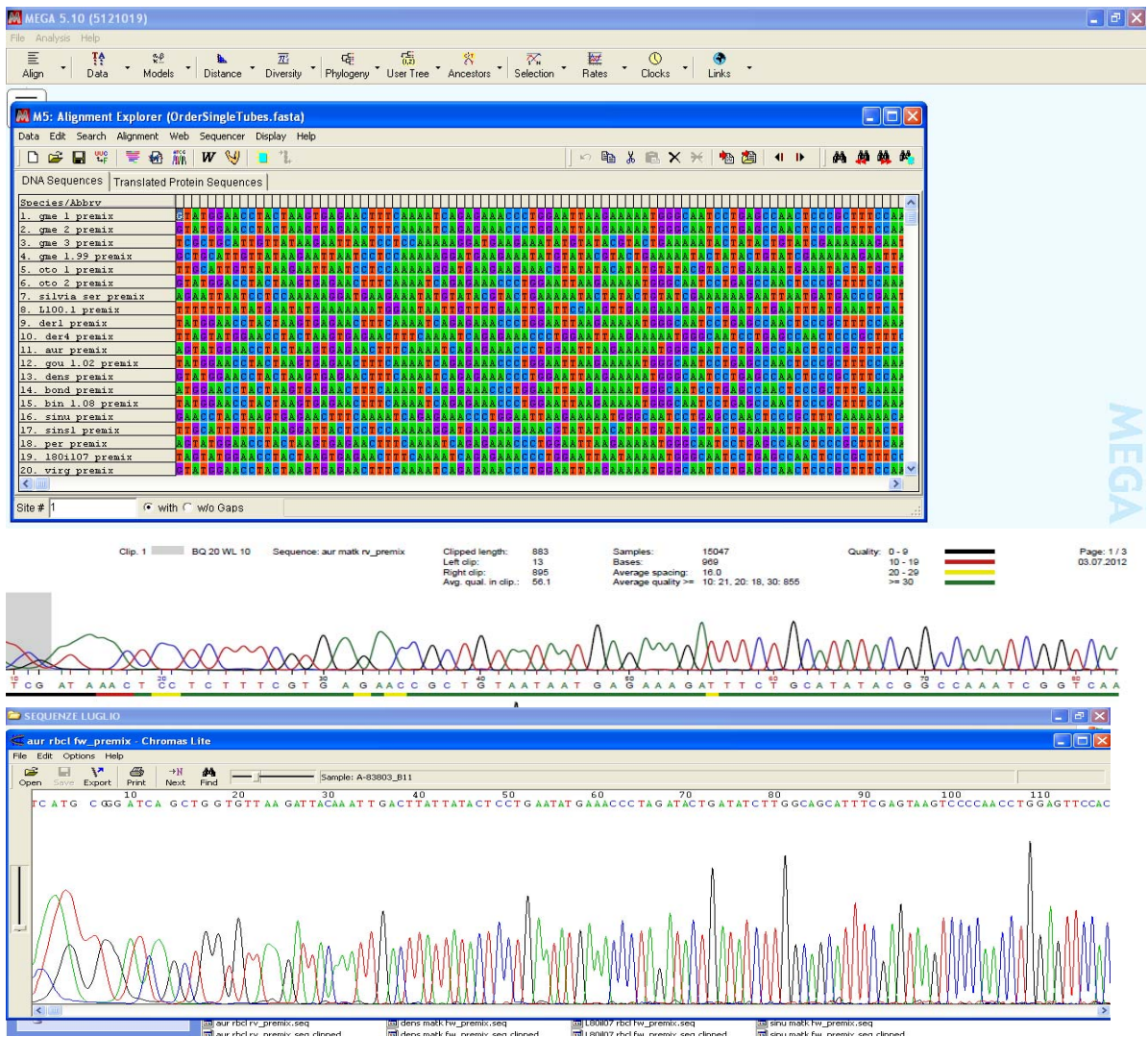


Fig. 2: Esempio di elaborazione di sequenza tramite software Chromas Lite e Mega 5.1

Il DNA estratto è stato sottoposto ad amplificazione con l'utilizzo dei seguenti *primer barcoding*:

matK (390F) 5'- CGATCTATTCAATTCAATATTTTC
 matK (1326r) 5'- TCTAGCACACGAAAGTCGAAGT
 rbcL_1f 5'- ATGTCACCACAAACAGAAAC
 rbcL_724r 5'- TCGCATGTACCTGCAGTAGC
 psbA3'f 5'- GTTATGCATGAACGTAATGCTC
 trnHf 5'- CGCGCATGGATTACAATCC

I geni scelti per l'indagine sono stati: *matK* (maturasi K), *rbcL* (ribulosio bisfosfato carbossilasi), *psbA/trnHf* (spaziatore intergenico). Poiché tali geni e spaziatori sono tutti di origine plastidiale, è stato possibile effettuare una elaborazione combinata raggruppando i risultati ottenuti dal sequenziamento in un unico albero.

Le sequenze ottenute sono state elaborate tramite software Chromas Lite e sottoposte a multi allineamento tramite software MEGA 5.1 (Fig. 2). L'elaborazione statistica sulla matrice ottenuta è stata effettuata con PAUP Version 4.0.

Andando a osservare nel particolare l'albero ottenuto tramite metodo UPGMA (Fig. 3), risultano ben identificati i seguenti gruppi: *L. gmelinii*, *L. otolepis*, *L. deracifolium*, *L. sinensis* e *L. latifolium*.

Il gruppo *L. serotinum* risulta distribuito in maniera disomogenea sull'albero. Le specie di provenienza naturale tuttavia sono collocate nello stesso nodo, le restanti sono tutte accessioni probabilmente ottenute da impollinazione libera. Il nodo con *L. sinuatum*, *L. bonduelli* e *L. perezii* è risultato analogo a quello ottenuto con indagine AFLP.

Tale albero rappresenta comunque un risultato intermedio in quanto la collocazione di parte delle specie incluse nell'indagine risulta ancora incerta. Per il 2013 si rende pertanto necessaria la ripetizione di alcuni dei sequenziamenti già effettuati e il probabile inserimento di un quarto gene barcode (Es. ITS) per rendere maggiormente informativa l'indagine.

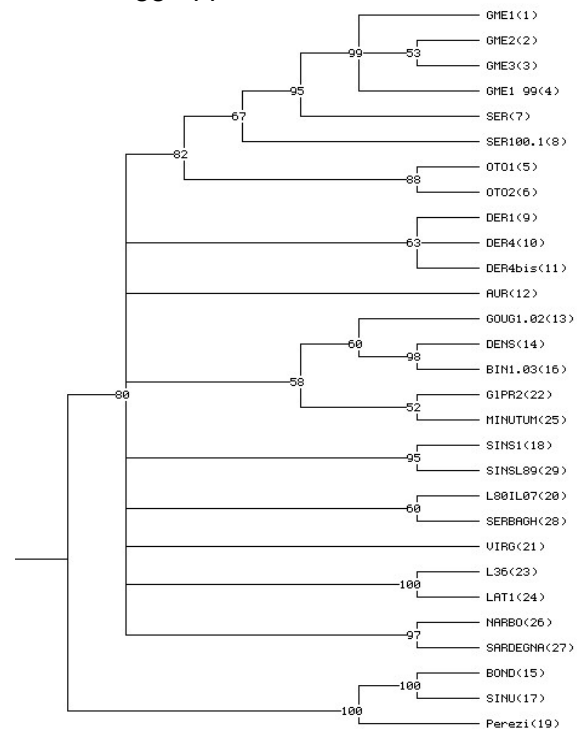


Fig. 3 Fig. 3 Albero realizzato con il metodo UPGMA

SPECIE ORTIVE

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

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

V. FERRARI, N. FICCADENTI, E. PICCININI, A. BERTONE, A. FALCONI, P.G. ANGELINI, A. PEPE

L'attività ha interessato 4 specie ed è incentrata sulle seguenti tematiche:

POMODORO

a) Iscrizione al RNV lista b della nuova varietà "Sapore Antico"

Conclusa l'attività di miglioramento genetico e caratterizzazione agronomica e molecolare sul germoplasma reperito in Abruzzo, nel 2012 si è provveduto ad avviare l'iscrizione all'RNV lista b della nuova varietà denominata "Sapore Antico" visto che le normative vigenti impediscono di riportare indicazioni geografiche nella denominazione della varietà.



Foto 1: Var. "Sapore Antico" (Cost. V. Ferrari)

I saggi di prova effettuati presso l'ex ENSE di Battipaglia e presso il CRA di Monsampolo del Tronto, ponendo a confronto la nuova varietà con altre, anche ibride, diffusamente coltivate, hanno dato esiti positivi per l'originalità della costituzione in termini di gusto, di uniformità e regolarità morfologica delle bacche nonché per la resistenza ai nematodi galligeni. "Sapore Antico", pertanto, fin dal 2013, potrà essere ufficialmente riprodotta da ditte sementiere o vivai convenzionati e diffusa nell'intero territorio nazionale.

b) Caratterizzazione biomorfologica e miglioramento genetico dell'ecotipo denominato "Mezzo Tempo"

E' proseguito il miglioramento genetico finalizzato a ottenere materiali quanto più vicini all'ideotipo già definito con il coinvolgimento di agricoltori del posto. Sono stati realizzati ampi allevamenti con 2 progenie S_1 (D'Adamo Pietro e Scampoli) e 3 ibridi F_1 derivati dal piano di incrocio fra alcune delle accessioni ritenute più funzionali per incrementare la variabilità e quindi la ricombinazione dei caratteri ricercati nelle popolazioni segreganti F_2 . La selezione operata nel 2012 ha consentito di individuare 2 fenotipi per accessione contraddistinti da sviluppo indeterminato, da una distribuzione più regolare dei palchi fiorali e produzioni meglio ripartite nell'ambito di ciascun grappolo rispetto alla popolazione S_0 .

Per quanto concerne lo studio delle popolazioni ibride F_1 , essendo esse derivate da combinazioni di progenie S_0 , è stato possibile attivare una prima selezione all'interno delle 3 progenie incentrata sulla individuazione di fenotipi esenti da difetti nelle bacche quali suberificazioni e taratologie ed emergenti per modalità ed entità produttive.

Dall'intero allevamento sono stati selezionati 7 fenotipi le cui progenie F_2 saranno oggetto di miglioramento attraverso il metodo della selezione ricorrente. Di seguito si riportano i valori medi delle selezioni ritenute migliori.

Tab. 1: S₂ “Mezzo Tempo Scampoli” (Sviluppo della pianta: indeterminato)

Distanza tra i palchi fiorali (cm)									
Dist. coll – I palco		Dist. I-II palco		Dist. II-III palco		Dist. III-IV palco		Dist. IV-V palco	
15		15		14		17		14	
Numero di fiori e bacche per palco; peso delle bacche									
I palco		II palco		III palco		IV palco		V palco	
Fiori: 3	Bacche: 3	Fiori: 10	Bacche: 5	Fiori: 7	Bacche: 4	Fiori: 7	Bacche: 3	Fiori: 2	Bacche: 2
peso: 600 g		peso: 965 g		peso: 905 g		peso: 415 g		peso: 230 g	
Diametro medio delle bacche sui singoli palchi (cm)									
I palco		II palco		III palco		IV palco		V palco	
7-8,5		8-10		9-10		7-9,5		6,5-8,5	

Stato fitosanitario della pianta: il 35% delle bacche presentavano suberificazioni stilari
Copertura fogliare: media; Grado di dolcezza: buono

Tab. 2: HF₁ “Mezzo Tempo Vinciguerra” X “Mezzo Tempo Scampoli” (Sviluppo della pianta: indeterminato)

Distanza tra i palchi fiorali (cm)									
Dist. coll – I palco		Dist. I-II palco		Dist. II-III palco		Dist. III-IV palco		Dist. IV-V palco	
15		38		16		16			
Numero di fiori e bacche per palco									
I palco		II palco		III palco		IV palco		V palco	
Fiori: 20	Bacche: 14	Fiori: 15	Bacche: 9	Fiori: 6	Bacche: 2	Fiori: 3	Bacche: 1	Fiori:	Bacche:
peso: 1.805 g		peso: 1.460 g		peso: 165 g		peso: 100 g		peso:	
Diametro medio delle bacche sui singoli palchi (cm)									
I palco		II palco		III palco		IV palco		V palco	
7-11		7-10,5		6,5-7		7			

Stato fitosanitario della pianta: il 5% delle bacche presentavano suberificazioni stilari
Copertura fogliare: buona; Grado di dolcezza: discreto



Foto 2 e 3: pianta e fruttificazione della selezione ‘Mezzo Tempo’


 Foto 4: ibrido F₁ ‘Mezzo Tempo’

PATATA

a) Moltiplicazione in ambiente confinato, selezione clonale e caratterizzazione produttiva della patata di Montecopiolo (PU).

La ricerca ha riguardato principalmente la moltiplicazione dei tuberi virus-esenti ottenuti attraverso termoterapia da materiale recuperato nell’areale di origine. La selezione clonale effettuata nel 2010 e nel 2011 ha prodotto risultati soddisfacenti, visto che il materiale presenta un incremento delle rese unitarie nonché della pezzatura e uno stato fitosanitario migliore dei tuberi. Nel 2012 sono state poste a dimora in ambiente confinato 2 progenie S₃ sulle quali sono stati poi effettuati dei rilievi di ordine fitosanitario e produttivo.

A conclusione del ciclo colturale è stata posta particolare attenzione anche alla raccolta di bacche per l’ottenimento di seme S₁ da impiegare in programmi di miglioramento genetico anche per via

gamica; dall'ampio allevamento sono state acquisite appena 5 bacche afferenti ad altrettante linee selettive.

E' seguita la caratterizzazione delle 8 progenie in termini produttivi ripartendo i tuberi in opportune classi di calibro, ritenendo positive quelle con diametro superiore a 45 mm. Di seguito si riportano i risultati ottenuti per ciascuna parcella in studio:

Tab. 3: Caratterizzazione produttiva e numerica della Patata di Montecopiolo* (2012) piante ottenute da tuberi

Parcella	Produzione e distribuzione di tuberi in classi di calibro										
	Totale		Scarto (< 45 mm)			45-75 mm			> 75 mm		
	n.	peso (kg)	n.	peso (kg)	%	n.	peso (kg)	%	n.	peso (kg)	%
801	241	7,25	158	2,95	41	80	3,93	54	3	0,37	5
802	213	9,37	142	3,60	38	69	5,36	57	2	0,41	4
803	410	13,91	297	6,39	46	113	7,53	54			0
804	483	17,52	367	8,92	51	110	7,78	44	6	0,82	5
805	448	19,79	263	6,07	31	177	12,44	63	8	1,29	6
806	363	12,31	272	6,15	50	91	6,17	50			0
807	395	14,05	284	6,35	45	111	7,70	55			0
808	594	21,26	474	13,43	63	118	7,58	36	2	0,26	1
809	486	17,18	365	8,93	52	121	8,25	48			0
810	549	20,81	392	8,81	42	131	8,68	42	26	3,32	16
811	460	16,61	329	6,33	38	123	9,00	54	8	1,29	8
813	891	34,86	607	13,40	38	273	20,29	58	11	1,18	3
Totale	5.533	204,9	3.950	91,3	45	1.517	104,68	51	66	8,91	4
Peso		0,04		0,02			0,07			0,14	

Dalla tabella 3 emerge che in tutte le parcelle la quota di tuberi classificati come scarto (ovvero con calibro inferiore a 45 mm), è molto elevata. Infatti essa raggiunge il 63% nella parcella 808 mentre risulta notevolmente contenuta nella parcella 805 (31%). La classe di calibro maggiormente rappresentata dalle diverse progenie in prova è quella definita dall'intervallo 45-75 mm (51%). In particolare nella parcella 805 si è riscontrata la maggior percentuale (63%) mentre nella parcella 813 si è registrata la maggior quantità sia in kg (20,29) sia in n° di tuberi (273) con una percentuale del 58%.

b) Introduzione in coltura della Patata blu e studi preliminari finalizzati al miglioramento genetico.

Anche se non può essere considerata autoctona, in quanto specie semi-selvatica originaria del Perù, si è inteso avviare una ricerca su questa tipologia che si distingue dalle altre patate per presentare tuberi di colore blu-nero e pasta intensamente blu-violacea.

Tale colorazione è dovuta all'elevatissima concentrazione di polifenoli, tra i quali prevale l'antocianina, che risultano molto importanti per il valore nutraceutico che si esprime in una importante azione antiossidante e antiradicalica. Rispetto alle già diffuse patate rosse o blu, la cui pasta presenta una leggera sfumatura di rosso e viola, l'accessione, recentemente recuperata, mantiene anche dopo la cottura la pigmentazione bluastro e quindi tutte le proprietà salutistiche.

Trattandosi di una specie semi-selvatica, presenta, rispetto alla patata tradizionale, uno sviluppo più contenuto della pianta con foglie più piccole e lanceolate e soprattutto un'elevata rusticità. E' stato osservato nel corso della sua coltivazione che le larve della dorifora, classico parassita della patata, risultavano assenti sul fogliame mentre erano numerose su quelle della patata di Montecopiolo al punto da rendere necessario un intervento insetticida.

Sarà oggetto di prossimi studi verificare sulle piccole



Foto 5: la patata blu



foglie di questa specie la presenza di eventuali molecole ad azione repellente. Obiettivo degli studi avviati è quello di incrementare, attraverso la selezione clonale e l'ibridazione con specie domestiche, la dimensione dei tuberi che, se lasciati alla pezzatura originale (30-40 g), determinerebbero un dispendio economico nelle fasi di raccolta e reali difficoltà di utilizzo sia a livello industriale sia domestico. Allo stato attuale si dispone di una popolazione S_1 in grado di produrre tuberi di circa 100 g di peso.

Nell'anno 2013 sarà avviato un piano di incroci con piante della varietà risanata di Montecopiolo, ottenute da seme per verificare successivamente le modalità di trasferimento dei caratteri salutistici nelle generazioni F_1 ed F_2 . La finalità della ricerca è quella di ottenere una nuova varietà di patata a pasta bluastra, repellente alla dorifora e in grado di assicurare una produzione unitaria adeguata con tuberi di media-grossa pezzatura.

CARCIOFO

a) Caratterizzazione morfologica di popolazioni di carciofo marchigiane ed abruzzesi mediante l'impiego di descrittori UPOV

La variabilità genetica all'interno degli ecotipi di carciofo rappresenta un limite per l'uniformità di produzione, ma, d'altro canto, questi ecotipi sono un'importante risorsa genetica e un punto di partenza utile per la selezione di nuovi cloni. Nel quadro del recupero e salvaguardia della biodiversità tradizionale delle popolazioni primaverili, quattro popolazioni provenienti dalla regione Marche, chiamate Montelupone A, Montelupone B, Jesino e Ascolano, sono state coltivate e caratterizzate morfologicamente in due ambienti di coltivazione del centro Italia (Cerveteri - RM e Monsampolo del Tronto - AP). Lo scopo del lavoro è consistito nello studio della variabilità all'interno di ogni popolazione per evidenziare eventuali possibili interazioni ambientali con effetti evidenti sull'espressione fenotipica di un prodotto tipico. Le caratterizzazioni morfologiche sono state effettuate utilizzando i descrittori recentemente identificati (UPOV).

Le analisi effettuate sulla costa tirrenica hanno generalmente mostrato un vigore maggiore delle piante rispetto a quello osservato per le piante allevate sulla costa adriatica; questo vigore è stato sempre associato anche a una maggiore dimensione del capolino. L'interazione 'varietà per località' è stata significativa per l'altezza della pianta, la distanza tra il capolino e la prima foglia, le dimensioni e il peso del capolino stesso. Jesino e Montelupone A, varietà marchigiane, hanno piante più piccole con meno germogli laterali, ma con il capolino più grande. Montelupone A e Ascolano sono state le varietà più produttive in termini di peso del capolino. L'analisi delle componenti principali ha evidenziato che più dell'80% della varianza totale è imputabile principalmente a tre fattori, quali: produzione in peso dei capolini/pianta, produzione in numero di capolini/pianta e forma dell'apice del capolino. Tra questi, il primo fattore racchiude il 61% di detta varianza, in quanto includente le diverse biometrie della pianta e del capolino e i caratteri a esse correlati.

A causa della variabilità esistente nelle popolazioni locali, rilevata anche dalla analisi ANOVA. L'analisi discriminante è in grado di classificare correttamente il 75% di casi valutati. In particolare, Jesino e Ascolano sono state talvolta erroneamente classificate come Montelupone A e Montelupone B, mentre non sono mai state classificate all'interno della stessa varietà locale. Pertanto queste popolazioni devono essere conservate per poter selezionare i cloni migliori.

b) Iscrizione al RNV lista b di una varietà di carciofo denominata 'Ora-Federico'.

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 quello di avviare un'attività di risanamento, attraverso termoterapia, in grado di fornire cloni virus-esenti data l'attuale elevatissima incidenza di piante affette da virosi e *Verticillium*.

Nel novembre 2012 è stata avviata la procedura di iscrizione al RNV lista B della nuova varietà denominata Ora-Federico. Il clone, derivato da una popolazione locale del comprensorio pesarese, si contraddistingue principalmente per l'elevata vigoria delle piante accompagnata da buone produzioni quantificabili in 20-25 capolini/pianta oltre che per una buona rusticità. Le dimensioni della pianta allo stadio adulto consentono, mediamente, densità di impianto pari a 7.000 piante/ha. In tabella 4 sono riportate le caratteristiche fenotipiche riguardanti lo sviluppo, il portamento della pianta, la tipologia delle foglie e del capolino centrale della nuova varietà.

Tab. 4: Principali caratteristiche fenotipiche della cv 'Ora-Federico'



Foto 5: Var. 'Ora-Federico', pianta e capolino (Cost. V. Ferrari)

Pianta	<u>Altezza:</u> 50-55 cm compreso il capolino centrale <u>Diametro:</u> 185-190 cm
Foglia	<u>Morfologia:</u> pennatosetta con un lembo molto inciso fin dallo stadio giovanile; elevato numero di lobi di diversa dimensione terminanti ognuno con una piccola spina; allo stadio di decimadicesima assume un portamento semi-eretto con sezione del lobo a "V" <u>Colore:</u> verde di media intensità e debole sfumatura grigiasta
Capolino centrale	<u>Lunghezza:</u> circa 10,5 cm <u>Diametro:</u> 10 cm <u>Tipologia:</u> 'Violetto spinoso' <u>Brattee esterne:</u> di media dimensione, colore prevalentemente viola, con una leggera sfumatura grigiasta e terminanti con una piccola spina <u>Brattee interne:</u> mediamente appressate le une alle altre, pigmentazione antocianica pressoché assente

MELONE

Caratterizzazione molecolare di differenti popolazioni di melone *inodorus* mediante l'impiego di marcatori molecolari ISSR

Le cucurbitacee sono importanti colture di ampia diffusione nelle aree più calde del mondo. Il melone (*Cucumis melo* L.) è considerato la specie più diversificata tra il genere *Cucumis*. Le varietà di melone *C. inodorus*, comunemente note come "meloni d'inverno" per la loro capacità di conservazione durante il periodo invernale, sono tradizionalmente coltivate nel bacino del Mediterraneo e hanno una rilevante importanza per l'economia delle regioni meridionali italiane.

Le popolazioni di *C. inodorus* spesso hanno nome identico nella zona di coltivazione stessa e l'insorgenza delle omonimie e sinonimie produce confusione nel riconoscimento della stessa popolazione. Nel presente lavoro la diversità genetica e le relazioni tra le 13 popolazioni italiane di *C. inodorus* di diversa origine geografica sono state rivelate utilizzando 90 primer ISSR.

La linea DH Nad-1 e la cultivar Charentais-T, entrambe appartenenti alla varietà botanica *C. cantalupensis*, sono state usate come *outgroup*. Dei 90 primer ISSR utilizzati, 39 sono risultati polimorfi tra le 13 accessioni di melone e hanno permesso di rilevare un totale di 358 bande polimorfiche. La distanza genetica tra i genotipi analizzati è variata da 0,717 per le accessioni più vicine come il Napoletano Verde e il Tendral Tardivo a 0,426 per quelli più distanti quali il Verde Quasi Rotondo e l'Alsia. L'analisi *cluster* ha raggruppato i genotipi sulla base del colore della buccia. In particolare, il dendrogramma risultante ha mostrato due gruppi principali, A e B (fig. 1):

il gruppo A comprende genotipi gialli come il Rugoso di Cosenza, il Giallo di Paceco e il Giallo Sfilato, mentre il gruppo B include i genotipi verdi come il Napoletano Verde, il Tendral Tardivo, il Rognoso Capuano e il Purceddu. Il Verde Quasi Rotondo è risultato varietà con caratteri intermedi per il colore della buccia compreso tra il giallo e il verde. Alsia e Alsia fascista sono stati riuniti in un *cluster* a sé stante mentre Nad-1 e Charentais T in *outgroup* come previsto.

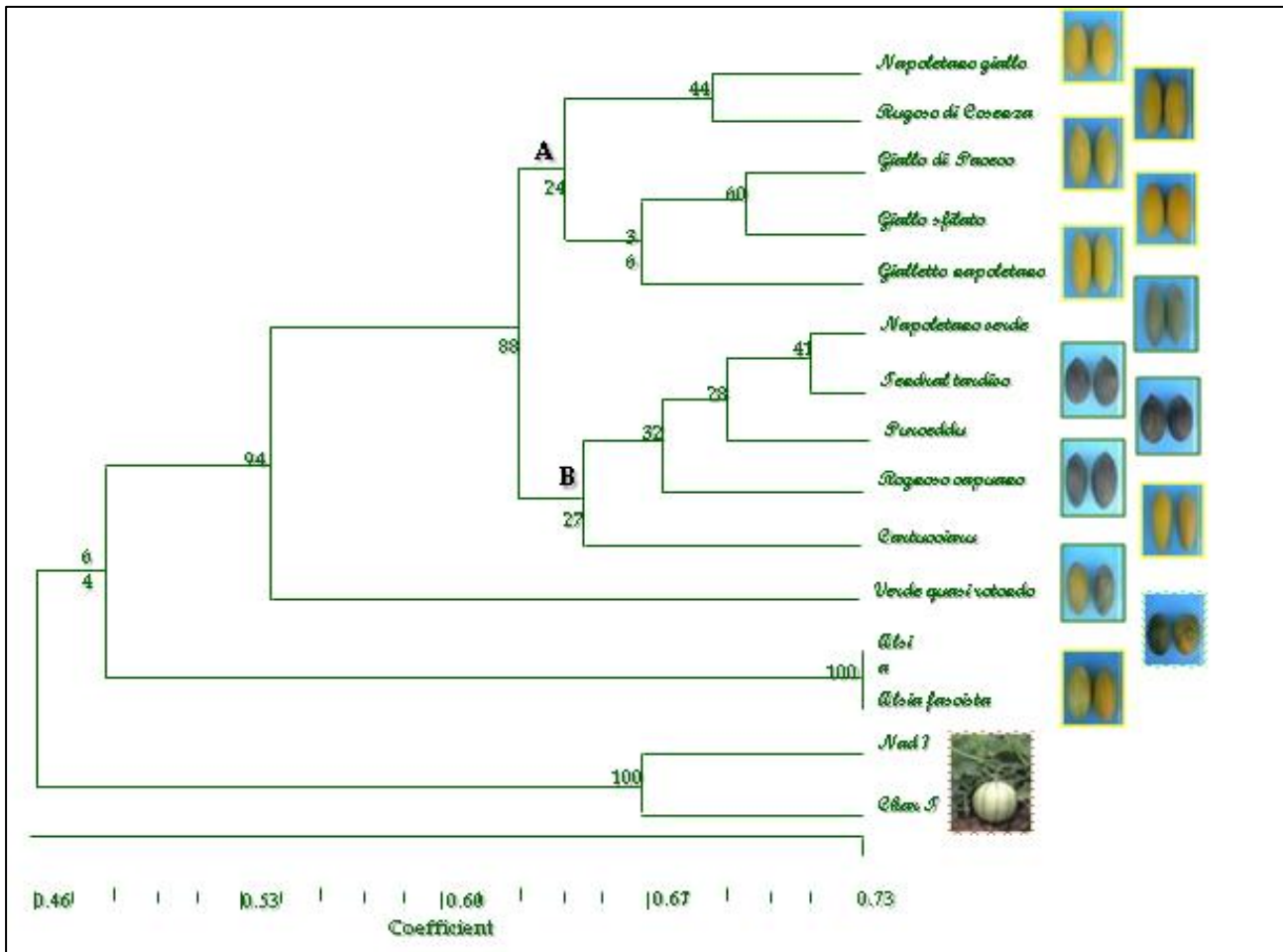


Fig. 1: valutazione della diversità genetica nel germoplasma italiano di melone inodorus attraverso l'uso di marcatori molecolari (ISSR)

Questo studio ha confermato l'efficacia del metodo utilizzato per distinguere tra le varietà locali di melone quelle strettamente associate e per preservare la variabilità genetica per la conservazione del germoplasma. Uno studio approfondito sulle caratteristiche agronomiche sarà di ulteriore importanza per definire chiaramente le somiglianze genetiche tra le accessioni italiane di melone *inodorus*.

Pubblicazioni

FERRARI V., CAMPANELLI G., CAIONI M., PICCININI E., DI CESARE L.F., MAZZUCATO A., 2011 - "Antico Abruzzo: una nuova varietà di pomodoro a pera per produzioni tipiche abruzzesi. Dal Seme n. 3, pp. 1-11. ISSN 2039-7569.

FERRARI V., FICCADENTI N., PICCININI E., CAIONI M., 2012. Three new varieties of artichoke selected from the traditional Italian Marche populations are in progress of release at the National Variety Register. Proceedings VIII International Symposium on Artichoke. Viterbo - April 10-13, pp.44-47.

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

Valutazione della stabilità morfologica in alcuni genotipi di pomodoro candidabili all'iscrizione al Registro Nazionale delle varietà vegetali.

N. TROTTA, A. BACCO, A. LO TAURO, G. ROFRANO, V. ONOFARO SANAJÀ, A. VIVONE, T. CARDI E R. PEPE

Introduzione

Le accessioni poste in allevamento per le attività RGV-FAO durante l'anno 2012, nell'ambito del Progetto "Biodiversità orticola in Campania", fanno parte della collezione risorse vegetali orticole della banca semi del Centro di Ricerca per l'Orticoltura del CRA e in particolare riguardano genotipi di *Capsicum annuum* L. e *Solanum lycopersicum* L. Le prove sperimentali sono state svolte in tre località differenti della provincia di Salerno: Montecorvino Pugliano, Roccadaspide e Pontecagnano.

La prova sperimentale svolta a Pontecagnano è stata realizzata presso il CRA-ORT ed è stata allestita in due appezzamenti: uno in coltura protetta e l'altro in pieno campo. Le altre due prove svolte a Montecorvino Pugliano e Roccadaspide sono state messe in atto presso due aziende agricole, dei sig.ri Gallo Gaetano e Gorga Domenico rispettivamente.

Il numero di genotipi valutati in queste ultime due aziende è stato pari a 19 accessioni per il pomodoro e 21 per il peperone, mentre presso il CRA-ORT sono state valutate 16 varietà di pomodoro.

Per i genotipi di pomodoro allevati in serra a Pontecagnano, lo scopo è stato quello di valutare la stabilità, l'omogeneità interna e il grado di eterogeneità tra le varietà locali, al fine di confermare la loro candidatura ufficiale al Registro Nazionale.

Le varietà allevate in pieno campo sono genotipi messi in prova per la prima volta da quando il relativo seme è stato recuperato. Pertanto lo scopo del test ha riguardato una prima caratterizzazione morfo-fisiologica per la compilazione di una scheda identificativa, una valutazione sulla validità dei genotipi in osservazione e una previsione per il loro utilizzo nel futuro.

Le varietà locali di pomodoro e peperone messe in coltivazione nei campi delle due località campane sono genotipi che per diversi anni sono stati allevati, caratterizzati e selezionati nelle precedenti attività del progetto RGV FAO, per cui quest'anno si è posto come obiettivo quello della loro valutazione sotto l'aspetto preferenziale del consumatore. Gli agricoltori che hanno lavorato con il gruppo di lavoro del CRA-ORT, sig. Gallo Gaetano e sig. Domenico Gorga, si sono impegnati a sottoporre il prodotto a una nicchia di consumatori a loro nota da anni per raccogliere un giudizio finale di ogni accessione considerata e valutare l'opportunità di un secondo anno di prova.

Nel presente lavoro sarà descritta esclusivamente la prova realizzata a Pontecagnano (SA) in ambiente protetto, rimandando a un successivo elaborato quanto è stato conseguito con le restanti attività citate.

Materiali e Metodi

1. Materiale vegetale ed allevamento

In ambiente protetto sono state allevate otto varietà locali di pomodoro (Tab.1), sei delle quali valutabili e due con funzione di bordo e isolamento del corpo serra.

La semina delle accessioni oggetto di studio è stata eseguita intorno alla seconda metà di aprile, in contenitori alveolari di polistirolo (con alveoli di 5 cm di diametro) e posti a germinare presso un vivaio della zona.

Dopo circa 30-40 giorni, quando le piantine hanno raggiunto un'altezza di 100-150 mm allo stadio di 4^a-5^a foglia, sono state trapiantate, previo trattamento con un prodotto a base di propamocarb puro e fosetyl. Quando le piantine hanno raggiunto l'altezza di 25-30 cm sono stati utilizzati dei tutori nel terreno al fine di sostenere le colture in crescita. Tutte le successive cure sono state eseguite sulla base delle esigenze fisiologiche e nutrizionali della coltura. Per quanto riguarda i

trattamenti fitopatologici necessari, sono state rispettate le regole dettate dal Piano di Lotta Fitopatologica Integrata della Regione Campania, sia per i prodotti che per i tempi e le dosi di impiego.

Tab. 1: Accessioni di pomodoro valutate in ambiente protetto nell'anno 2012 – RGV/FAO

Accessioni caratterizzate	Codice identificativo	Attitudine
Pummarola gialla Sala	POM108	da serbo
Pomodoro giallo Caggianese tipo A	POM111/A	da serbo
Pomodoro giallo Caggianese tipo B	POM 111/B	da serbo
Pummarulieddo lungo rosa tipologia 1	POM 220/09/1	da mensa
Pummarulieddo lungo rosa tipologia 5	POM 220/09/5	da mensa
Pomodoro rosso buccinese	POM 118	da mensa e da industria
Sheila	—	bordo
San Marzano verde	—	bordo

2. Determinazioni morfologiche, nutraceutiche e molecolari

I descrittori rilevati per caratterizzare le varietà sono quelli riportati nella linea guida UPOV TG/44/10 del 4/4/2001 integrati con quelli del protocollo CPVO TP/44/3; quelli agronomici sono stati rilevati secondo le direttive del CRA-ORT di Pontecagnano. Per quanto concerne le diagnosi virali sono stati eseguiti saggi immunoenzimatici del tipo ELISA, per individuare l'eventuale presenza dei seguenti virus: CMV, PVY, ToMV, TMV, TSWV, TYLCV. Sono stati completati tutti i saggi ad eccezione del test per il virus TYLCV che è ancora in corso di validazione.

Per soli quattro genotipi, Pummarola gialla Sala, Piennolo caggianese tipo A, Piennolo caggianese tipo B e Pomodoro rosso Buccinese, sono state condotte analisi molecolari per determinare la presenza di alleli associati alla resistenza/suscettibilità ad alcuni patogeni mediante marcatori SCAR e CAPS: in particolare, per i geni "Pto", associati al locus *Pseudomonas syringae* pv *tomato* resis., "Mi", associato al locus *Meloidogyne incognita* resistance, "Sw-5", associato al locus Spotted wilt virus resistance-5, "Ve", associato al locus *Verticillium* resistance ed infine "pyl", associato al locus *Pyrenochaeta lycopersici* resistance. In corso di validazione rimane quest'ultimo gene.

Le determinazioni nutraceutiche, quali beta-carotene, trans-licopene, 9-cis licopene, 13-cis licopene, 15-cis licopene e vitamina C sono in corso di elaborazione.

3. Criteri di ordinamento

Tutte le informazioni raccolte sono state organizzate e analizzate statisticamente mediante metodi descrittivi per dati multivariati, al fine di studiare le somiglianze e le differenze tra gli individui da un punto di vista multidimensionale. Quindi, sono state eseguite sia un'analisi fattoriale per componenti multidimensionali (AFM), che un "clustering" gerarchico (HCPC), mediante l'indice di Gower e 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), ggplot2 (H. Wickham, 2013), Cluster (Martin Maechler *et al.*, 2012) e BiplotGUI Interactive Biplots in R (A. la Grange *et al.*, 2009).

Risultati

I sei genotipi allevati formano a priori tre gruppi: pomodori a frutti "gialli", pomodori a frutti "rossi" e pomodori a frutti "rosa".

Pomodori a frutti gialli: si annoverano a questa tipologia (Fig. 1) i tre genotipi cosiddetti Piennoli gialli: Pummarola gialla Sala, Piennolo giallo caggianese tipo A e Piennolo giallo Caggianese Tipo B che, condividendo la nomenclatura impiegata nel 2011, saranno indicati con i codici Pom108, Pom111A e Pom111B rispettivamente.



Pom 108

Pom 111B

Pom 111A

Fig. 1: Piennoli gialli in prova presso il Centro di Ricerca per l'Orticoltura – Progetto RGV/FAO 2012

In entrambi gli anni di caratterizzazione morfologica le tre varietà di Piennolo giallo sono risultate a sviluppo indeterminato, con foglie bipennate e caratterizzate da frutti dotati di peduncolo con asse di abscissione, tondeggianti, con colletto verde ante-maturazione, privi di striature verdi prima della maturazione e con un numero di logge pari a due-tre per frutto, infine con epoca di fioritura e maturazione tardiva.

Nel primo anno, le differenze peculiari fra le tre varietà si riscontravano nella taglia del frutto, nelle dimensioni e brillantezza delle foglie e, infine, nel diverso contenuto in beta-carotene e translicopene. La principale differenza riguardava la dimensione del frutto; infatti, la varietà Pom108 presentava, lo scorso anno, un volume medio di ogni frutto di circa 20 cm³ in più rispetto alle altre due varietà, differenza che è stata perfettamente confermata anche nel secondo anno di prova (tab. 2). Le differenti dimensioni in lunghezza e larghezza dei frutti dei tre Piennoli gialli si evincono anche dalla Fig. 2 in cui sono state proiettate tali dimensioni, l'immagine a) riferita ai dati del 2011, la b) al 2012. In questi due grafici si evidenziano due peculiarità: da un lato che gli intervalli dimensionali sia in lunghezza sia in larghezza dove si collocano la maggior parte dei frutti dei due Piennoli gialli caggianesi sono più piccoli (3,2-4,2 cm in larghezza e 3,2-4,2 cm in lunghezza) di quelli osservati per Pumarola gialla Sala (3,6-5,0 cm in larghezza e 3,7-5,0 cm in lunghezza); dall'altro lato la maggiore variabilità di tali dimensioni in Pom108 rispetto alle due Pom111 (tab. 2).

Tab. 2: Confronto tra i volumi medi e le variabilità degli stessi nei tre Piennoli gialli allevati a Pontecagnano (SA) nell'ambito del Prog. RGV/FAO

Accessioni	anno 2011		anno 2012	
	volume (cm ³)	varianza	volume (cm ³)	varianza
Pumarola gialla Sala (Pom108)	46,08	84,27	43,47	111,27
Pomodoro giallo Caggianese tipo A (Pom111A)	25,90	21,72	26,46	17,45
Pomodoro giallo Caggianese tipo B (Pom 111B)	28,71	15,29	26,70	17,53

Le foglie dei genotipi Pom 111A e Pom 108 nel 2011 erano più grandi rispetto alla terza varietà, ma anche più brillanti e con una intensità del colore verde più forte. La situazione si è attenuata nel secondo anno: le due POM111, infatti, hanno presentato le stesse peculiarità qualitative e la medesima distribuzione, mentre la Pom108, consistentemente variabile anche nelle misure fogliari di circa 3 cm di lunghezza e larghezza, era comunque distante dagli altri due genotipi.

Nell'allevare nel secondo anno le stesse varietà ed elaborando i dati mediante un'analisi delle componenti principali (Fig. 3 lettera a) e rappresentando il tutto con un Biplot (Fig. 3, lettera a), nonché mediante un raggruppamento con indice di similarità di Mahalanobis (Fig. 3, lettera b) si nota che la varietà Pumarola gialla Sala continua a preservare la sua omogeneità interna e a distaccarsi dagli altri due Piennoli gialli, che invece, sono apparsi molto più simili per la maggior parte dei descrittori quantitativi considerati. Gli individui delle due popolazioni, Pom111A (puntini rossi nel Biplot) e Pom111B (puntini viola) si sovrappongono, creando quasi un unico cerchio (area di intersezione dell'*Alpha bag* rossa con quella viola).

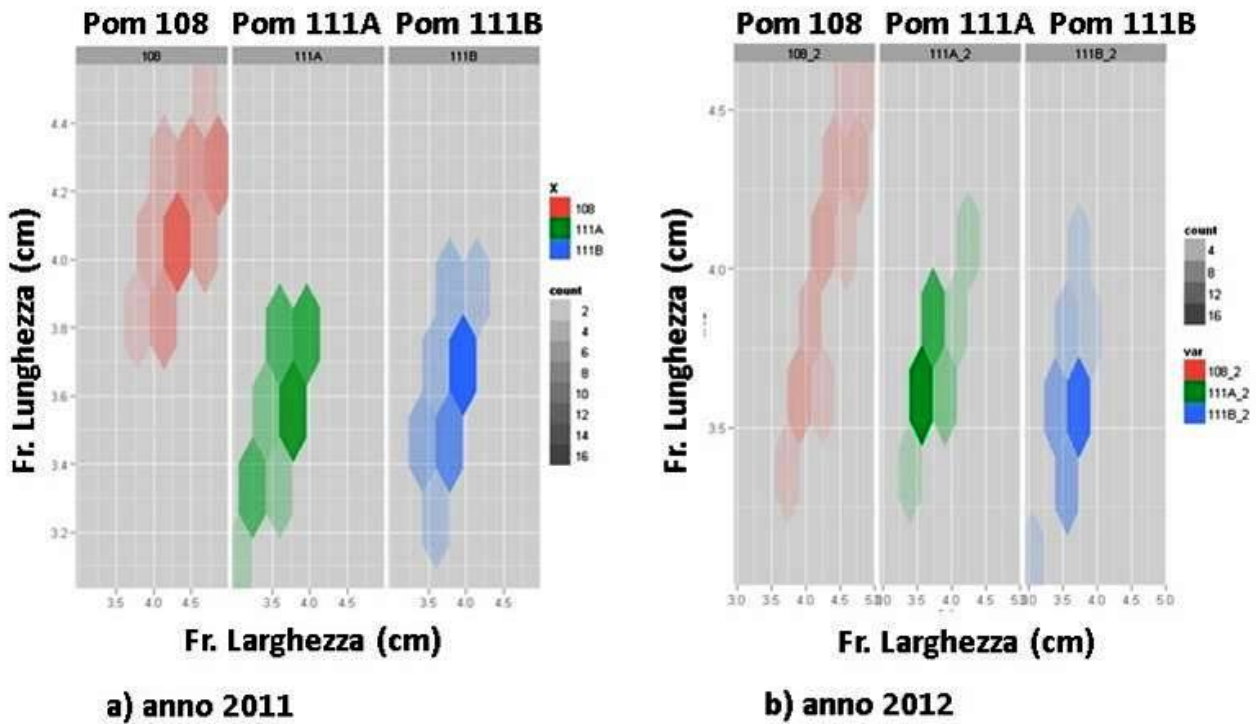


Fig. 2: Aesthetic mapping per confronto dimensionale dei frutti dei tre piennoli gialli allevati nel biennio 2011/12. In ascissa è riportata la larghezza del frutto (cm), in ordinata la lunghezza (cm).

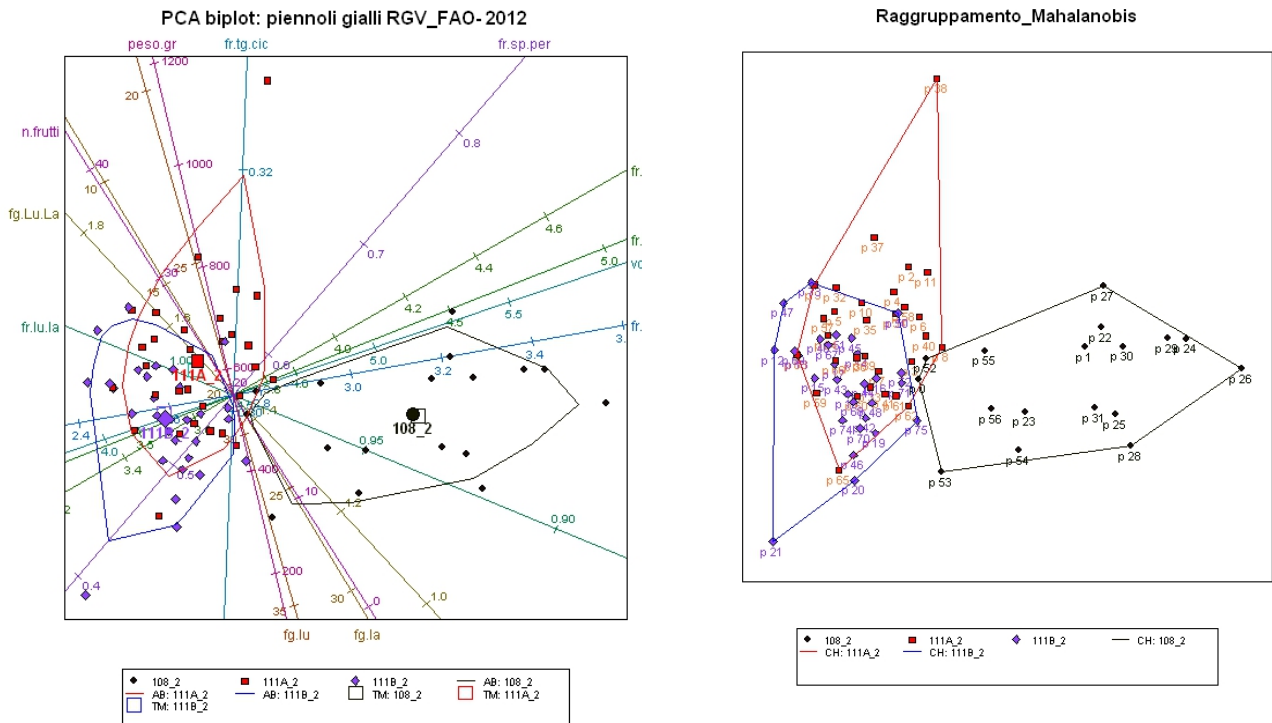


Fig. 3: Biplot PCA dei descrittori quantitativi dei piennoli gialli allevati nell'anno 2012 (a). Confronto di similarità mediante indice di Mahalanobis (b).

La Pummarola gialla Sala ha confermato l'omogeneità interna al gruppo e una sufficiente lontananza logica dai due altri Piennoli gialli, nonché la stabilità morfologica rispetto al primo anno

di prova. I due altri Piennoli, invece, fra loro molto simili, non hanno confermato quelle poche differenze riscontrate nel 2011, pertanto non possono essere definite morfologicamente “distinte”. Appaiono, infatti, fortemente simili e oltretutto omogenee fra loro rappresentando, quindi, un’unica popolazione.

Pomodori a frutti rossi: In questa categoria rientra solo la ‘Pom 118’, ossia il Pomodoro rosso buccinese (Foto 1) che ha continuato a manifestare la sua omogeneità interna come lo scorso anno. E’ un genotipo a sviluppo determinato, con foglie bipennate, frutto rettangolare di un rosso pallido. Ogni pianta in media riesce a produrre circa 80 frutti con un peso medio di oltre 5 kg a pianta. I frutti hanno un pH di 4,5 e gradi brix pari a 6,37°. Le caratteristiche descrittive nei due anni non sono mutate significativamente e anche nel 2012 non ha presentato elementi fuori tipo.



Foto 1: Frutti maturi del genotipo ‘Pomodoro rosso buccinese’

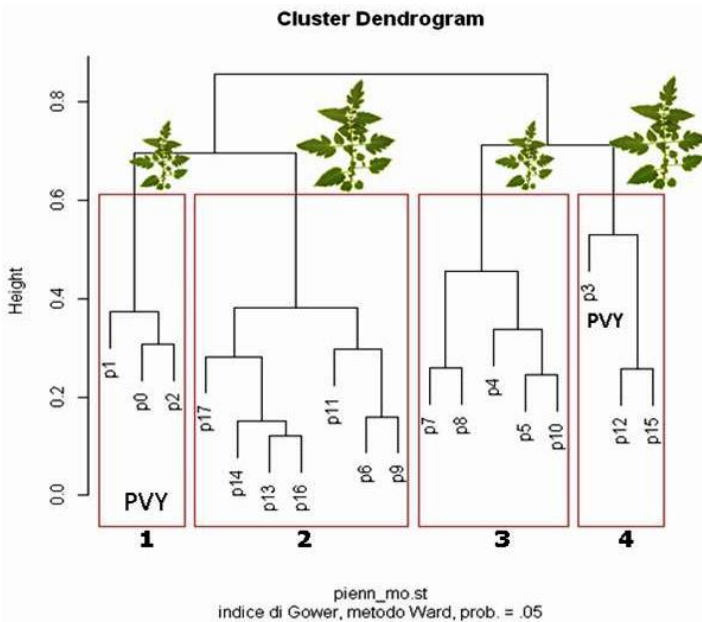


Fig. 4: Albero gerarchico bidimensionale del ‘Pummarulieddo rosa lungo tipologia 1’ allevato in serra presso il CRA-ORT nel 2012

Pomodori a frutti rosa: Si annoverano a questo gruppo due varietà di Piennolo rosa lungo che negli anni passati (2009-2010) erano stati già allevati e valutati manifestando un’omogeneità morfologica sufficiente, in particolare il Pummarulieddo lungo rosa tipologia 5 e il Pummarulieddo lungo rosa tipologia 1. Durante l’allevamento del 2012 entrambe hanno manifestato una forte sensibilità ad attacchi di natura abiotica, per cui le piante della tipologia 5 (220/09/5 in tab.1), dopo un paio di mesi di vita, sono morte completamente lasciando in serra solo le piante della tipologia 1, oltretutto molto meno delle 30 trapiantate in primavera (17 piante).

I dati raccolti per questa tipologia sono stati ordinati mediante un’analisi di raggruppamento gerarchico, previa eliminazione di tutti quei descrittori identici nella loro espressione in tutte le piante. Il totale di questi caratteri è pari a 19 sui 40

rilevati e tra questi si citano i più peculiari: habitus delle piante “indeterminato”, tipo di divisione del lembo fogliare “bipennato”, frutti di colore “rosa” esternamente e “rossi” internamente, “fortemente compatti” di forma “rettangolare”, e con “spalla verde” prima della maturazione. In termini di diagnosi virale i virus CMV, TMV e ToMV non sono stati riscontrati in nessuna pianta, a differenza del PVY la cui l’infezione è stata riscontrata solo nelle piante della prima replica.

Per i restanti descrittori la *cluster analysis* ha suddiviso il genotipo in quattro raggruppamenti (Fig. 4). Il primo gruppo si distanzia dagli altri tre per il fatto di essere composto da piante affette da PVY e dall’aver foglie più corte e più strette, stessa particolarità che caratterizza gli individui del terzo cluster. I restanti due raggruppamenti 2 e 4 sono caratterizzati da foglie di dimensioni maggiori, solo che nel 4° vi subentra un individuo affetto da PVY che come gli altri ha foglie di tonalità verde più intensa e una cicatrice pistillare del frutto più grande.

L’analisi per il prossimo anno dovrà essere più accurata, ossia più individui da osservare e, data la sua forte sensibilità a svilupparsi, provare ad allevare il genotipo in contesti pedo-climatici differenti, soprattutto prediligendo il suo luogo d’origine.



Conclusione

Le analisi conseguite sui tre Piennoli gialli hanno consentito di indirizzare in maniera più oculata la scelta dei genotipi da candidare all'iscrizione al Registro Varietale. Dei tre Piennoli gialli è auspicabile indirizzare la candidatura solo sulle due varietà che maggiormente si distanziano: Pummarola gialla Sala=Pom108 e il tipo Pom 111A del Piennolo giallo Caggianese, poiché oltre alle differenze quantitative come si evincono dalla Fig. 3 (b), ce ne sono alcune di natura qualitativa, quali: bollosità delle foglie, "forte" in Pom111A, "lieve" nell'altra; forma dell'attacco pistillare, "appiattita" in quest'ultima e "depressa" in Pummarola gialla Sala; colore del colletto ante-maturazione del frutto, "verde medio" nel Piennolo giallo e "verde molto lieve" nella Pummarola gialla.

Non ci sono dubbi sulla candidabilità del Pomodoro rosso buccinese, sia per la consistente omogeneità interna che per la buona stabilità morfologica dimostrata nei due anni di prova.

I due Pummarulieddo lungo rosa devono essere rimessi in prova, allevati con maggiore cure sia nutrizionali sia fitosanitarie e saggiate in ambienti pedo-climatici più consoni alle loro esigenze.

Bibliografia

- la Grange, Ni el le Roux, S. Gardner-Lubbe. BiplotGUI: Interactive Biplots in R. Journal of Statistical Software. June 2009, Volume 30, Issue 12.
- Guidelines for the development of crop descriptor lists. Biodiversity 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
- E. Neuwirth, 2011. RColorBrewer: ColorBrewerpalettes. R package version 1.0-5.1.4
- F. Husson; J. Josse; J. Pagès; B. Christian. Getting things in order: Principal component methods- hierarchical clustering - partitional clustering: why would we need to choose for visualizing data? Technical report Agrocampus, Lion 1.4
- H. Wickham, W. Chang. 'ggplot2'. R package version 0.9.3.1
- Decreto Ministeriale n. 4604 del 20/02/2009: Criteri e procedure tecniche per l'iscrizione al registro Nazionale di varietà di specie ortive.
- R. Ihaka; P. Murrell; K. Hornik and A. Zeileis, 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 Rousseuw et al. R package 'cluster' version 1.14.2
- N. Trotta. A statistical analysis of the distinctness between the vegetable varieties. Minerva Biotecnologica, 2011 ISSN1120-4826
- N. Trotta, G. Rofrano, G. Festa, A. Vivone, P. Tedesco, G. De Vivo, R. Pepe. Caratterizzazione morfo-fisiologica di accessioni di peperone e pomodoro: omogeneità e distinguibilità di varietà da conservazione. Notiziario RGV n.2-3/2012 ISSN 1974-2736.
- 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

Ringraziamenti

Dr.ssa Paola Iovieno per la collaborazione alle analisi virologiche

Sig. Giovanni De Vivo e Sig. Pasquale Tedesco per l'allevamento delle piante

PIANTE AROMATICHE E MEDICINALI

CRA-MPF, Unità di Ricerca per il monitoraggio e la pianificazione forestale, Villazzano (TN)

Caratterizzazione agronomica, morfologica e qualitativa e valutazione di alcune specie medicinali e aromatiche

PIETRO FUSANI

Introduzione

L'Unità CRA-MPF di Trento è impegnata nel progetto RGV-FAO nella linea di ricerca sulle piante aromatiche e medicinali. Nel corso del 2012, sono stati ottenuti i risultati descritti di seguito, elencati per le diverse specie oggetto di studio.

Rhodiola rosea L.

Riguardo a *Rhodiola rosea* L., specie erbacea perenne di interesse medicinale la cui parte utilizzata è la radice, sono state svolte attività inerenti la caratterizzazione agronomica e qualitativa di diverse accessioni locali, ottenute da seme raccolto da altrettante popolazioni naturali reperite in provincia di Trento. In una prova agronomica in cui venivano confrontate tre accessioni locali della specie, una di queste, denominata Bondolo, ha fornito la più alta resa in radici per pianta (73,6 g in peso secco, p.s., ottenuti da piante di 4 anni di coltivazione). Riguardo al contenuto in principi attivi (p.a.), si ricorda che questi sono contenuti nella radice, e conferiscono proprietà adattogene e antistress alla specie: i principali composti appartengono alle classi dei fenilpropanoidi (rosarina, rosavina e rosina) e dei feniletanoidi (salidroside e tirosolo). I contenuti in p.a., medi delle tre accessioni, sono stati 0,36% per il salidroside, 0,29% per la rosavina e 0,012% per la rosina, valori che si situano nel *range* basso dei valori riportati in letteratura. Per quanto riguarda le accessioni, queste si sono differenziate solo per la rosavina (0,43% dell'accessione Adamello rispetto al 0,30% medio delle altre due). Il contenuto in p.a. è stato poi determinato nelle diverse parti che compongono la parte ipogea della pianta (rizoma e radici), in piante di 7 anni di coltivazione: il contenuto dei vari composti è risultato maggiore nei rizomi rispetto alle radici.

Arnica montana L.

Riguardo ad *Arnica montana* L., specie erbacea perenne di interesse medicinale la cui parte utilizzata sono i fiori (capolini), è stata effettuata la caratterizzazione agronomica e qualitativa di diverse accessioni locali ottenute da seme raccolto da popolazioni naturali reperite nel Nord Italia. In una prova di confronto fra tre accessioni locali e la cv Arbo, le rese ottenute, relative al terzo anno di coltivazione (2° di produzione), hanno confermato la miglior produttività della Arbo (101 g·m⁻² p.s.) rispetto alle accessioni locali (in media 47 g·m⁻² p.s.); queste ultime inoltre hanno mostrato una più alta percentuale di fallanze (34%) rispetto alla cultivar (3%). Lo stesso risultato, ovvero la maggior produttività e il minor numero di fallanze della cv "Arbo", è stato riscontrato in una collezione di germoplasma comprendente 13 accessioni locali e la cultivar stessa. Occorre però ricordare che le accessioni locali sono state ottenute da seme raccolto da piante spontanee, non soggette ad alcuna selezione. Nella prova di confronto, una delle accessioni locali (Bondone) ha tuttavia mostrato una resa soddisfacente (65 g·m⁻²), unitamente a un numero di fallanze non eccessivo (19%). Riguardo al contenuto in principi attivi, la stessa accessione, in campioni raccolti nel 2011, primo anno di produzione, ha mostrato un contenuto in sesquiterpenlattoni totali (1,19%) più elevato delle altre due, e un contenuto in acidi fenolici totali (1,53%) e flavonoidi totali (1,42%) più elevato di una delle due accessioni. Questi valori si situano nel *range* alto dei valori riportati in letteratura, e per quanto riguarda i sesquiterpenlattoni, ovvero la classe di composti più importanti per le proprietà farmacologiche attribuite alla specie, i valori ottenuti sono più elevati di quelli minimi riportati dalla Farmacopea Europea (0,4%).



***Echinacea angustifolia* DC.**

Riguardo ad *Echinacea angustifolia* DC., specie erbacea perenne di interesse medicinale la cui parte utilizzata è la radice, sono state svolte: una prova di progenie; uno studio sull'ereditabilità del carattere "contenuto in p.a."; una prova di allevamento in diversi substrati; uno studio sull'individuazione delle zone di accumulo di p.a. nelle radici; uno studio per la messa a punto di un protocollo per la *callus culture* della specie.

Nell'ambito della prova di progenie, dai dati ottenuti nel secondo anno di crescita delle piante in prova è stato riscontrato un buon grado di omogeneità tra le diverse progenie e interno alle progenie per i 15 caratteri morfologici presi in considerazione. La resa media in radici delle diverse progenie è stata di 180 g·m⁻² p.f., corrispondenti a 1,8 t·ha⁻².

Riguardo allo studio sulle zone di accumulo dei principali principi attivi nelle diverse parti della radice, sia l'echinacoside sia le alchilammidi sono state riscontrate in percentuale maggiore nel tessuto corticale (rispettivamente 1,15% e 0,48%) e nella parte apicale della radice (1,06% e 0,44%), mentre nel cilindro centrale gli stessi composti sono stati riscontrati in tracce. Si ricorda che l'echinacoside è un composto polifenolico dotato di proprietà antibatteriche e antivirali, e viene preso come riferimento per indicare la qualità della droga di *Echinacea angustifolia*, definita commercialmente da un contenuto minimo in echinacoside dell'1%, anche se la classe di composti più importanti del fitocomplesso sono le alchilammidi, responsabili delle proprietà farmacologiche immunostimolanti attribuite alla specie.

Nell'ambito dello studio sull'ereditabilità del carattere "contenuto in principi attivi", per le analisi di biologia molecolare si è proceduto all'estrazione del gDNA tramite protocollo CTAB da 56 soggetti provenienti dalla popolazione ottenuta dall'incrocio controllato tra i due genitori, uno a basso e uno ad alto contenuto in principi attivi. Sono stati utilizzati undici *primer* RAPD decamerici, che hanno prodotto un totale di 156 marcatori molecolari di cui 115 polimorfici. I risultati sono in corso di elaborazione.

Riguardo alla prova di allevamento in substrati di diversa composizione, i risultati ottenuti nel secondo anno hanno confermato quanto già osservato l'anno precedente, e cioè una notevole influenza del substrato di coltivazione sulla conformazione dell'apparato radicale. In particolare nelle piante allevate nel substrato sabbioso è stato riscontrato un minor numero di radici principali, un maggior diametro delle stesse e una più elevata produzione di capillari radicali rispetto alle piante allevate nel substrato argilloso. Il peso medio della radice è risultato di 24 g·pianta⁻² p.s. nel substrato con sabbia e 16 g·pianta⁻² p.s. nel substrato argilloso.

Riguardo alla messa a punto del protocollo per sviluppare la coltura di callo della specie, sono stati individuati due substrati migliori per le fasi induzione e proliferazione tra i 15 messi a confronto.

***Cicerbita alpina* (L.) Wallr.**

Per quanto riguarda *Cicerbita alpina* (L.) Wallr., specie erbacea perenne di interesse alimentare, la cui parte edule sono i germogli, è stata svolta la caratterizzazione morfologica e agronomica di alcune accessioni locali. Per quanto riguarda la caratterizzazione morfologica, sono stati utilizzati 40 descrittori specifici per il genere *Lactuca* noti in letteratura [Dolezalova *et al.*, 2002. Description of morphological characters of wild *Lactuca* L. spp. genetic resources. Hort Science 29 (2): 56-83.], opportunamente adattati alla specie, su 7 accessioni conservate nelle identiche condizioni di allevamento in uno dei campi sperimentali. Non sono state riscontrate differenze significative per nessuno dei descrittori rilevati. Ciò fa presupporre la sostanziale assenza di differenze tra le accessioni, le quali peraltro sono state reperite in un'area piuttosto ristretta qual è il territorio della provincia di Trento. Riguardo alla caratterizzazione agronomica, sono stati confermati i risultati ottenuti negli anni precedenti: raccogliendo germogli di caratteristiche idonee alla trasformazione, con peso medio variabile tra 5 e 10 g, la resa ottenibile è di 250 g·m⁻² p.f., corrispondente a 25 kg di prodotto fresco su una superficie di 100 m². Ricordando che il prodotto fresco è posto in vendita sul mercato locale a un prezzo oscillante tra 15 e 20 euro al kg, le rese ottenute nei campi sperimentali giustificano la convenienza economica alla produzione da parte di piccole aziende



agricole di montagna come integrazione al reddito derivante da altre colture.

Infine, si è proceduto al mantenimento della collezione germoplasma *in vivo, ex situ*, di specie di interesse aromatico e medicinale conservate presso la sede del CRA-MPF, e alla rigenerazione di parte delle specie conservate. Sono state inoltre reperite, nelle province di Trento e Bolzano, 4 accessioni locali di *Armoracia rusticana* G. Gartn. & al., specie alimentare nota con il nome volgare di “Cren” o “Rafano” ed inserita nel Sistema Multilaterale (MLS) del Trattato Internazionale FAO. E' stato poi rinnovato, secondo le modalità più comunemente in uso presso orti botanici ed istituzioni di ricerca, l'*Index seminum* della collezione germoplasma, pubblicato sulla pagina web <http://www.pianteofficinali.org>.

VITE

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

Valorizzazione di vitigni locali (uve da vino e uve da tavola)

DONATO ANTONACCI

Introduzione

Nel 2012, presso il CRA-UTV, sono proseguite le attività di caratterizzazione, sia in termini di varietà coltivate che di valutazione e valorizzazione delle varietà e delle accessioni in conservazione.

In particolare sono proseguite le attività di caratterizzazione:

- morfo-fisiologica e agronomica delle viti recuperate, in linea con i criteri concordati a livello internazionale in ambito OIV;
- bio-chimica delle uve (comprese anche le componenti nutraceutiche);
- molecolare, attraverso l'identificazione e l'impiego di marcatori molecolari in grado di evidenziare la variabilità intraspecifica, per chiarire insicurezze tassonomiche e per individuare singoli geni validi per un loro utilizzo in linee di miglioramento genetico.

Mentre le attività di valutazione e valorizzazione sono proseguite con:

- valutazione delle accessioni recuperate per un possibile reinserimento in coltivazione per mercati locali e di nicchia;
- utilizzo delle accessioni autoctone in programmi di miglioramento genetico e iscrizione al Registro Nazionale delle nuove varietà ritrovate.

Nell'ambito del progetto RGV-FAO, è stato possibile confrontare materiale recuperato nel Meridione d'Italia. Il trasferimento è stato realizzato presso l'azienda sperimentale del CRA-UTV di Turi dove è stato costituito un **vigneto di conservazione** delle accessioni recuperate, innestate sul portinnesto '1103 Paulsen'.

Individuazione dei vitigni nel territorio dell'Italia meridionale

Negli anni, il recupero ha riguardato il monitoraggio di vecchi vigneti (di età non inferiore a 20 anni), questi ultimi infatti, risultano essere il luogo di conservazione tradizionale per i vitigni di antica coltivazione, salvaguardati dai viticoltori interessati al mantenimento degli usi e costumi locali, nonché della viticoltura del territorio. Molto spesso i biotipi sono rappresentanti da ceppi isolati in gravi condizioni di conservazione (vecchi, danneggiati, non potati, ecc.). La ricerca e



Fig. 1: Alcuni vitigni storici recuperati

l'individuazione di vecchie vigne è stata supportata da un'indagine sui testi di ampelografia e da contatti con viticoltori che hanno conservato la memoria storica sulla provenienza delle viti in loro possesso.

L'individuazione dei biotipi, inoltre, è stata condotta tenendo conto delle potenzialità qualitative dei vitigni selezionati ed evitando la perdita della variabilità genetica a cui si potrebbe andare incontro nei lavori di selezione clonale, se limitati solo ad alcune caratteristiche.

Dal punto di vista viticolo, i principali parametri presi in considerazione sono stati: caratteristiche ampelografiche distintive; produttività (fertilità, vigoria, grappoli a diversa compattezza, preferendo quelli più spargoli); qualità delle uve (contenuto zuccherino e acidità); fenologia (precocità); sanità virologica (sintomatologia visiva).

Le regioni nelle quali è stata condotta la campagna di raccolta del germoplasma viticolo sono state la Puglia, la Campania, la Basilicata, la Calabria e la Sicilia. In ogni regione sono state individuate e raccolte varietà a bacca nera e bianca.

1. Caratterizzazione varietale

I vitigni recuperati sono stati - inizialmente - catalogati con il nome segnalato dal viticoltore. I ceppi sono stati etichettati con un codice alfanumerico indicante i riferimenti della zona di reperimento e il nome del vitigno. La descrizione ampelografica e la documentazione fotografica sono state avviate a partire dal ceppo individuato nel campo di reperimento. Contemporaneamente, in funzione dei nomi locali con i quali sono identificati i vitigni recuperati, sono state avviate le ricerche bibliografiche riconducibili alla varietà in esame. In tale ricerca sono state individuate accessioni aventi lo stesso nome ma con caratteristiche ampelografiche e produttive differenti (omonimia). In altre circostanze accessioni chiamate con nomi differenti sono risultate essere del tutto simili all'analisi ampelografia e molecolare (sinonimia).

2. Metodologia utilizzata per la descrizione delle viti

2.1. Attività di recupero. Le accessioni recuperate sono state moltiplicate e trasferite in un campo di conservazione, dove sono coltivate con un numero di ceppi limitato, ma comunque sufficiente per i necessari controlli e descrizioni, per le valutazioni viticole ed enologiche. Il campo di conservazione è situato in Puglia, provincia di Bari, agro di Rutigliano alla contrada Lamarossa (40°57'29"N e 17°00'25"E) a un'altitudine di circa 185 m s.l.m. Il terreno presenta una giacitura pianeggiante, ricco di scheletro con tessitura di medio impasto; sistema di allevamento a tendone stretto con sesto di 1m x 2,5m, densità d'impianto di 4.000 viti/ha.

2.2. Descrizione ampelografica. Le descrizioni delle accessioni sono state quelle per la definizione precisa dei caratteri ampelografici necessari all'identificazione delle varietà e specie di *Vitis*, standardizzate e armonizzate tra l'OIV (Office International de la Vigne et du Vin), l'UPOV (Union Internationale pour la Protection des Obtentions Végétales) e Bioversity International (ex IPGRI, International Plant Genetic Resources Institute).

2.3. Descrizione molecolare. Tra i marcatori molecolari attualmente disponibili per la caratterizzazione varietale, sono stati scelti i microsatelliti o SSR (Simple Sequence Repeats) per i loro numerosi vantaggi: analizzabili con grande precisione mediante tecniche semi-automatizzate, altamente polimorfici a livello varietale, marcatori di tipo codominante. L'analisi con i marcatori molecolari microsatelliti (13 loci SSR) 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. I loci SSR utilizzati sono stati: VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZAG62, VrZAG79 (This *et al.*, 2004), ISV2, ISV3, ISV4, VMCNG4b9 (Crespan, 2003), VVMD28, VVMD25 e VVMD32 (Bowers *et al.*, 1999).

2.4. Analisi chimiche

2.4.1. Metodologia utilizzata per il campionamento e analisi delle uve. Raggiunta la maturazione tecnologica, per ogni vitigno sono stati prelevati i campioni necessari per la determinazione dei parametri analitici. Il campione di uva è stato realizzato prelevando 10 grappoli per varietà/accessione, raccogliendo un grappolo per germoglio sviluppatosi nella zona mediana



del capo a frutto. Sulle uve sono state realizzate le analisi di caratterizzazione come di seguito descritte.

2.4.2. Analisi di base. Sul succo delle uve campionate è stata realizzata la determinazione del contenuto in solidi solubili totali ($^{\circ}$ Brix), l'acidità totale titolabile (g/l) e il pH.

2.4.3. Estrazione di polifenoli e antociani dalla buccia. Dal campione raccolto in prossimità della vendemmia sono stati selezionati tre gruppi, da dieci acini ciascuno, sui quali sono state realizzate le determinazioni di polifenoli e antociani (solo per le uve di colore rosa, rosso e nero). Gli acini sono stati pesati e successivamente pelati. Una volta separate dalla polpa, le bucce sono state lasciate in infusione. Sull'estratto sono state quindi realizzate le determinazioni citate.

3. Attività di ricerca

Di seguito è riportato l'elenco dei vitigni oggetto di approfondimento per la caratterizzazione varietale nel 2012: Cerasola, Gallico, Giosana, Grilla, Mantónico, Mantonicone, Marchione nero, Marsala, Maruglio, Messinese, Montónico Pinto, Tempranillo.

4. Valorizzazione uve da vino

Nel 2012, fra le attività di valorizzazione, per le uve da vino, sono state effettuate 33 vinificazioni, come di seguito riportato:

Vitigni a bacca rossa: Aglianico n., Asprino nero n., Cannamelo n., Cerasola n., Guarnaccia n., Maglioco canino n., Malaga n., Malva n., Negro dolce n., Olivella nera n., Olivetta n., Ottavianello n., Piediroso n., Prunesta n., Syrah n., Uva nera antica n., Uva per colore n., Zagarese BSL n., Zagarese PGL n., per un totale di 19 vinificazioni.

Vitigni a bacca bianca: Aglianico bianco b., Ansonica b., Asprino bianco b., Bianco d'Alessano b., Catarratto lucido b., Francavidda b., Grillo, b., Impigno b., Marsala b., Moscato giallo b., Mostosa b., Sanginella b., Sanguinella b., Verdana b., per un totale di 14 vinificazioni.

4.1. Tecnologie di vinificazione

Raggiunta la maturità tecnologica delle uve, sono state realizzate le trasformazioni enologiche. Di seguito sono sinteticamente descritte le due procedure tecnologiche (vinificazione in rosso e in bianco) utilizzate per le micro vinificazioni realizzate presso la cantina sperimentale del CRA-UTV.

4.1.1. Microvinificazioni per le uve rosse.

Raggiunto il momento ottimale per la raccolta, valutato attraverso il grado rifrattometrico, sono state raccolte le uve, escludendo quelle con evidenti problemi sanitari. La vendemmia è stata realizzata manualmente in cassetine da 20 kg e trasportate presso la cantina sperimentale del CRA-UTV a Turi. Le uve giunte in cantina sono state pigia-diraspate e addizionate di 8 g/hl metabisolfito di potassio, di 20 g/hl lievito, di 1g/hl enzima d'estrazione e di 20 g/hl di nutriente azotato. Controllata la temperatura del pigiato (necessari 20-25°C per un avvio ottimale della fermentazione) e avviata la fermentazione alcolica, sono state realizzate due follature giornaliere. A completamento della fermentazione, il mosto-vino è stato separato dalle vinacce, e queste ultime sono state torchiate fino alla pressione max di 1,5 atm. Successivamente, è stata avviata la fermentazione malo-lattica, con inoculo di batteri malo-lattici (temperatura di 20°C) e controllo del livello in SO₂ (max 20-30 mg/l). Alla fine della fermentazione malo-lattica è stato realizzato il primo travaso per allontanare il vino dalle fecce. In inverno (dicembre-gennaio) è stato realizzato il secondo travaso con controllo della SO₂ (max 20-30 mg/l). Successivamente il vino è stato stoccato a - 3-4°C per stabilizzazione tartarica (10-15 gg). Successivamente, dopo ulteriore correzione del SO₂ e microfiltrazione (1 micron) i vini sono stati imbottigliati e conservati a temperatura ambiente.

4.1.2. Microvinificazioni per le uve bianche.

Come per le uve rosse, raggiunto il momento ottimale per la raccolta, valutato attraverso il grado rifrattometrico, sono state raccolte le uve, escludendo quelle con evidenti problemi sanitari. La vendemmia è stata realizzata manualmente in cassetine da 20 kg e trasportate presso la cantina

sperimentale del CRA-UTV a Turi. Le uve giunte in cantina sono state pigia-diraspate con separazione immediata delle vinacce dal mosto mediante soffice (1-1,5 atm). Il mosto così ottenuto è stato addizionato di 8 g/hl metabisolfito di potassio e 1g/hl di enzima pectolitico e conservato alla temperatura di 10°C per 24 ore. Superato tale periodo, il mosto è stato separato dalle fecce, portato alla temperatura di 18°C ed addizionato con 20 g/hL lievito selezionato e di 20 g/hl di nutriente azotato. Dopo 10-15 gg di fermentazione, il mosto-vino è stato stoccato alla temperatura di 18 °C fino alla completa decantazione delle fecce. A fine decantazione è stato realizzato un primo travaso con il controllo del livello in SO₂ (max 20-30 mg/l). In inverno (dicembre-gennaio) è stato realizzato il secondo travaso con controllo della SO₂ (max 20-30 mg/l). Successivamente il vino è stato stoccato a - 3-4°C per stabilizzazione tartarica (10-15 gg). Successivamente, dopo ulteriore correzione del SO₂ e microfiltrazione (1 micron) i vini sono stati imbottigliati e conservati a temperatura ambiente.

4.1.3. Analisi sui vini.

Sulle vinificazioni, realizzate nel 2011, sono state realizzate le analisi relative alle caratteristiche qualitative di riferimento per i vini bianchi e per i vini rossi. In particolare per i vini bianchi le analisi hanno riguardato l'Acidità Totale (g/l Ac. Tartarico), l'Acidità volatile (g/l Ac. Acetico), l'SO₂ libera (mg/l), SO₂ totale (mg/l), l'Estratto secco, pH, °alcolico (% V/V). Per i rossi le determinazioni hanno invece riguardato: Acidità Totale (g/l Ac. Tartarico), Acidità volatile (g/l Ac. Acetico), SO₂ libera (mg/l), SO₂ totale (mg/l), Estratto secco, pH, °alcolico (% V/V), Intensità colorante, Tonalità, Polifenoli totali (mg/l), Antociani totali (mg/l), Flavonoidi totali (mg/l).



Fig. 2: Analisi sensoriale di vini delle uve Giosana b. e Aglianico n.

5. Valorizzazione uve da tavola

La valorizzazione agronomica di uve da tavola è proseguita con attività svolte l'anno precedente riguardanti tecniche colturali importanti per le uve da tavola e varietà di antica coltivazione quali: 'Baresana b.' (forme di allevamento), 'Italia b.' (irrigazione) e 'Regina b.' (carico produttivo).

+++ in breve +++ in breve +++ in breve +++ in breve +++

- E' **disponibile online** il portale **PlantA-Res**, gestito dal CRA-FRU e dedicato alle risorse genetiche vegetali, la loro conservazione, caratterizzazione e l'utilizzo sostenibile in Italia
Sito web: www.planta-res.entecra.it
- E' stato pubblicato l'**Inventario delle Landrace vegetali conservate in situ in Italia**, frutto del progetto europeo "PGRSecure" e gestito dall'Università di Perugia
Sito web: <http://vnr.unipg.it/PGRSecure/html/home.html>
- L'Italia ha incluso **16.943 accessioni** di RGVA nel Sistema Multilaterale del Trattato FAO, **disponibili per lo scambio** a favore della ricerca e del miglioramento genetico ai fini dell'agricoltura sostenibile e della sicurezza dell'alimentazione globale
Sito web: <http://www.planttreaty.org/inclusions>
- L'Italia ha aggiornato l'**Inventario Nazionale delle RGVA conservate ex situ** nel catalogo europeo **EURISCO**, portando il numero delle accessioni conservate presso numerose strutture italiane a **41.438**
Sito web: <http://eurisco.ecpgr.org/>
- **"Born in Sicily"**: La Sicilia adotta la **Legge Regionale** sulla tutela e la valorizzazione delle **risorse genetiche autoctone** per l'agricoltura e l'alimentazione
Sito web: <http://www.gurs.regione.sicilia.it/Gazzette/g13-52/g13-52.pdf>
- Sono stati adottati i **"Revised Genebank Standards"** della **Commissione FAO** sulle RGAA comprendenti le norme e linee guida aggiornate per la corretta conservazione *in vivo*, *in vitro* e di semi in condizioni *ex situ* delle **risorse genetiche vegetali**
Sito web: http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/PGR/genebank/GeneBank_ENG_WebFile.pdf
- E' **disponibile online** l'"Easy sMTA" per facilitare lo scambio di materiale vegetale nell'ambito del **Sistema Multilaterale del Trattato FAO**
Sito web: <https://mls.planttreaty.org/itt/>

Notiziario Risorse Genetiche VegetaliDirettore responsabile: **Carlo Fideghelli**

Comitato di redazione:

Petra Engel petra.engel@gmail.com**Alessia Mellone** alessia.mellone@entecra.it**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>

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 a inviarci contributi di varia natura (review, lettere, informazioni su convegni, ecc) da pubblicare su questo "Notiziario"