

Studio delle accessioni di Vitis vinifera sylvestris e sativa in collezione presso la Fondazione Mach

> F.M. MOREIRA, Silvia LORENZI, Maddalena SORDO, Luca ZULINI, Marco STEFANINI, Francesco EMANUELLI, M. Stella GRANDO

Centro Ricerca e Innovazione, Fondazione Edmund Mach Istituto Agrario di San Michele all'Adige Via Mach, 1 38010 San Michele all'Adige (Trento), Italia stella.grando@iasma.it

## Introduzione

Le popolazioni di vite selvatica (*Vitis vinifera* ssp. *sylvestris*) sono state devastate negli ultimi secoli dall'introduzione di nuove malattie in Europa e oggi rischiano di scomparire dai loro habitat naturali a causa delle pratiche moderne di sfruttamento del territorio. E' dunque molto importante raccogliere e conservare il germoplasma selvatico per non rinunciare definitivamente alle risorse genetiche ancora disponibili.

Nella collezione ampelografica della Fondazione Edmund Mach-Istituto Agrario di San Michele all'Adige, fin dagli anni '90 sono stati impiantati materiali provenienti da operazioni di recupero della *V. sylvestris* in Italia (Failla *et al.*, 1992). Altre accessioni di vite selvatica provenienti da diversi siti europei sono state introdotte successivamente nella collezione grazie alle collaborazioni sviluppate con varie Istituzioni.

Attualmente, l'intera collezione di germoplasma viticolo comprende circa 2.000 accessioni putativamente di *V. vinifera* sativa, 200 di *V. vinifera* sylvestris, 100 di altre specie di *Vitis* e 400 ibridi interspecifci, inclusi numerosi portinnesti.

Allo scopo di studiare e iniziare a sfruttare per scopi di breeding le risorse genetiche raccolte in collezione, recentemente è stato avviato un lavoro di caratterizzazione con marcatori del DNA di tutto il germoplasma presente. In questo modo sono state prodotte informazioni che permettono di stimare il livello di diversità presente, rimuovere accessioni ridondanti e migliorare la conoscenza del germoplasma dei vari compartimenti (coltivato, selvatico). E' noto infatti che molte accessioni sono erroneamente denominate nelle collezioni e che spesso a nomi diversi corrispondono materiali viticoli geneticamente identici. Anche nel caso del riconoscimento delle viti selvatiche, il ricorso alla descrizione con marcatori molecolari può svelare identità di materiali campionati nello stesso sito o circolanti fra collezioni con nomi distinti. Una incerta discriminazione su base ampelografica può inoltre portare alla conservazione di individui originati dall'ibridazione tra sottospecie di *vinifera* o di portinnesti scambiati per *V. sylvestris*.

Nel presente lavoro, vengono riportati alcuni risultati dell'analisi molecolare condotta su tutto il germoplasma della Collezione Mach e dei test di assegnazione basati sulle frequenze alleliche delle accessioni appartenenti ai diversi compartimenti.

## Materiali e metodi

II DNA è stato estratto da foglie giovani di circa 2.700 accessioni di vite utilizzando il Qiagen Dneasy 96 Plant kit. Ogni campione è stato analizzato inizialmente sulla base di 10 dei loci microsatelliti più usati dalla comunità scientifica internazionale: VVS2 (Thomas & Scott, 1993), VVMD5, VVMD7 (Bowers *et al.*, 1996), VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD31, VVMD32 (Bowers *et al.*, 1999), VrZAG62 and VrZAG79 (Sefc *et al.*, 1999). Il numero di genotipi diversi è stato stabilito in base alla completa identità degli alleli a tutti i loci usando Microsatellite Toolkit 3.1. Successivamente un'accessione per genotipo è stata analizzata nei seguenti ulteriori 12 loci SSR: VMC1B11, VMC4F3.1, VMC4F8, VVIB01, VVIH54, VVIN16, VVIN73, VVIP31, VVIQ52, VVIV37, VVMD21, VVMD24 (Vitis Microsatellite Consortium, Agrogene SA – Moissy Cramayel, France). I frammenti di DNA sono stati separati con il sistema ABI Prism 3130 Genetic Analyzer e rilevati con il software GeneMapper 4.0.

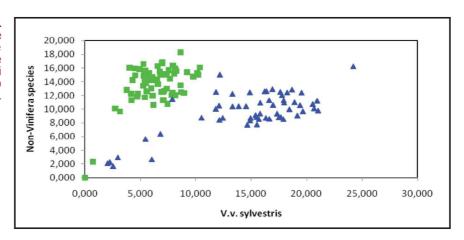
Gli individui di *V. vinifera sylvestris* e un gruppo di accessioni di *V. vinifera sativa* sono stati anche genotipizzati a livello di circa 150 SNP identificati nel genoma di Pinot Nero utilizzando la tecnologia SNPlex<sup>TM</sup> (Applied Biosystems).

Le analisi genetiche di popolazione sono state condotte con il pacchetto GENALEX 6.2 (Peakall and Smouse, 2006).

## Risultati e discussione

Attraverso il confronto dei profili di microsatelliti a 10 loci, le 2.700 accessioni della collezione sono state raggruppate in circa 1.200 grup-

Figura 1.
Struttura di due
popolazioni di presunte
V.v. sylvestris e altre
specie di Vitis Test di
assegnazione basato
su 6 marcatori SSR.



pi corrispondenti ad altrettanti genotipi diversi. L'estensione dell'analisi ad ulteriori 12 loci non ha stabilito altre identità, confermando il potere discriminante della prima analisi. Le accessioni putativamente appartenenti alla *V. vinifera* coltivata hanno mostrato il più alto livello di ridondanza. Come spesso emerge dai confronti di vitigni minori, nei gruppi di genotipi con profili molecolari identici si ritrovano casi di plausibile sinonimia, varianti clonali della stessa varietà e anche casi di cultivar erroneamente denominate.

Un terzo delle accessioni che in base alla documentazione risultavano essere *V. vinifera sylvestris* hanno mostrato genotipi comuni ad altre piante della collezione. In diverse occasioni alcune accessioni provenienti dallo stesso sito sono risultate identiche, come per es. quelle prelevate lungo il fiume Sinni in Basilicata. Profili identici sono stati prodotti anche da accessioni per le quali esistevano dubbi di errata attribuzione al compartimento selvatico e rivelatesi essere infatti *V. labrusca* in un caso e possibili ibridi *sylvestris* x *sativa* in altri.

I profili SSR delle accessioni di *sylvestris* sono stati confrontati con quelli delle *V. vinifera sativa* e delle altre *Vitis* in collezione per ottenere indicazioni sull'assegnazione dei singoli individui alle varie popolazioni (Fig. 1).

Sulla base delle indicazioni emerse da questi test, le diverse piante di vite selvatica sono state osservate durante il periodo di fioritura e durante la maturazione dell'eventuale frutto per completare il quadro