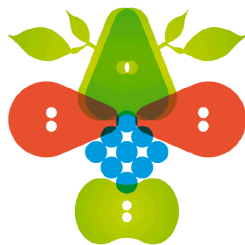




# L'analisi genetica per la Biodiversità

Caso di studio sulla Caratterizzazione  
molecolare delle accessioni umbre di Pero

Emidio Albertini

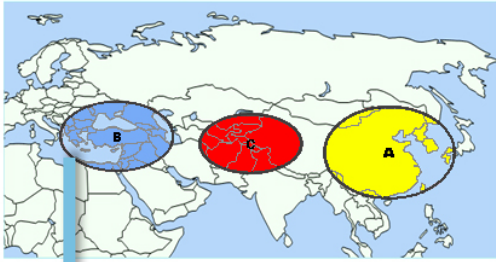


La salvaguardia della Biodiversità regionale di interesse agrario  
3A Parco Tecnologico Agroalimentare dell'Umbria  
Pantalla di Todi - 17 novembre 2017

# Introduzione

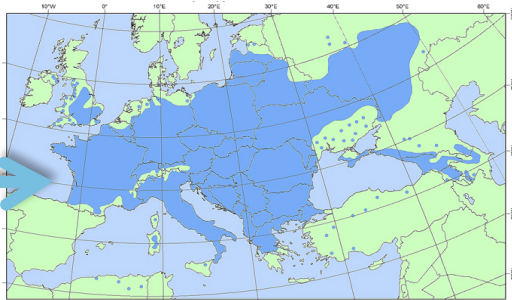
Il genere *Pyrus* ( $2n=2x=34$ ) appartiene alla famiglia delle Rosaceae sottofamiglia Pomoidea; il numero cromosomico di base è 17 mentre quello somatico è 34 (51 o 68).

Il genere *Pyrus* si è differenziato nel periodo Terziario nel territorio corrispondente all'attuale Cina Occidentale.



## Centri di origine

- A** Cina - *P. pyrifolia*, *P. ussuriensis*, *P. calleriana*
- B** Medio Oriente - *P. communis*
- C** Asia centrale - *P. communis* × *P. heterophylla*  
*P. communis* × *P. bretschneideri*



Distribuzione Eurasiatica

Vavilov (1951)

Produzione mondiale: 23,5 milioni di t  
Cina (più del 50% della produzione mondiale),  
seguita dagli Stati Uniti, Italia, Argentina e Turchia

Negli ultimi decenni il 75% della produzione  
italiana è data da sole sei varietà



Forte riduzione della diversità genetica

# In Umbria

Ancora oggi è possibile trovare in alberi di pero monumentali di vecchie varietà oggi non più coltivate: questi alberi rappresentano una eredità genetica di inestimabile valore.



Collezioni regionali di conservazione delle varietà locali



A photograph of a pear hanging from a branch with several green leaves. The pear is yellowish-orange with some red speckling. The background is a soft-focus green. The text is overlaid on the image in white.

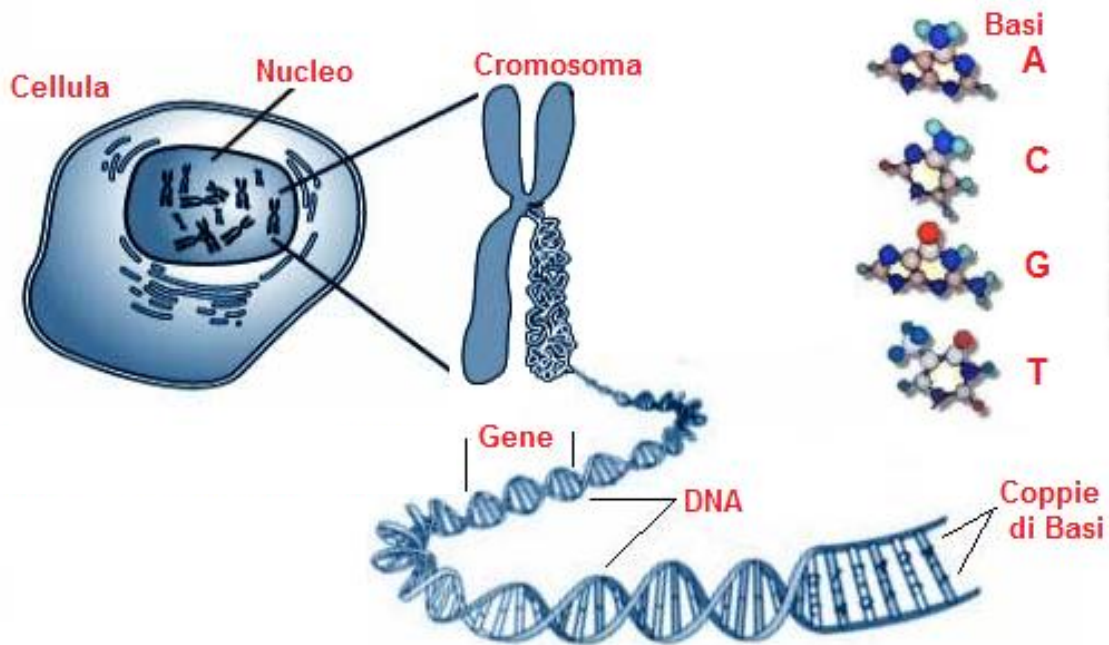
Scopo

Approccio con marcatori  
molecolari

- Identificare e dirimere eventuali casi di sinonimia e omonimia
- Delineare le relazioni filogenetiche e filogeografiche

in accessioni locali e Varietà Locali di pero della  
Regione Umbria

# Dove si trova il DNA?





Le impronte digitali hanno svolto per decenni un ruolo centrale  
nei casi di accertamento di identità degli individui



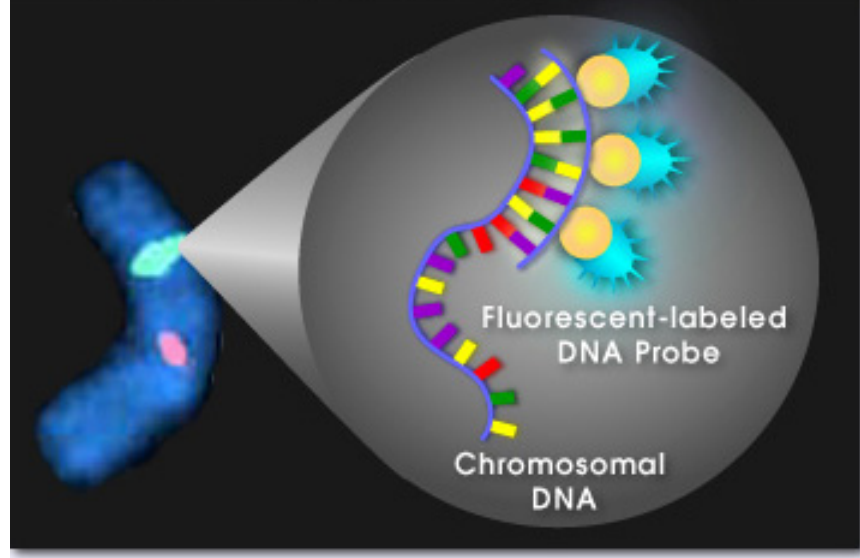
si basa sul presupposto che non esistono due individui con  
impronte identiche



si basa sul presupposto che non esistono due individui con  
impronte identiche



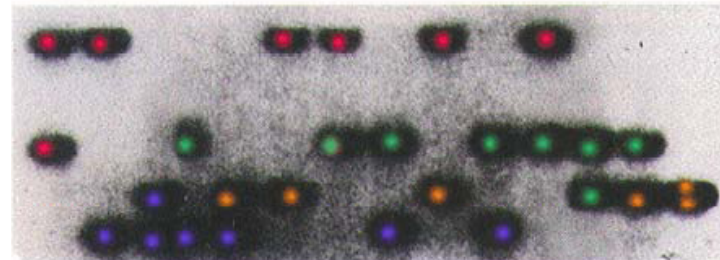
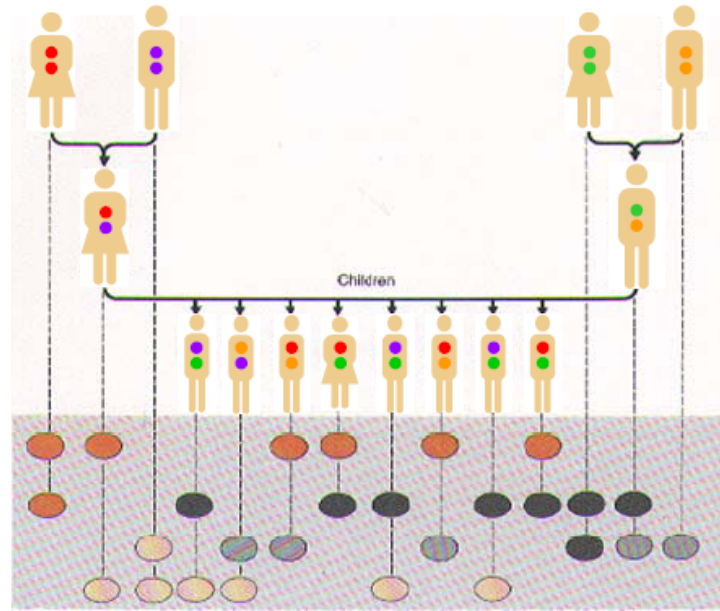
Come una pietra miliare stradale,  
il marcatore contrassegna un particolare punto nel genoma



I marcatori molecolari sono  
sequenze di DNA che  
presentano un elevato grado di polimorfismo  
sono ereditabili



un locus è **polimorfico**  
se è possibile mettere in evidenza le  
differenze a livello del DNA



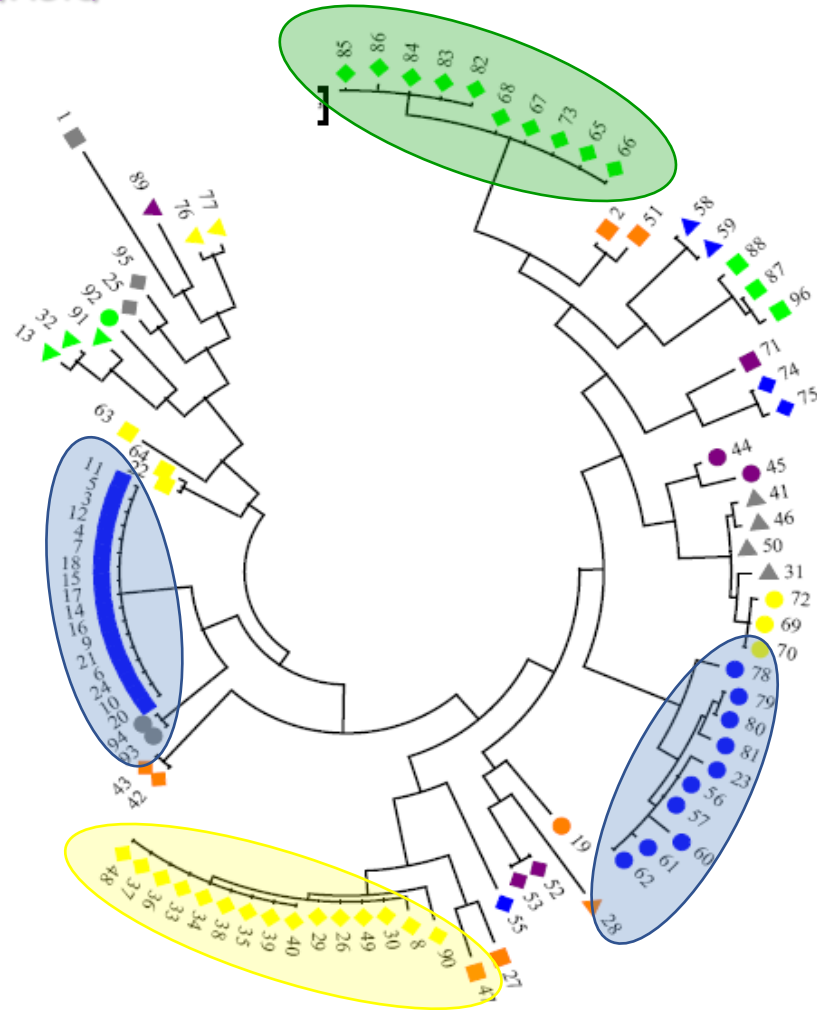
# Caratterizzazione varietale

Caratterizzazione molecolare di  
varietà locali abruzzesi di olivo  
(Dritta, Gentile di Chieti e Tortiglione)  
in prospettiva della  
tutela degli oli monovarietali



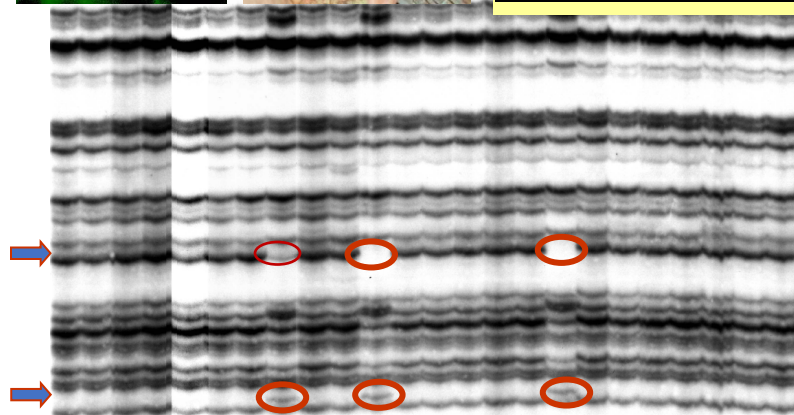
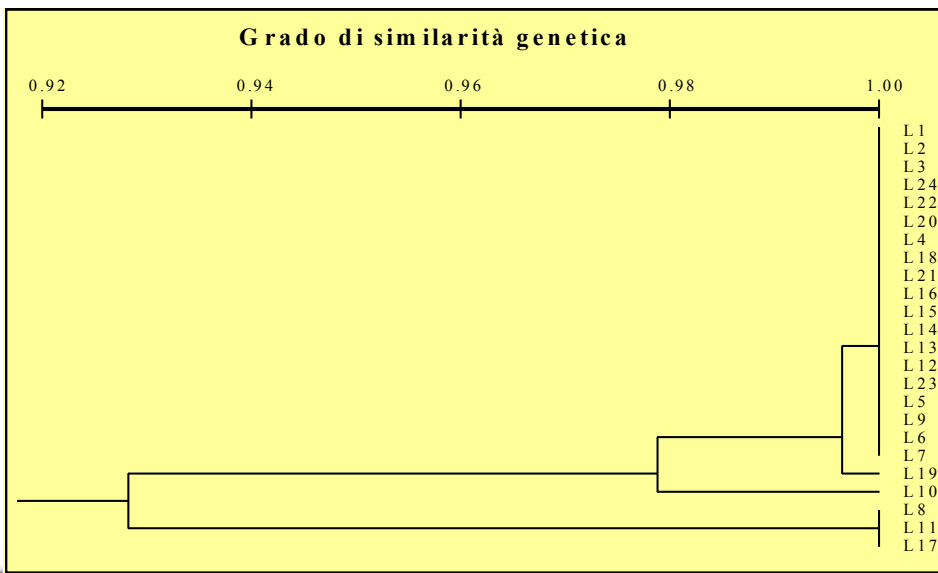
# Distinte nettamente le varietà locali

Dritta  
Gentile di Chieti  
Gentile dell'Aquila  
Tortiglione

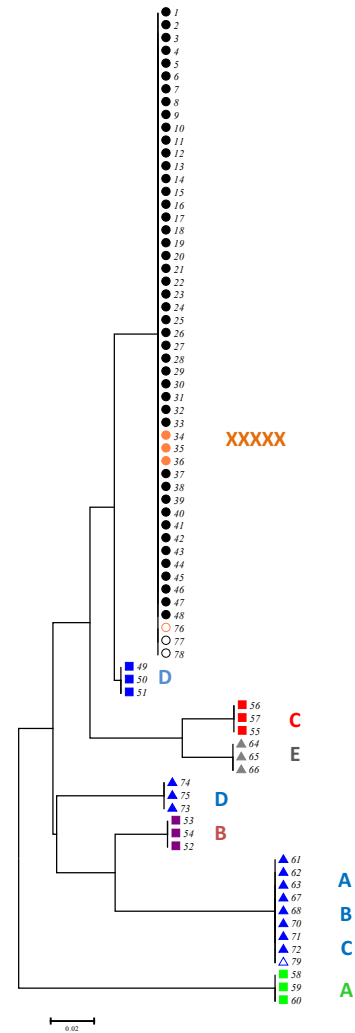


# frodi

## Caratterizzazione della lenticchia di castelluccio



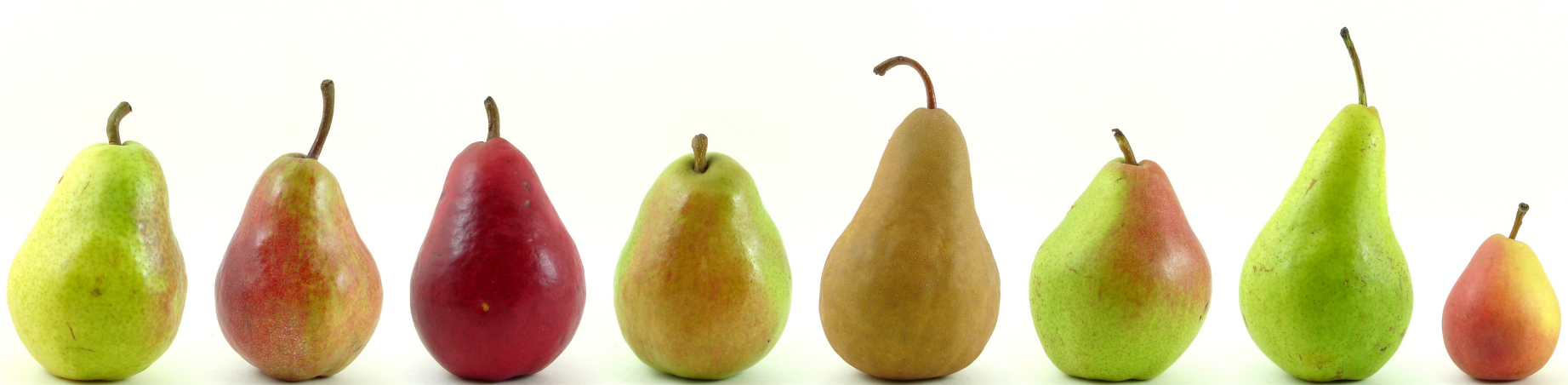
# Tribunale di Milano



Quindi si è deciso di analizzare il DNA

Con marcatori del nucleo: per trovare sinonimie e omonimie

Con marcatori del cloroplasto: per tracciare la storia evolutiva



Progetto Coordinato dal 3A PTA - Finanziato dalla Regione Umbria con fondi P.S.R. 2007-2013.



95 Accessioni

24 Cultivar 43 Varietà Locali 20 Accessioni Locali

8 Altre specie del genere *Pyrus*

- 23 accessioni - Centro di Ricerca per la Frutticoltura Roma - CREA (gr4)
- 46 accessioni - 3A-PTA Pantalla Todi PG (gr1, gr3)
- 18 accessioni - Archeologia Arborea (gr5)
- 8 accessioni - Vivaio Adanti, Bevagna, PG (gr2)

ID	Name	Status <sup>1</sup>	Ripening Stage <sup>2</sup>	ID	Name	Status <sup>1</sup>	Ripening Stage <sup>2</sup>
gr1_001	Unknown	LA	S	gr3_056	Pera della Battitura	LV	S
gr1_002	Unknown	LA	AW	gr3_058	Pera Limone	LV	S
gr1_004	Pera Trentonco	LV	AW	gr3_059	Pera S. Pietro	LV	S
gr1_005	Unknown	LA	S	gr1_061	Pera di Montelupone	LV	AW
gr1_006	Unknown	LA	S	gr1_062	Madernassa	CV	AW
gr1_007	Pera Agostina	LV	S	gr1_063	Unknown	LA	AW
gr1_008	Unknown	LA	S	gr4_065	Duchessa d'Auguleme	CV	AW
gr1_009	Pera Sementina	LV	AW	gr4_066	Pergamotte Esperen	CV	AW
gr1_010	Unknown	LA	AW	gr4_067	P. ussuriensis	OS	AW
gr1_011	Unknown	LA	AW	gr4_068	Coscia Tardiva	CV	S
gr1_012	Unknown	LA	S	gr4_069	Carmen	CV	S
gr1_013	Pera Grassana	LV	AW	gr4_070	Conferece	CV	AW
gr1_014	Pera Ruzza	LV	AW	gr4_071	Coscia Precoce	CV	S
gr1_015	Pera campana	LV	S	gr4_073	Passa Crassana	CV	AW
gr1_016	Pera di Monteleone	LV	AW	gr4_074	Angelica	CV	S
gr1_018	Pera mezza	LV	S	gr4_075	Decana del Comizio	CV	AW
gr1_020	Coscia	CV	S	gr4_076	Pera Spadoncina Estiva	LV	S
gr1_021	Unknown	LA	UNK	gr4_077	Williams	CV	S
gr1_022	Unknown	LA	AW	gr4_078	Kaiser	CV	AW
gr1_023	Unknown	LA	UNK	gr4_079	Butirra Precoce Morettini	CV	S
gr1_024	Unknown	LA	S	gr4_080	P. caucasica	OS	S
gr1_025	Unknown	LA	UNK	gr4_081	Curato	CV	AW
gr1_027	Unknown	LA	S	gr4_082	P. pyrifolia	OS	S
gr1_028	Unknown	LA	UNK	gr4_083	Guyot Precoce	CV	S
gr1_029	Unknown	LA	UNK	gr4_085	P. calleryana	OS	AW
gr1_030	Unknown	LA	UNK	gr4_086	P. betulaefolia	OS	UNK
gr2_032	Pera Ammazza Cavallo	LV	AW	gr4_087	Santa Maria Morettini	CV	S
gr2_034	Bergamotte Esperen	CV	AW	gr4_088	P. cossonii	OS	UNK
gr2_035	Pera Broccolina	LV	AW	gr4_089	P. syriaca	OS	UNK
gr2_036	Pera Scipiona	CV	AW	gr5_090	Pera Fiorentina	LV	AW
gr2_037	Martin Sec	CV	AW	gr5_091	Pera Lardaia	LV	S
gr2_038	Mora di Faenza	CV	AW	gr5_092	Pera Moscatella Tardiva	LV	AW
gr2_039	Cedrata Romana	CV	AW	gr5_093	Pera Cane	LV	AW
gr2_040	Angelica	CV	S	gr5_094	Pera Grossa d'Autunno	LV	AW
gr3_042	Pera Volpina	LV	AW	gr5_095	Pera Leccia	LV	AW
gr3_043	Pera di Monteleone	LV	AW	gr5_096	Pera Rubbia	LV	AW
gr3_044	Unknown	LA	UNK	gr5_097	Pera Lardaia	LV	S
gr3_045	Pera Burro	LV	AW	gr5_098	Pera marzola	LV	AW
gr3_046	Pera della Trebbiatura	LV	S	gr5_102	Pera Somentina	LV	AW
gr3_047	Pera Tonda Roggia	LV	AW	gr5_103	Pera Bianchina	LV	S
gr3_048	Pera Vernia	LV	AW	gr5_104	Pera Volpina	LV	AW
gr3_049	Pera Prestareccia	LV	S	gr5_105	Pera Moscatella	LV	S
gr3_050	Spadona d'inverno	CV	AW	gr5_106	Pera Brutta Buona	LV	S
gr3_051	Pera Limoncina	LV	S	gr5_109	Pera Cannella	LV	S
gr1_052	Pera S. Pietro	LV	S	gr5_110	Pera Garofina	LV	S
gr3_053	Unknown	LA	UNK	gr5_112	Pera di Tiberio	LV	AW
gr3_054	<i>P. communis</i> var. <i>pyraster</i>	OS	AW	gr5_117	Pera Briaca	LV	S
gr3_055	Pera Agostina	LV	S				

<sup>1</sup>LA (Local Accession); LV (Local variety); CV (Cultivar); OS (Other species of the genus *Pyrus*)

<sup>2</sup>S (Summer ripening); AW (Autumn-Winter ripening); UNK (Unknown)

## Sequenze nucleotidiche dei microsatelli del pero utilizzate nel presente studio

SSR loci	Forward primer sequence (5'-3')	Reverse primer sequence (5'-3')	Motif	Type of locus	Linkage group*
NH019b	gag atg gag tag taa aga aga agg	acg aca tag tga aaa cag aag	(AG) <sub>18</sub>	sloc	15
NH023a	gat gct aga agg aag gaa tga tgg	ctt ttc aac ccc ttc acc ttc tc	(AG) <sub>19</sub>	sloc	3
NH026a	cg t aat act cgt agt gca tga tg	gct tct gga cta tca cta ttt ctt c	(AG) <sub>30</sub>	sloc	10
NH027a	taa tgt gtt ggg gag aga gag	gct ctt gtt cct tgc tcc taa	(GA) <sub>21</sub>	sloc	6
NH029a	gaa gaa aac cag agc agg gca	cct ccc gtc tcc cac cat att ag	(AG) <sub>8</sub>	sloc	9
NH030a	gca aca gat agg agc aaa gag gc	tcc aaa gtt caa cac aga tca aga g	(AG) <sub>18</sub>	sloc	3
Nb103a	ttg tag gga aaa tga tgc ca	gtg ttg ata ctc tct ctc tc	(AG) <sub>31</sub>	sloc	13
Nb105a	aaa caa ccg act gag caa cat c	aaa atc tta gcc caa aat ctc c	(AG) <sub>15</sub> AT(AG) <sub>10</sub>	sloc	4
Nb109a	atg ctc tat aaa acc cac cta cc	aga ggg acc att gtg tta ttg tat	(AG) <sub>18</sub>	sloc	3

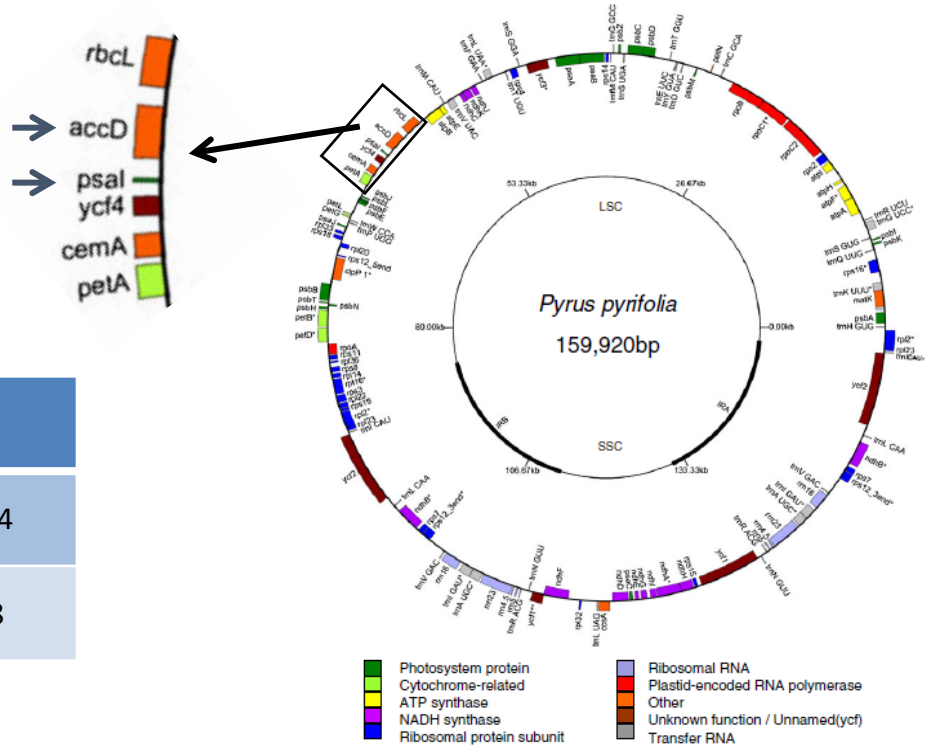


# Analisi cpDNA

Regione intragenica ipervariabile di 857 bp

Sequenze nucleotidiche dei primer usati per l'amplificazione

Locus	Primer sequence (5'-3')	Reference
accD2 For	ctt att cga tcc aat cgt acc ac	Zheng <i>et al.</i> 2014
psal 75R Rev	aga agc cat tgc aat tgc cgg aaa	Small <i>et al.</i> 1998

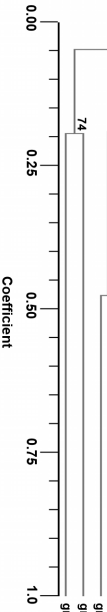
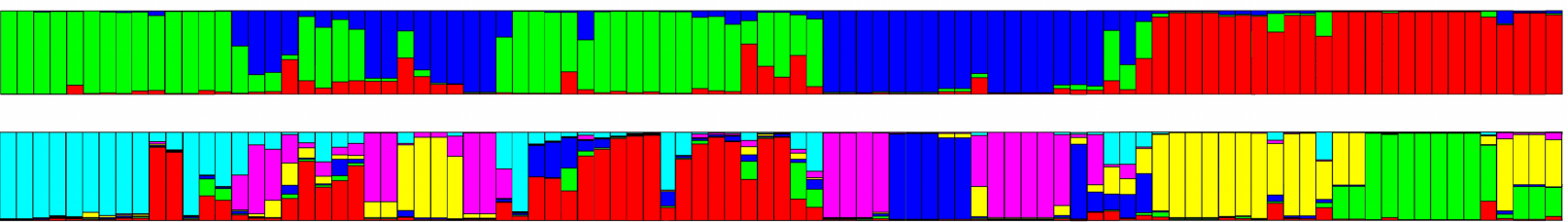




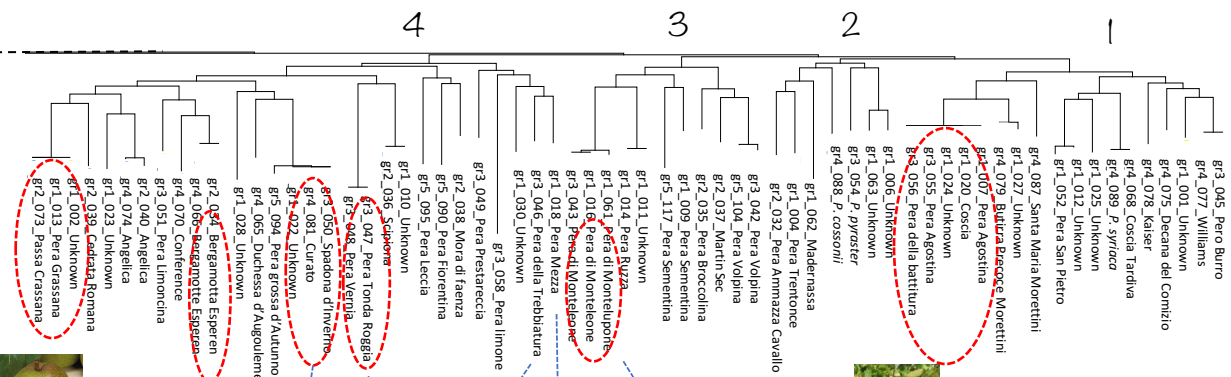
# Characterization and Phylogenetic Analysis of Ancient Italian Landraces of Pear

*Nicoletta Ferradini<sup>1</sup>, Hovirag Lancioni<sup>2</sup>, Renzo Torricelli<sup>1</sup>, Luigi Russi<sup>1</sup>, Isabella Dalla Ragione<sup>1</sup>, Irene Cardinali<sup>2</sup>, Gianpiero Marconi<sup>1</sup>, Mauro Gramaccia<sup>3</sup>, Luciano Concezzi<sup>3</sup>, Alessandro Achilli<sup>4</sup>, Fabio Veronesi<sup>1</sup> and Emidio Albertini<sup>1\*</sup>*

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italy; <sup>2</sup> Dipartimento di Chimica, Biologia e Biotecnologie, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italy; <sup>3</sup> SA Parco Tecnologico Agroalimentare Dell'Umbria – Todì, Perugia, Italy; <sup>4</sup> Dipartimento di Biologia e Biotecnologie "L. Spallanzani", Università di Pavia, Pavia, Italy



- 99 gr1\_001 UA
- gr3\_045 LV\_Pera Burro
- gr4\_071 CV\_William
- gr4\_075 CV\_Declina del Comizio
- gr4\_087 CV\_S. Maria Moretini
- gr1\_007 LV\_Pera Agostina
- gr1\_020 CV\_Coscia
- gr1\_024 UA
- 100 gr3\_055 LV\_Pera Agostina
- gr3\_056 LV\_Pera della Battitura
- gr1\_027 UA
- 99 gr4\_079 CV\_Buttra Prec. Moretini
- gr4\_068 CV\_Coscia Tardiva
- 100 gr4\_089 RS\_P\_sylvaica
- gr4\_078 CV\_Kaiser
- gr1\_012 UA
- 99 gr1\_052 LV\_Pera San Pietro
- gr1\_023 UA
- 99 gr2\_040 CV\_Angelica
- gr4\_074 CV\_Angelica
- gr1\_002 UA
- 100 gr1\_013 LV\_Pera Grassana
- gr4\_073 CV\_Passa Grassana
- gr2\_039 CV\_Cedria Romana
- gr1\_004 LV\_Pera Trentonice
- gr2\_032 LV\_Pera Ammazza Cavallo
- gr1\_082 CV\_Mademassa
- gr1\_009 LV\_Pera Sementina
- gr5\_117 LV\_Pera Bianca
- gr2\_038 CV\_Mera di Fianza
- gr1\_022 UA
- 100 gr3\_050 CV\_Spodina d'Inverno
- gr4\_081 CV\_Carato
- gr5\_094 LV\_Pera Grossa d'Autunno
- gr4\_085 CV\_Duchesse d'Angouleme
- 100 gr1\_011 UA
- gr1\_014 LV\_Pera Ruzza
- 100 gr1\_016 LV\_Pera Monteleone
- 61 gr3\_043 LV\_Pera Monteleone
- gr1\_064 LV\_Pera Montelupone
- gr2\_035 LV\_Pera Broccollina
- gr2\_037 CV\_Manti-Sec
- gr3\_042 LV\_Pera Volpina
- gr5\_104 LV\_Pera Volpina
- 96 gr4\_069 CV\_Carmen
- gr4\_083 CV\_Guyva Precoce
- gr1\_006 UA
- 96 gr1\_063 UA
- gr4\_088 RS\_P\_consoili
- gr1\_021 UA
- gr5\_112 LV\_Pera il Tiberio
- gr1\_029 UA
- gr5\_096 LV\_Pera Rubbia
- gr3\_034 RS\_P\_pyraster
- gr3\_044 UA
- 100 gr5\_109 LV\_Pera Cannella
- gr5\_103 LV\_Pera Bianchina
- gr5\_110 LV\_Pera Garofina
- gr4\_076 LV\_Pera Spadocchina Estiva
- gr4\_071 CV\_Coscia Precoce
- gr5\_091 LV\_Pera Lardata
- gr5\_097 LV\_Pera Lardata
- gr5\_102 LV\_Pera Sementina
- gr5\_106 LV\_Brida Buona
- 100 gr1\_010 UA
- gr2\_036 CV\_Scipiona
- 100 gr2\_034 CV\_Bergamote Espereu
- gr4\_066 CV\_Bergamote Espereu
- gr4\_070 CV\_Conference
- gr3\_031 LV\_Pera Limoncina
- 100 gr3\_048 LV\_Pera Fonda Roggia
- gr3\_048 LV\_Pera Verma
- gr1\_018 LV\_Pera Mezza
- gr3\_046 LV\_Pera della Trebbiadura
- gr1\_030 UA
- gr3\_049 LV\_Pera Prestareccia
- gr3\_058 LV\_Pera Limone
- gr1\_028 UA
- gr5\_090 LV\_Pera Fiorentina
- gr5\_095 LV\_Pera Leccia
- gr1\_005 UA
- 96 gr3\_059 LV\_Pera San Pietro
- gr4\_085 RS\_P\_caliogiana
- gr1\_015 LV\_Pera Campana
- gr3\_105 LV\_Pera Moccantila
- gr5\_092 LV\_Pera Moccantila Tardiva
- gr5\_093 LV\_Pera Carne
- gr5\_098 LV\_Pera Marzola
- gr3\_053 UA
- gr4\_080 RS\_P\_caucasica
- gr1\_008 UA
- gr4\_082 RS\_P\_pyrifolia
- gr4\_067 RS\_P\_ussunensis
- gr4\_086 RS\_P\_benivolita



Pera Coscia

Pera Agostina



Pera di Monteleone



Pera Mezza



Pera della Trebbiatura



Pera Vernia o Tonda Roggia



Curato



Bergamotte Esperen



Passa Crassana



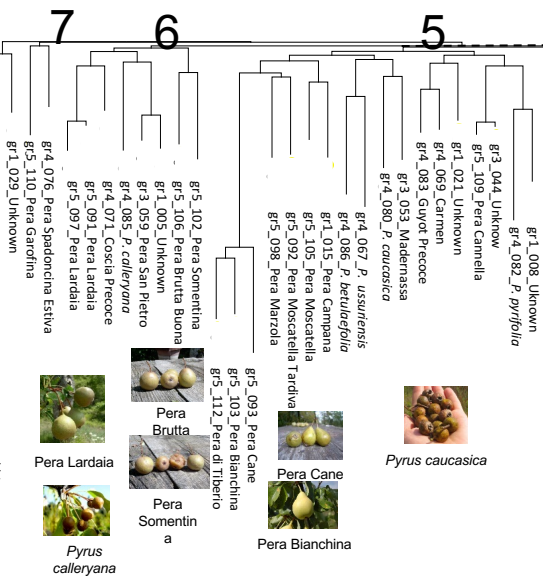
*Pyrus betulifolia*



*Pyrus ussuriensis*



*Pyrus pyrifolia*



*Pyrus caucasica*



Pera Cane



Pera Bianchina



Pera Brutta



Pera Somentina



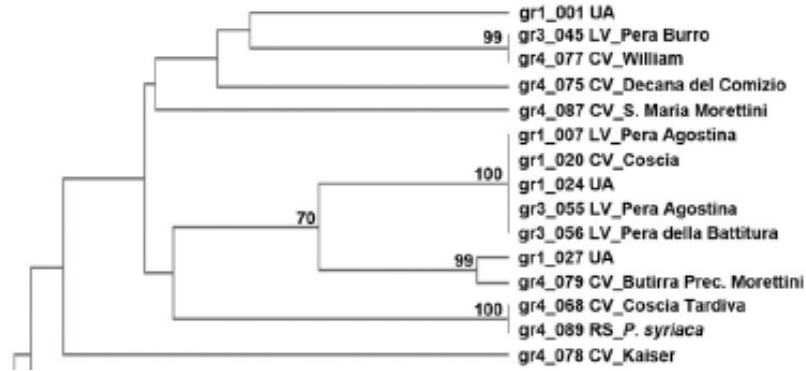
Pera Lardala



*Pyrus calleryana*

# Alcuni esempi specifici

Pera Agostina e Pera della Battitura sono putativi sinonimi di Pera Coscia

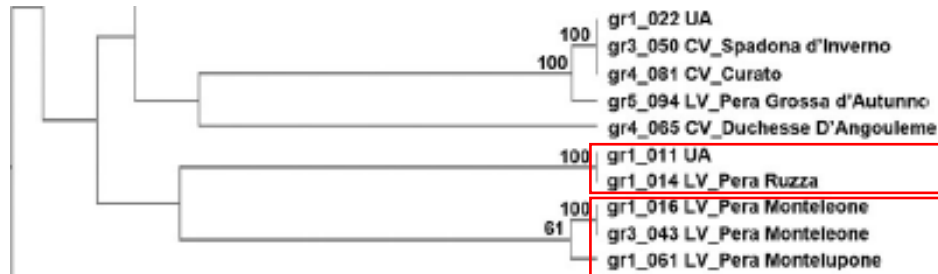


Pera Coscia



Pera Agostina

Questo potrebbe essere dovuto al fatto che nelle varie zone la varietà locale è stato dato un nome associato al periodo di maturazione della pera Coscia (agosto) o delle pratiche tipiche del momento come la battitura del grano.

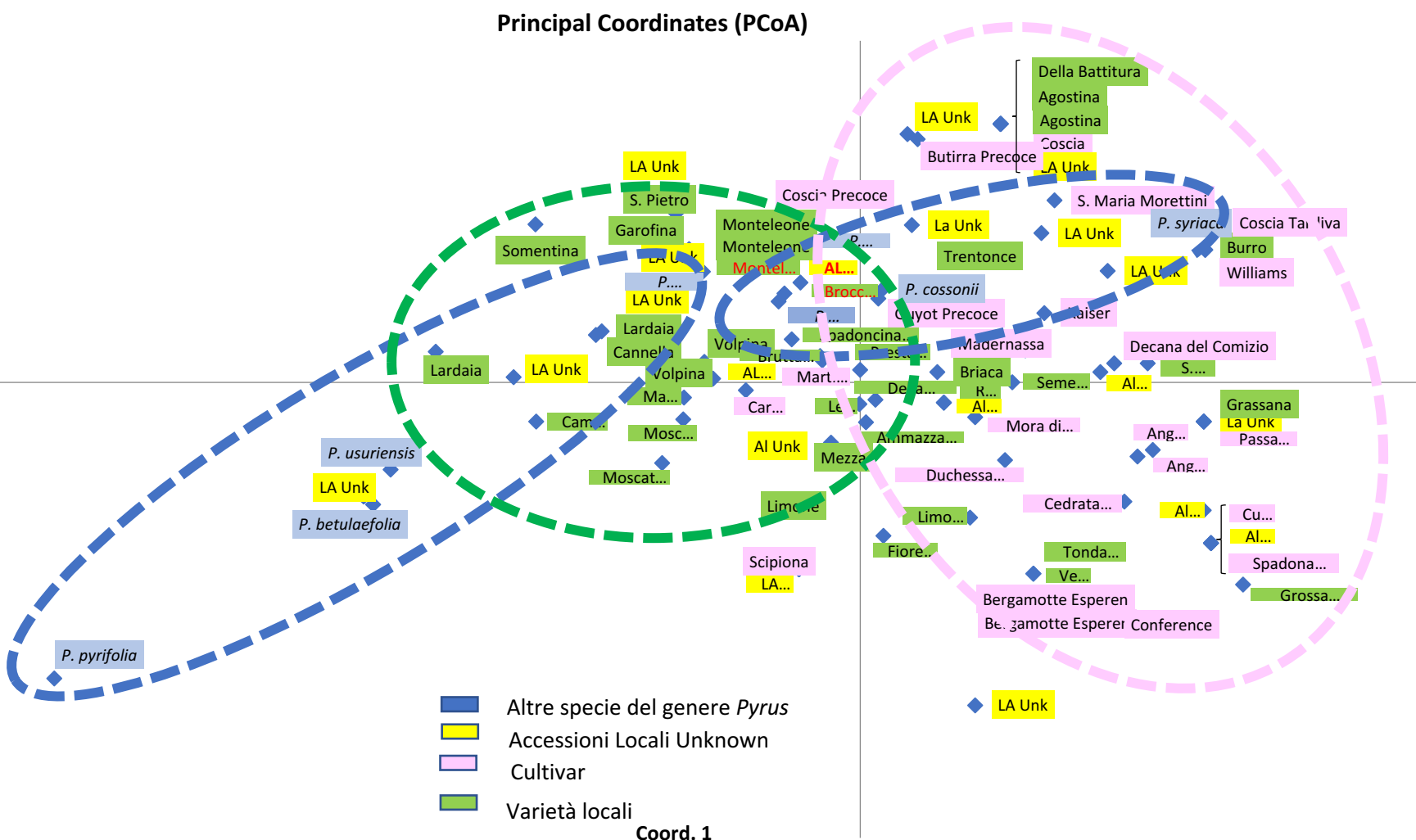


# Principal Coordinates (PCoA)

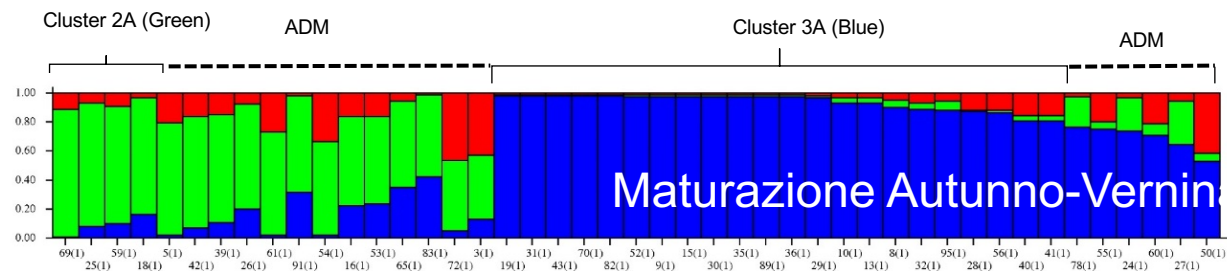
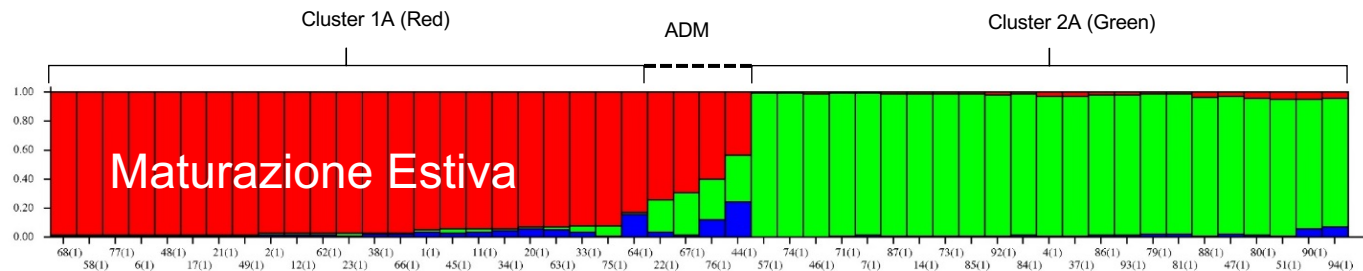
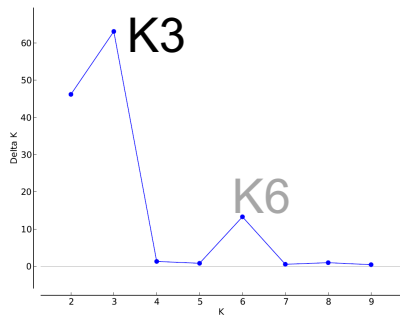
Coord. 2

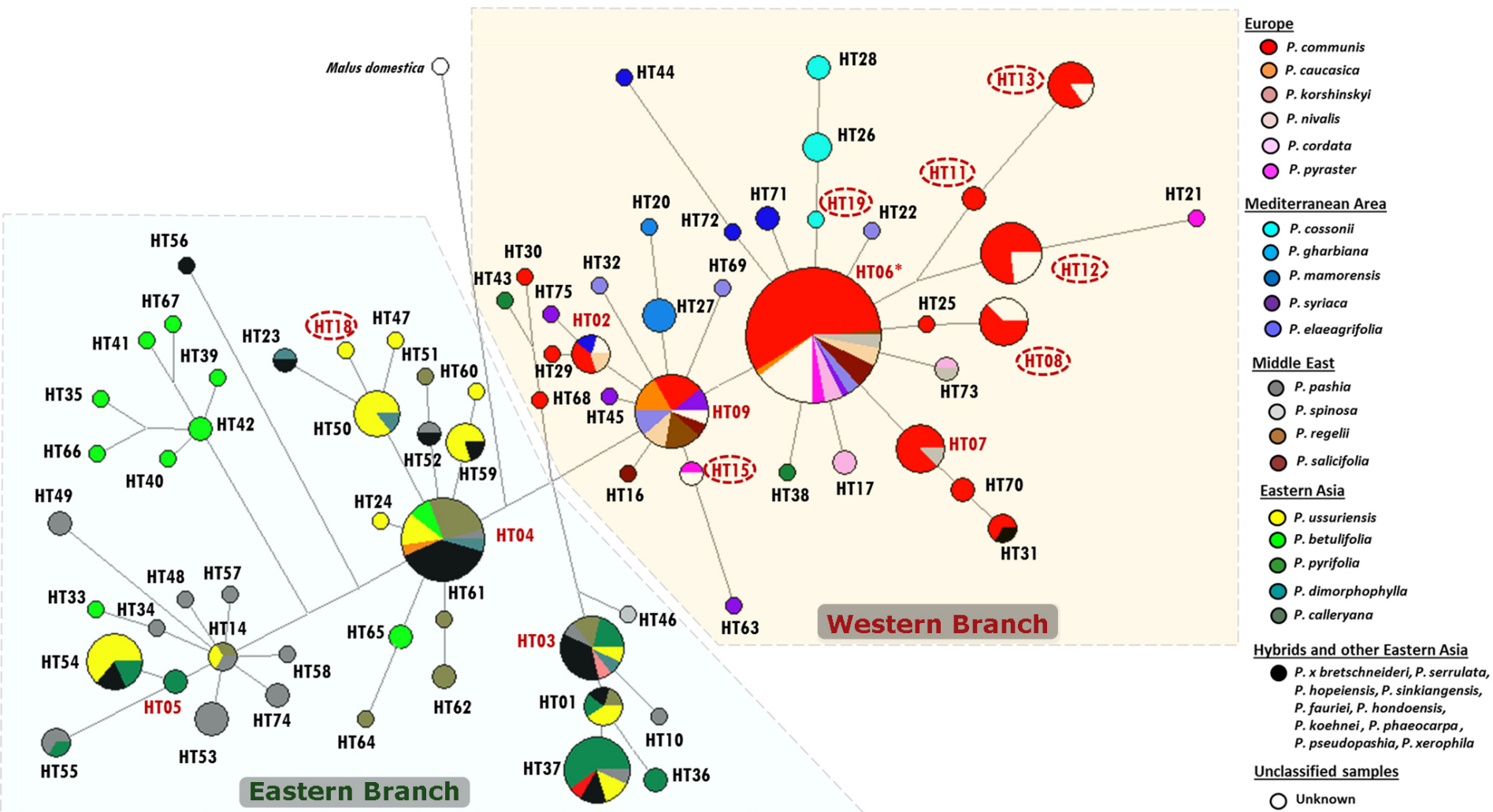
Coord. 1

- Altre specie del genere *Pyrus*
- Accessioni Locali Unknown
- Cultivar
- Varietà locali



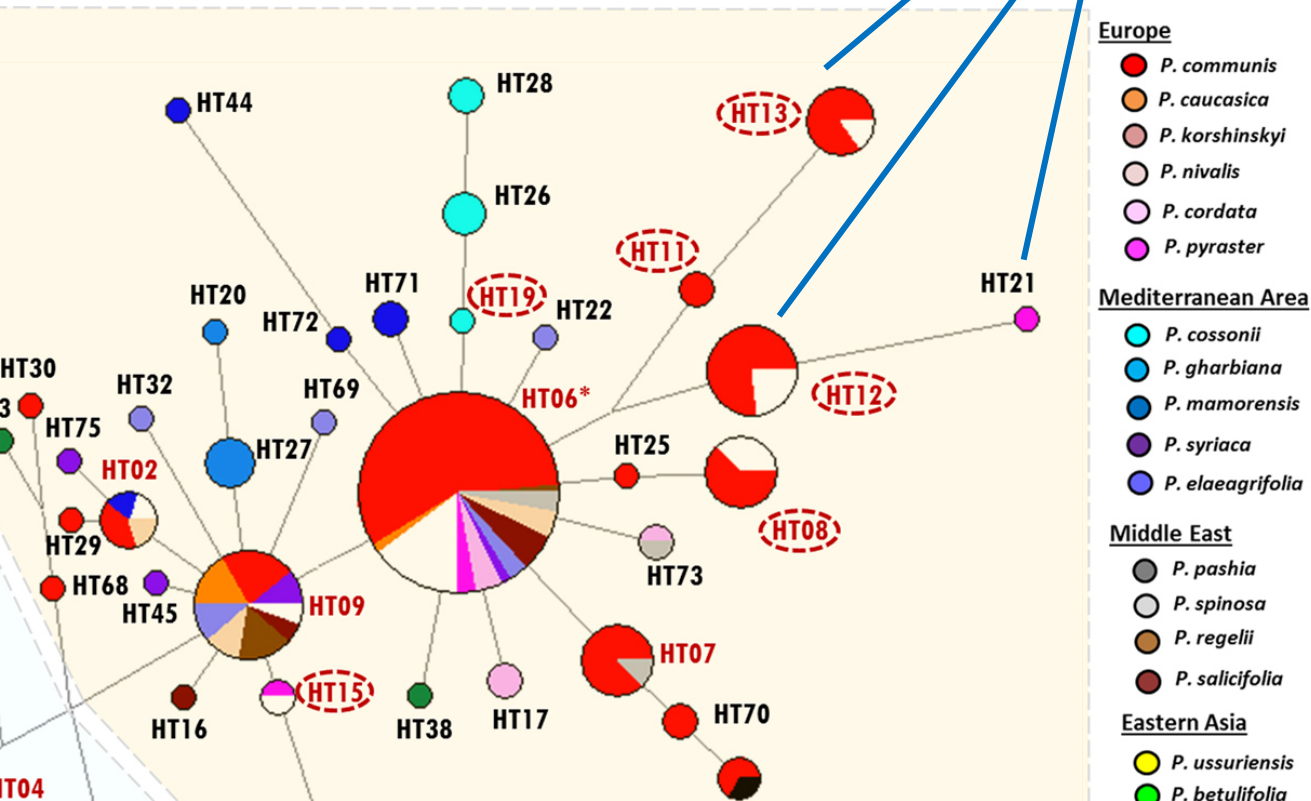
# Risultati Struttura Genetica





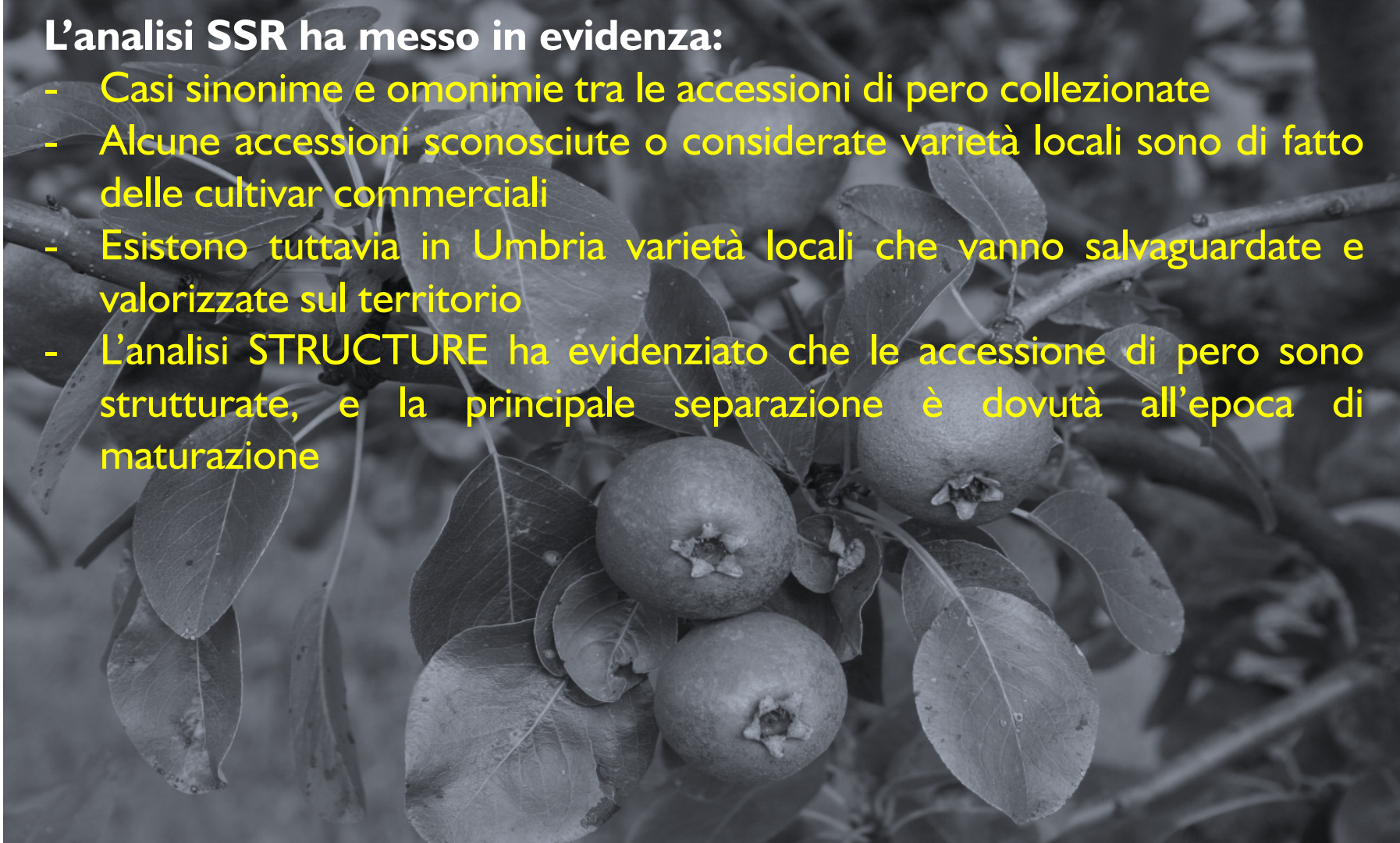


- nuove sottolinee all'interno del gruppo occidentale
- una linea tipicamente locale direttamente derivata dalla forma selvatica (*P. pyraeaster*)



## L'analisi SSR ha messo in evidenza:

- Casi sinonime e omonimie tra le accessioni di pero collezionate
- Alcune accessioni sconosciute o considerate varietà locali sono di fatto delle cultivar commerciali
- Esistono tuttavia in Umbria varietà locali che vanno salvaguardate e valorizzate sul territorio
- L'analisi STRUCTURE ha evidenziato che le accessione di pero sono strutturate, e la principale separazione è dovuta all'epoca di maturazione





Nicoletta Ferradini  
Irene Cardinali  
Hovirag Lancioni  
Isabella Dalla Ragione  
Mauro Gramaccia  
Luciano Concezzi  
Luigi Russi  
Fabio Veronesi  
Renzo Torricelli

***GRAZIE PER L'ATTENZIONE***