

WEBINAR VALFRUIT VALORIZATION of genetic resources to improve FRUIT crops

Valorizzazione delle risorse genetiche
per il miglioramento della resilienza
dei sistemi frutticoli

Martedì 28 ottobre
Ore 16:30–18:30



agritech

National Research Center for
Technology in Agriculture

1.

Antichi genotipi di melo e pero siciliani per affrontare le sfide climatiche

Annalisa Marchese *Professore associato*

Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Forestali – Università di Palermo

Protetto da copyright

WP1 - Caratterizzazione della diversità genetica e fenotipica in collezioni di materiali autoctoni

Task 1.1 Caratterizzazione morfologica e molecolare di accessioni siciliane di melo e pero di interesse per la rusticità, la resilienza agli stress abiotici/biotici, la conservabilità dei frutti e peculiari tratti qualitativi e organolettici dei frutti.

01. Contesto e problematica

Pool genici locali

La Sicilia è caratterizzata da un ricco patrimonio genetico di antiche varietà di melo e pero, molto diverse tra loro per forma, colore, pezzatura, sapore, epoca di maturazione, tolleranza agli stress biotici e biotici, rusticità.



Perdita di biodiversità

L'avvento dell'agricoltura intensiva e meccanizzata ha causato un irreversibile declino della frutticoltura tradizionale e la perdita di varietà locali.



Varietà sopravvissute

Si trovano in frutteti familiari, soprattutto negli areali montani.

**Ricco patrimonio
biologico di biodiversità
a forte rischio erosione**



Materiali e metodologie del progetto



Collezione del germoplasma

30 accessioni di melo e 70 varietà locali di pero

- Collezione della Cooperativa Petraviva (Petràlia Soprana);
- Collezioni del Dipartimento SAAF, aziende locali;
- Cultivar standard di riferimento per il confronto genetico.

Analisi molecolari avanzate

Estrazione del DNA genomico con metodo CTAB modificato e kit commerciali;

- Marcatori microsatelliti polimorfici fluorescenti;
- Marcatori SNP (Axiom® Apple480K SNP array).

Analisi carpologiche e chimiche

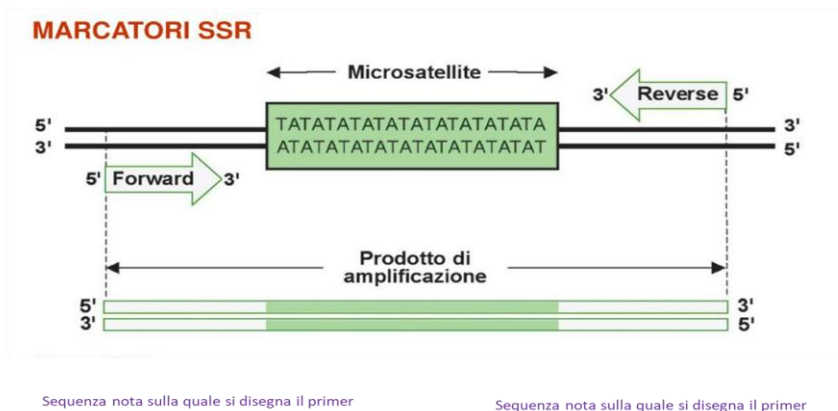
- Descrittori (UPOV, 2005);
- Contenuto totale di solidi solubili – TSSC; Acidità titolabile – TA; rapporto TSSC/TA e pH (in corso);



Osservazioni in campo di putativi tratti di resilienza agli stress biotici e abiotici

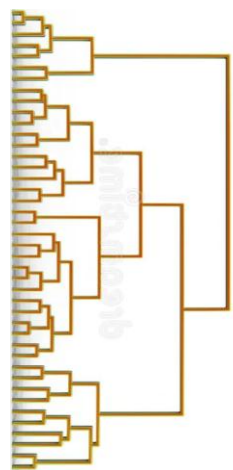
Analisi molecolari – 10 microsatelliti o Simple Sequence Repeats

MICROSATELLITI (*Simple Sequence Repeats* o **SSR**), sequenze ripetute di DNA non codificante molto corte (1-5 bp) in tandem.

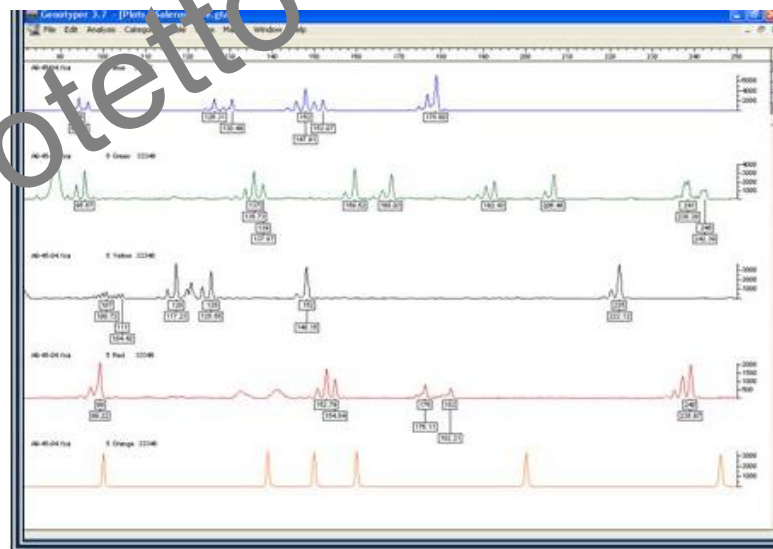


Estrazione del DNA genomico mediante il metodo Doyle & Doyle (1990) modificato

Amplificazione loci SSR



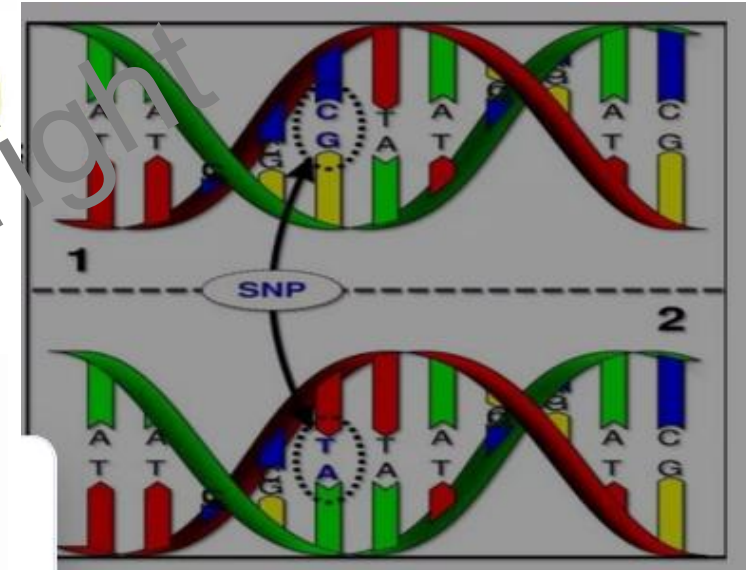
ANALISI DELLE RELAZIONI GENETICHE



Visualizzazione dei polimorfismi SSR

Elettroforesi capillare con sequenziatore automatico 'ABIprism'

A close-up, top-down view of a large pile of ripe apples. The apples are predominantly yellow with varying degrees of red blush, characteristic of the 'Golden Wonder' variety. They are densely packed, filling the entire frame, and show signs of being freshly harvested, with some stems and small leaves visible. The lighting is bright, highlighting the smooth texture and vibrant colors of the fruit.



- **Plink –PCA analisi**
- **R Studio – per visualizzazione**

Caratterizzazione morfologica



Melo - Cristallina



Melo - Supranisi



Melo - Aira



Melo - Sarvageddra



Pero – Facci russa



Pero – Jazzolo d'inverno



Pero - Cantaro



Pero – Settembrino

Caratterizzazione morfologica melo



Caratterizzazione morfologica pero



Melo

1. Forma del frutto
2. Altezza/larghezza
3. Rapporto medio tra cavità del peduncolo e cavità calicina del frutto
4. Variabilità della forma
5. Presenza di costolatura
6. Dimensione del frutto
7. Corona del frutto all'apice
8. Colore di fondo
9. Copertura del sovracoloro
10. Sovracoloro
11. Motivo del sovracoloro
12. Copertura generale della rugginosità
13. Rugginosità attorno alla cavità del peduncolo
14. Rugginosità attorno alla cavità calicina
15. Buccia cerosa
16. Apertura del calice
17. Lunghezza del peduncolo
18. Colore della polpa
19. Numero di semi

Pero

1. Profilo della base (estremità del peduncolo) del frutto
2. Posizione relativa del diametro massimo
3. Rapporto tra lunghezza del frutto e diametro massimo
4. Variabilità della forma
5. Variabilità della simmetria del frutto
6. Dimensione del frutto
7. Profondità della cavità del peduncolo del frutto
8. Spessore medio del peduncolo
9. Inserzione media del peduncolo rispetto all'asse del frutto
10. Colore di fondo
11. Copertura del sovracoloro
12. Sovracoloro
13. Motivo del sovracoloro
14. Copertura generale della rugginosità
15. Rugginosità attorno alla cavità del peduncolo
16. Rugginosità attorno alla cavità del calice
17. Apertura calice
18. Inserzione dei sepali alla loro base
19. Lunghezza del peduncolo
20. Colore della polpa
21. Numero di semi

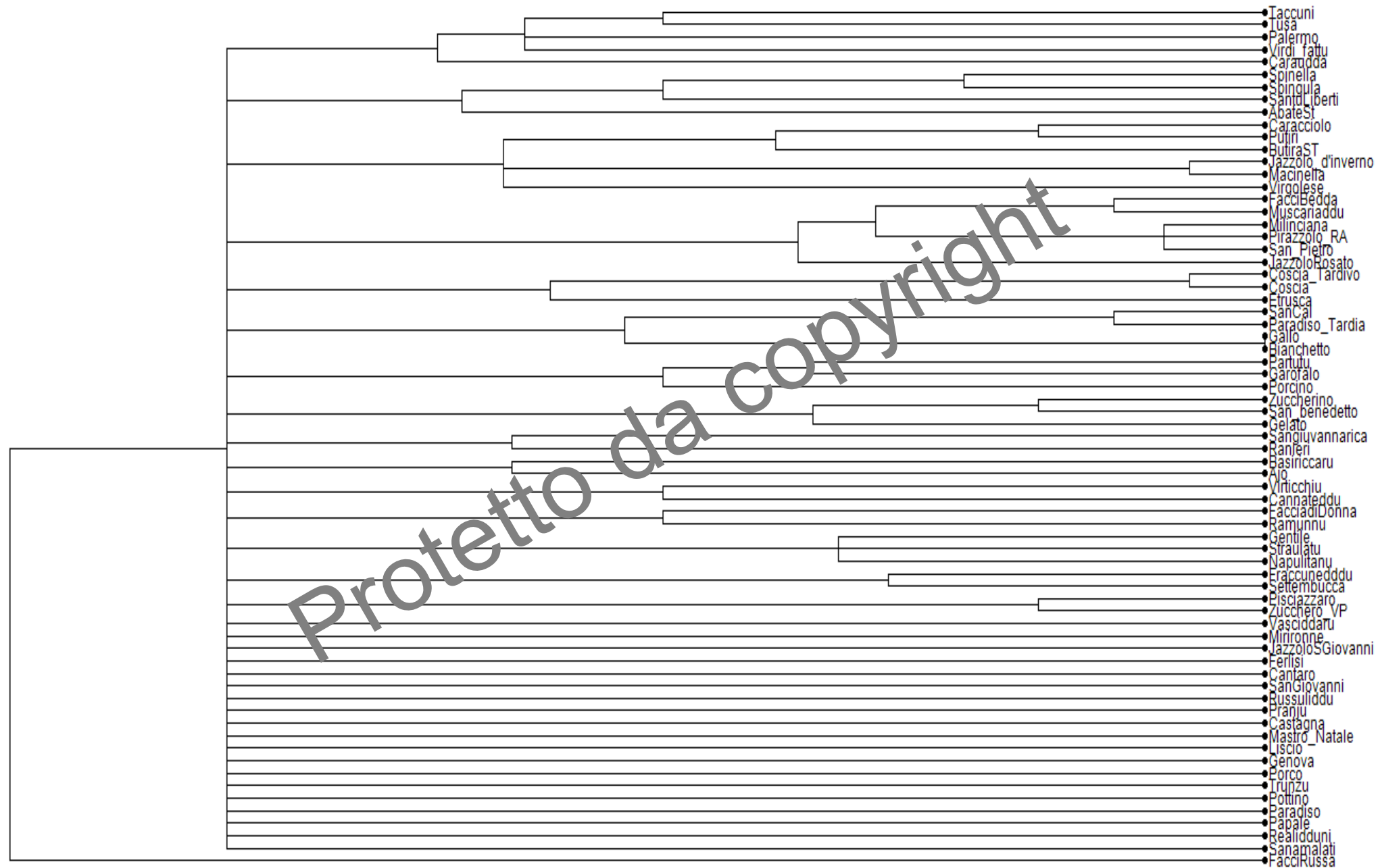
Risultati

Protetto da copyright

CLUSTER ANALISI – 11 SSR – Melo



CLUSTER ANALISI – 11 SSR – Pero



0 0.1

68 accessioni sono state discriminate con successo. 1 identità: Gallo/Bianchetto

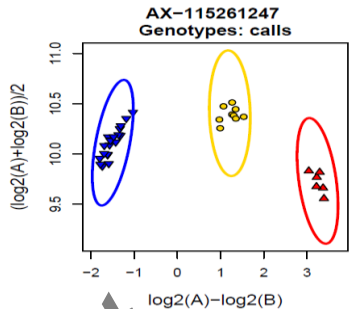
MELO

SNP ANALISI - QC CONTROLLO DI QUALITA' Summary (Filtration Step 1)

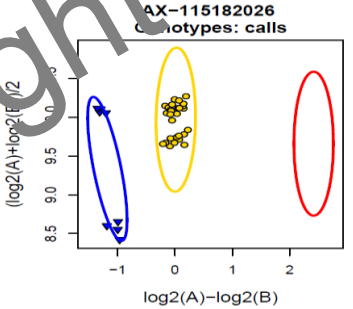
Particulars	# of markers	% of markers
PolyHighResolution	293,714	60.28%
NoMinorHom	130,788	26.84%
MonoHighResolution	10,532	2.16%
CallRateBelowThresho Id	14,311	2.94%
OffTargetVariant	7,957	1.63%
Other	29,947	6.15%
Total	487,249	100%
Total recommended	435,034	89.28%

PERO

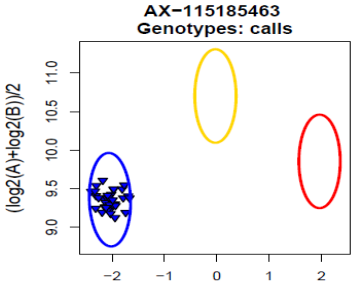
Particulars	# of markers	% of markers
PolyHighResolution	15,893	3.25
NoMinorHom	29,141	5.98
MonoHighResolution	255,250	52.39
CallRateBelowThresho Id	21,824	4.48
OffTargetVariant	18,209	3.74
Other	146,932	30.16
Total	487,249	100
Total recommended	300,284	61.63



PolyHighResolution



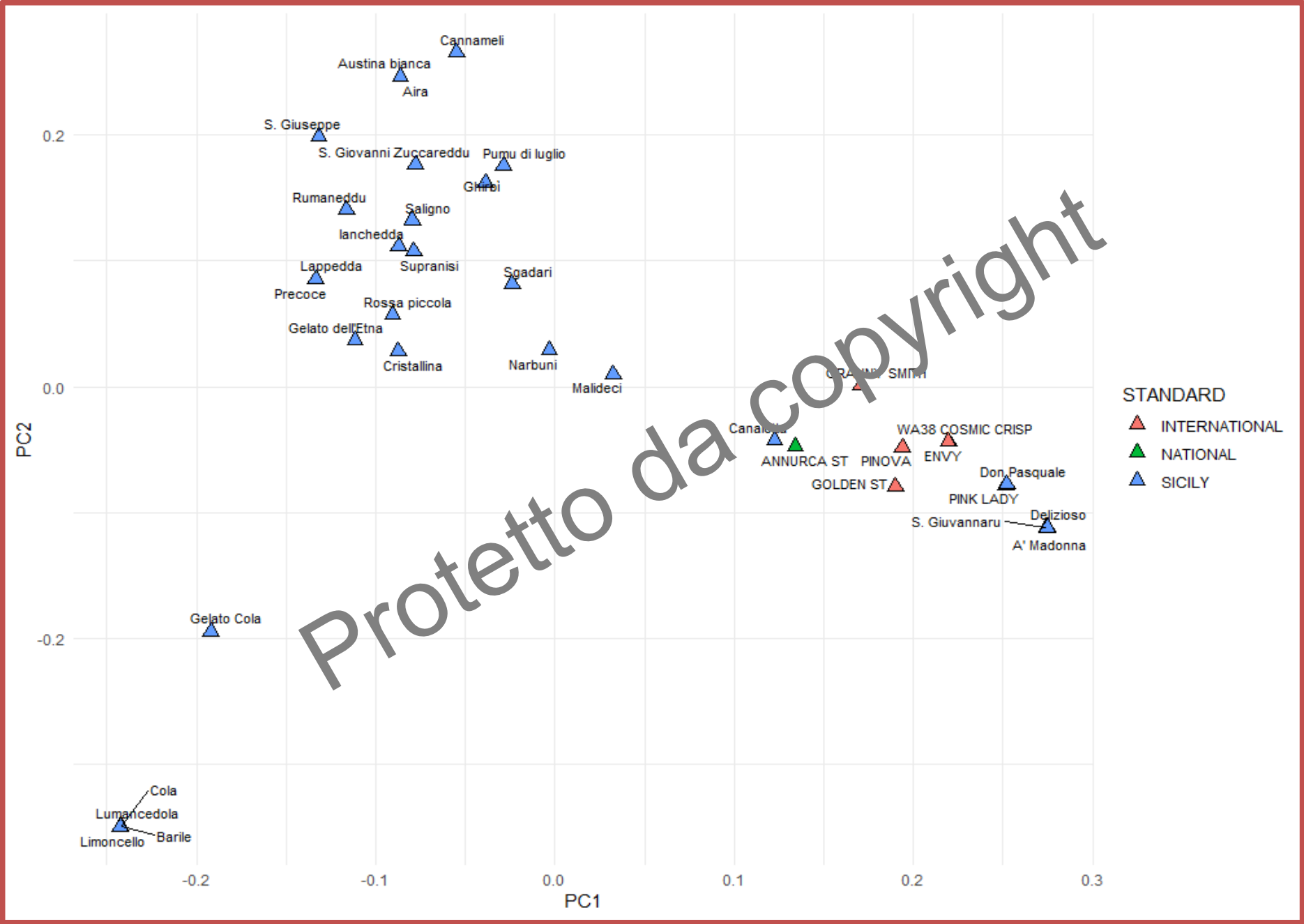
NoMinorHom



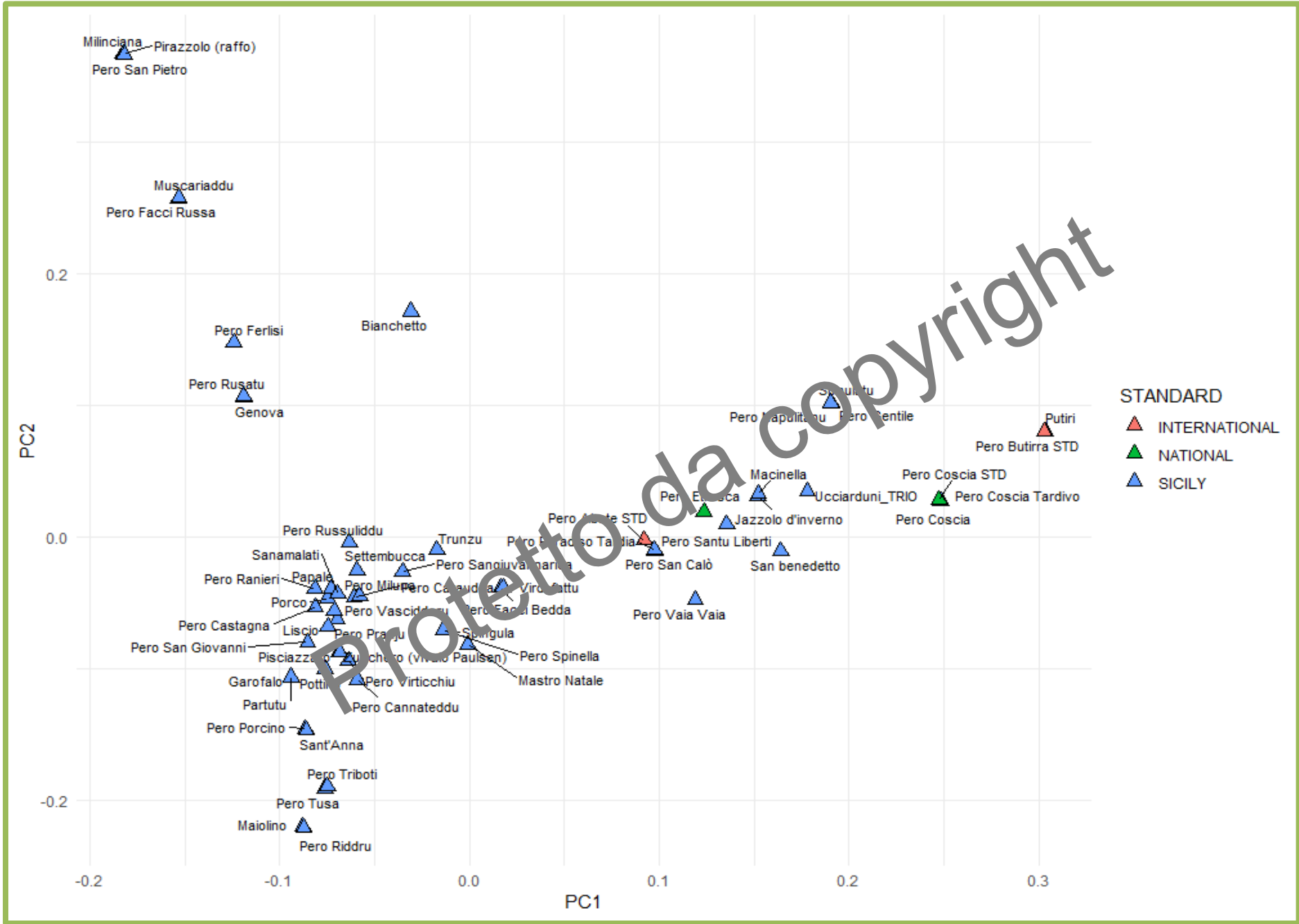
MonoHighResolution

Particulars	Overall project	Apple	Pear
Total number of samples	96	36	60
Passed samples	96	36	60
% Passed samples	100%	100%	100%
% Samples meeting concentration spec. passed	100%	100%	100%
Average Cluster Call Rate	99.85%	99.85%	99.85%
Sample Reproducibility	99.91%	99.97%	99.89%

PCA – MELO (Axiom®Apple480K SNP array)

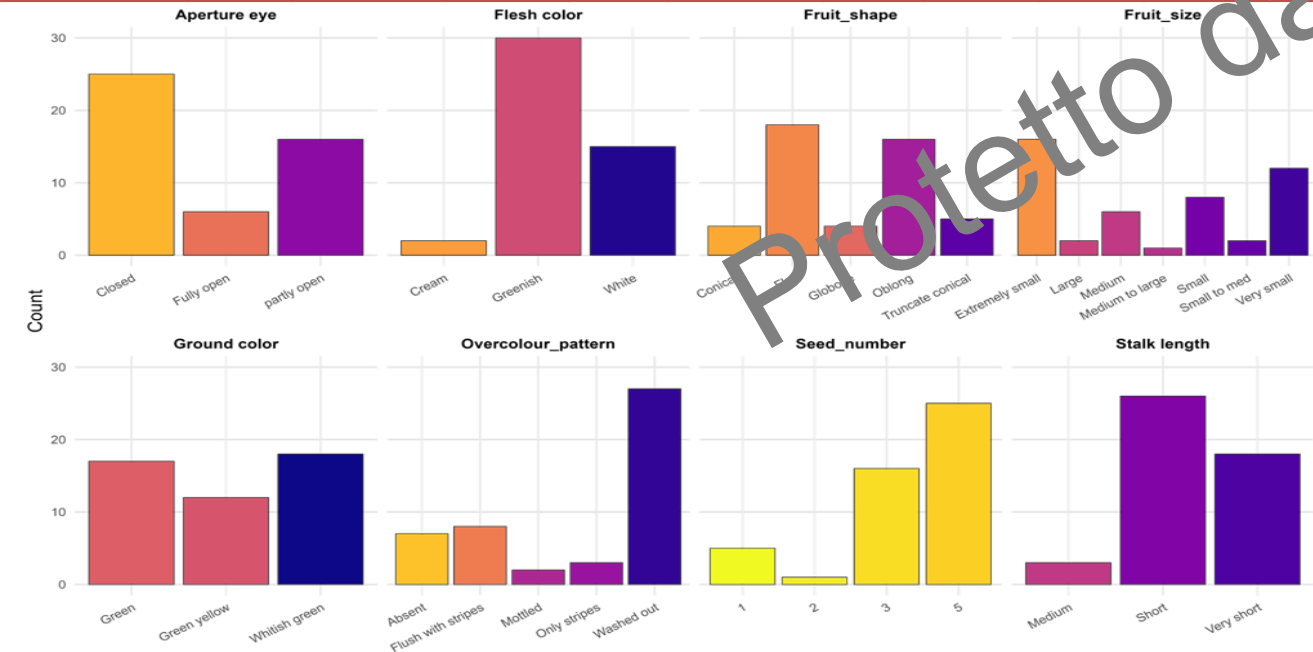


PCA –PERO (Axiom® Apple480K SNP array)



Diversità Morfologica Melo

Ecotype	Fruit shape	Presence of ribs	Fruit size	Fruit crowning	Over colour coverage	Over colour	Overcolor Pat	Russet	Russet (eye basin)	(waxy skin)	Aperture eye	Stalk length	Flesh colour	Seed number
GHIRBI	Flat	Very light	Extremely small	Weak	Absent	Absent	Absent	Very low	Very low	Strong	Closed	Medium	Cream	3
MELO CANNAMELI	Globose	Very light	Extremely small	Absent	Very low	Absent	Washed out	Very low	Absent	Medium	Closed	Very short	Greenish	1
MELO LIMONCELLO	Oblong	Absent	Very small	Absent	Absent	Absent	Absent	Low to medium	Low	Absent	Closed	Very short	Greenish	5
MELO SUPRANISI	Flat	Very light	Medium	Weak	Low to medium	Red	Flush with stripes	Low to medium	Absent	Medium	Closed	Medium	White	3
MELO NARBUNI	Oblong	Very light	Small	Medium	Low	Orange	Washed out	High	High	Medium	Closed	Short	White	5
MELO SARVAGGEDDA	Truncate conical	Very light	Extremely small	Weak	Medium	Pink	Washed out	Very high	Very low	Medium	Closed	Short	Greenish	5
MELO CRISTALLINA	Flat	Medium	Small	Weak	Low	Pink	Washed out	Very low	Absent	Strong	Fully open	Very short	Greenish	5
MELO SGADARI	Flat	Absent	Extremely small	Weak	High	dark red	Only stripes	High	Absent	Medium	partly open	Short	Greenish	5
MELO BARILI	Oblong	Very light	Extremely small	Weak	Low	Orange	Washed out	Very low	Absent	Medium	partly open	Short	White	3
MELO SALIGNO	Conical	Very light	Very small	Weak	Low	Pink	Washed out	High	Very low	Strong	partly open	Short	Greenish	3



Pezzature medio grandi
Cristallina
Narbuni
Supranisi

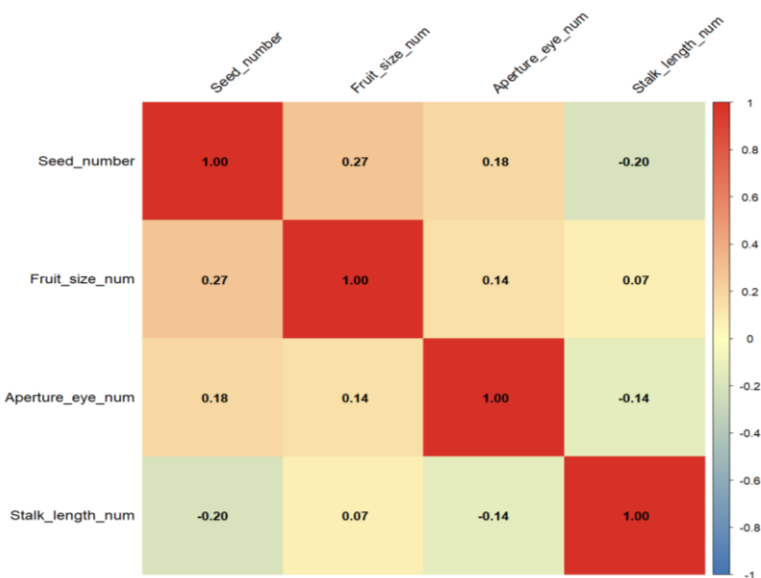
Sapore
Gelato

Forme Diversificate

Da globose (Melo Cannameli) a oblunghe (Melo Limoncello), fino alle forme tronco-coniche del Melo Sarvagedda, ogni ecotipo mostra adattamenti unici.

Colorazioni Variegate

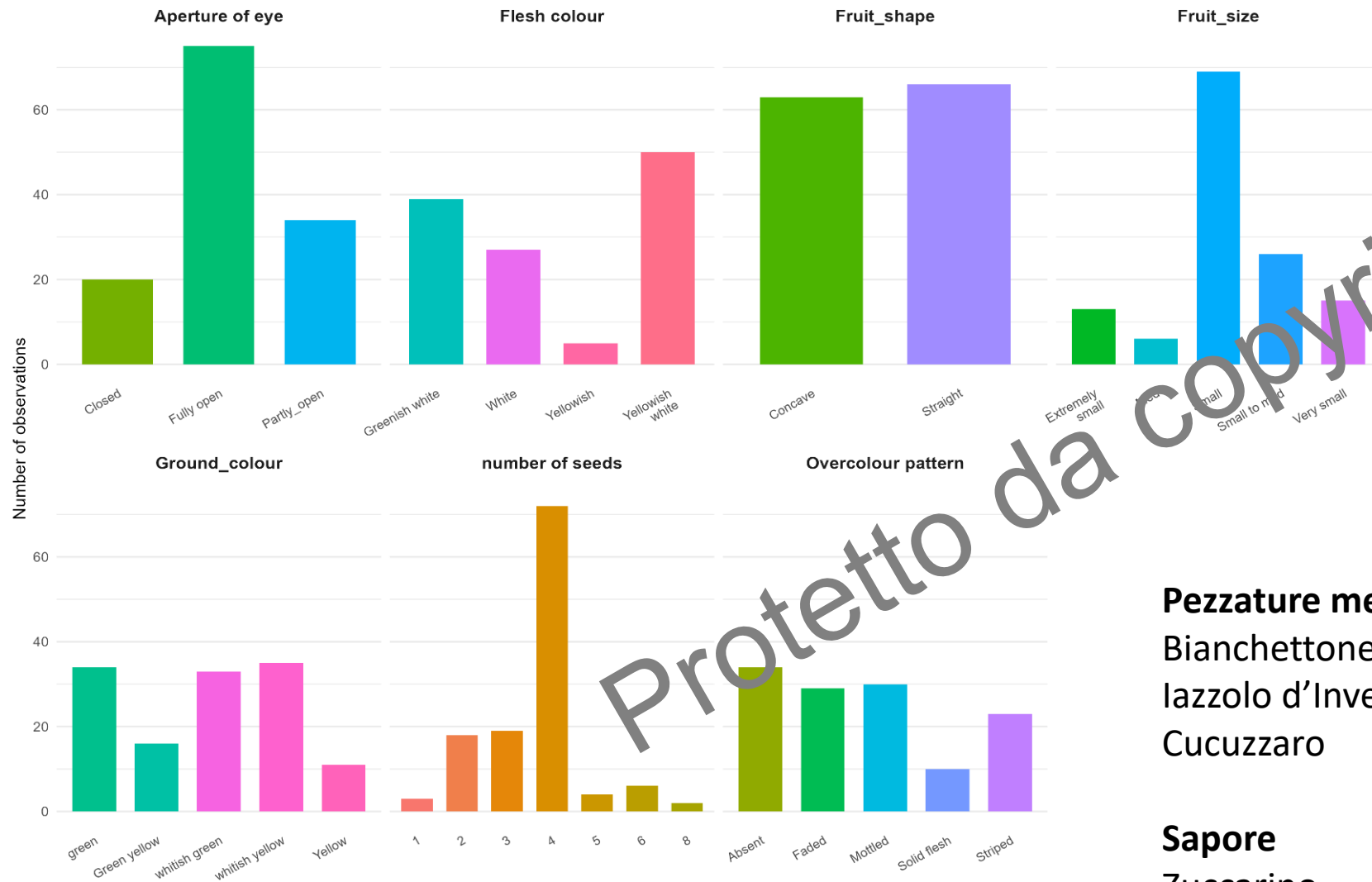
Spettro cromatico che va dal verde-rosa del Melo Cristallina al rosso scuro del Melo Sgadari, con rugginosità caratteristiche per ogni varietà.



Diversità Morfologica Pero

Ecotype	Fruit_shape	Height/Width	Fruit variability	Fruit_size	Stalk_thickness	Ground_colour	Overcolour	Overcolour pattern	Russett eye basin	Aperture of eye	Stalk lenght	Flesh colour	number of seeds
CASTAGNA	Concave	1	Slightly variable shape	Small to med	Medium	Yellow	Pink	Solid flesh	Very low	Closed	Very long	Yellowish white	4
COSCIA TARDIVA	Straight	3	Regular shape	Small	Medium	whitish yellow	Pink	Faded	Absent	Fully open	Short	Yellowish white	3
FACCI RUSSA	Straight	3	Slightly variable shape	Small	Thick	green	Orange	Faded	Low to medium	Fully open	Medium	Greenish white	6
GAROFALO	Concave	2	Regular shape	Very small	Thick	whitish green	Orange	Striped	Absent	Partly_open	Very short	White	2
JAZZOLO D'INVERNO	Straight	2	Regular shape	Small	Medium	green	Absent	Absent	Absent	Fully open	Short	White	4
PERO COSCIA	Concave	3	Regular shape	Small to med	Thick	Yellow	Pink	Striped	Absent	Fully open	Medium	Yellowish white	4
PERO CUCUZZARO	Concave	2	Highly variable shape	Small	Medium	green	Absent	Absent	Absent	Fully open	Short	White	4
PERO PARADISO (LOCATI)	Straight	1	Regular shape	Small	Medium	whitish yellow	Red	Striped	Absent	Fully open	Very long	Yellowish white	4
PERO RUSATO	Concave	2	Regular shape	Small	Thin	Yellow	Orange	Striped	Absent	Fully open	Short	Greenish white	1
PERO SETTEMBRINO	Straight	1	Regular shape	Small	Medium	whitish yellow	Orange	Mottled	Very low	Partly_open	Medium	Yellowish white	4
PERO STRAULATO	Straight	1	Slightly variable shape	Small to med	Thin	whitish yellow	Orange	Absent	Low	Fully open	Long	White	6
PERO TOTO	Concave	2	Regular shape	Very small	Medium	green	Dark red	Faded	Very low	Fully open	Long	Yellowish white	4
PERO VIRGULUSU	Concave	1	Regular shape	Small	Medium	whitish green	Absent	Absent	Low	Partly_open	Short	Greenish white	4
PIRAZZOLO SAN GIOVANNI	Straight	3	Highly variable shape	Extremely small	Thin	whitish yellow	Absent	Absent	Absent	Fully open	Medium	Greenish white	2
PRANJU (LUPI)	Concave	1	Regular shape	Extremely small	Medium	green	Absent	Absent	Absent	Fully open	Short		4
PUTIRI	Straight	1	Slightly variable shape	Very small	Medium	whitish green	Pink	Faded	Very low	Closed	Medium	White	4
SAN BINIDITTU (C.DA RAFFO)	Concave	1	Slightly variable shape	Extremely small	Medium	whitish green	Red	Mottled	Absent	Fully open	Short	Yellowish white	4
SAN BINIDITTU GEBIA	Straight	1	Slightly variable shape	Small	Medium	Green yellow	Pink	Striped	Absent	Fully open	Very short	Greenish white	3
SANTU LIBERTI	Concave	2	Regular shape	Small to med	Medium	whitish green	Orange	Mottled	Very low	Partly_open	Very short		
UCCIARDONE	Concave	1	Slightly variable shape	Small to med	Medium	green	Pink	Faded	Medium	Fully open	Medium	Greenish white	4
PERO PALERMO	Concave	1	Regular shape	Small	Thin	Green yellow	Absent	Absent	Absent	Partly_open	Long	Yellowish	4
PERO PIDICUDDARU	Concave	2	Slightly variable shape	Small	Thin	whitish green	Dark red	Mottled	Absent	Closed	Very long	Yellowish white	4
RUSSULIDDU BLUFI	Straight	1	Slightly variable shape	Small	Medium	whitish green	red	Solid flesh	Absent	Fully open	Medium	Greenish white	4

Diversità Morfologica Pero



Pezzature medio grandi

Bianchettone

Iazzolo d'Inverno

Cucuzzaro

Sapore

Zuccarino

San Benedetto

Faccia di donna (resistenza manipolazioni)



Colorazioni Variegate

Colori di fondo dal verde (Facci Russa, Jazzolo) al giallo biancastro (Coscia Tardiva, Paradiso), con sovracolori rosa, arancione e rosso in pattern striati, sfumati o puntinati.

Classificazione delle Varietà di Melo rispetto alla suscettibilità in campo alle principali fitopatie (oidio e ticchiolatura)

- **Grado 0:** Nessun segno visibile
- **Grado 1:** Scarsa (20% della chioma)
- **Grado 2:** Moderata (40% della chioma)
- **Grado 3:** Elevata (60% della chioma)



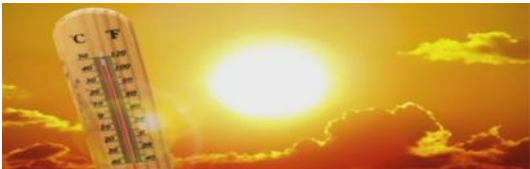
Stress abiotici (idrico e temperature estreme)

Aira, Cannameli, Narbuni, Barli, Sgadari, San Giovanni Zuccareddu, Lappedda

Grado 0	Grado 1	Grado 2
AIRA	CRISTALLINA	DELIZIOSO
A MADONNA	DON PASQUALE	RUMANEDDU
AUSTINA BIANCA	GELATO COLA	
BARILE	GELATO DELL'ETNA	
CANNAMELI	GHIRBI	
COLA	IANCHEDDA	
LAPPEDDA	LIMONCELLO	
LUMANCEDOLA	MALIDECI	
NARBUNI	PRECOCE	
PUMU DI LUGLIO	ROSSA PICCOLA	
SALIGNO	SAN GIUSEPPE	
SAN GIOVANNI ZUCCAREDDU	SAN GIUVANNARU	
SGADARI	SUPRANISI	

Classificazione delle Varietà di Pero rispetto alla suscettibilità alle principali fitopatie (ticchiolatura)

- **Grado 0:** Nessun segno visibile
- **Grado 1:** Scarsa (20% della chioma)
- **Grado 2:** Moderata (40% della chioma)
- **Grado 3:** Elevata (60% della chioma)



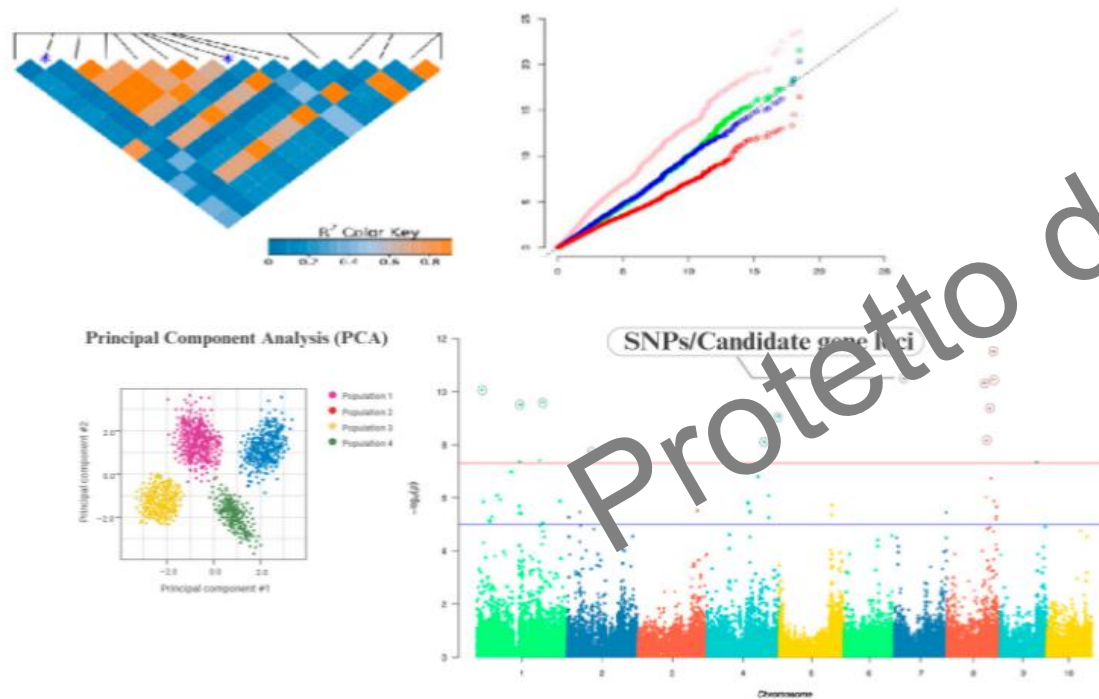
Stress abiotici (idrico e colpi di calore)

Paradiso, San Calò, Jazzolo d'inverno, Sana Malatu, Settembucca, Faccia di donna

Grado di Suscettibilità	Varietà
Grado 0	Faccia di donna, Napulitanu, Palermo, Paradiso tardia, San Calò, Cannateddu, San Pietro, Tusa
Grado 1	Bianchetto, Castagna, Ceraulo, Cucuzzazru, Facci russa, Garofalo, Gelato, Gentile, Genuva, Jazzolo biancu, Jazzolo d'inverno, Liscio, Macinella, Maiolino, Maiolino Villa sgadari, Mastru Natali, Muscareddu, Papale, Paradiso, Partutu, Pottino, Putiri, Ramunnu, Riddru, Rusatu, Russuliddu Blufi, Sana Malatu, Santu Liberti, Settembucca, Trunzu, Ucciardone, Virdi fattu, Zuccherinu
Grado 2	Caracciolo, Coscia tardivo, Facci bedda, Gallo, Milinciana, Pisciazzaru, Porco, Realidduni, Sant'Anna, Spingula, Totò, Virgulusu

Step successivi... GENOME WIDE ASSOCIATION ANALYSIS (GWAS)

Identificare SNPs significativi associati al fenotipo attraverso analisi genome-wide con controllo popolazione



Tratta da <https://doi.org/10.3390/ijms25031918>

Validazione Funzionale

Conferma sperimentale attraverso analisi metaboliche, CRISPR e tecniche di silenziamento genico

Implicazioni per la resilienza climatica

Importanza per l'adattamento climatico

Le varietà antiche siciliane rappresentano una risorsa genetica fondamentale per sviluppare cultivar adatte alle sfide del cambiamento climatico globale e agli stress ambientali crescenti.

Tratti di resilienza

- Tolleranza temperature estreme e stress idrico
- Resistenza a fitiopatie

Tecnologie innovative

- Analisi SNP con Axiom® Apple480K array
- Programmi di conservazione avanzati
- GWAS e Nuove tecnologie di breeding (NBT)

Conservazione

Preservazione della diversità genetica per le generazioni future.

Miglioramento genetico

Sviluppo di nuove varietà resistenti e con tratti qualitative distintivi.



Il Team

Tiziano Caruso
Francesco Paolo Marra
Vittorio Farina
Giuseppe Sortino
Alessio Allegra
Floriana Bonanno
Aparna S Balan
Antonino Ioppolo
Rossella Puleo
Giacomo Belvisi
Irene Granata
Mark Massaad
Ilenia Tinebra
Roberta Passafiume
Serena Bellitti
Giulia Salsi
Matteo Mezzano
Gaetano La Placa



A still life photograph featuring a variety of apples and green leaves scattered across a rustic wooden plank surface. The apples range in color from bright red to pale yellow-green. A diagonal watermark with the text "Protetto da copyright" is overlaid across the center of the image. The text "Grazie per l'attenzione" is prominently displayed in white, bold, sans-serif font in the upper right quadrant.

Grazie per l'attenzione