

Recupero, conservazione, caratterizzazione varietale e valutazione sanitaria del germoplasma di pomacee in Puglia

MONTILON Vito^{1*}, BOTTALICO Giovanna¹, MONTEMURRO Cinzia¹, VENERITO P.², SILLETTI Maria Rosaria², SAPONARI Antonella², PALMISANO Francesco², SAVINO Vito Nicola^{1,2}

¹ Università degli Studi di Bari A. Moro, Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti (S.S.P.A.), Via G. Amendola 165/a-70126 Bari.

² Centro di Ricerca, Sperimentazione e Formazione in Agricoltura "Basile Caramia", Via Cisternino 2817/0010 Locorotondo, Bari.

* Autore corrispondente: vito.montilon@uniba.it

Keywords: pomacee, caratterizzazione, germoplasma, risanamento

Introduzione

Le attività di recupero, conservazione, caratterizzazione varietale e valutazione sanitaria hanno riguardato biotipi autoctoni pugliesi di pomacee, comprendenti melo, pero e cotogno, e sono state svolte per la salvaguardia e la valorizzazione delle risorse genetiche autoctone di fruttiferi nell'ambito del progetto "Recupero del Germoplasma Frutticolo Pugliese" (Re.Ge.Fru.P.) finanziato dalla Regione Puglia con il Programma di Sviluppo Rurale Fears 2007-2013 Reg. (CE) 1968/2005 Misura 214 AZIONE 4 Sub azione a) e successivo trascinamento. La presenza del Melo in Puglia è concentrata soprattutto in alcune zone particolarmente vocate come la zona dei Monti Dauni, tuttavia ci sono delle varietà che sono presenti in tutta la Regione come la Mela di San Giovanni detta anche Maggiatica, Sant'Antonio o Grasta, che presenta la particolarità di maturare agli inizi dell'estate. Il patrimonio varietale è molto vario e ricco per la presenza di elevata variabilità clonale, come nella varietà Limoncella con diverse forme dei frutti. La domesticazione delle forme selvatiche del Pero, tradizionalmente innestato sul Perastro, ha portato alla formazione di numerosissime varietà oggi presenti in Puglia ed a variabilità intravarietale, soprattutto in alcune cultivar molto diffuse e antiche tra cui il Pero Rosso, la Recchia Falsa, il Terlizze, e il pero Cannella.

Materiali e metodi

Conservazione

Le accessioni recuperate sono state poste in conservazione presso i campi collezione *ex situ* del Centro di Ricerca, Sperimentazione e Formazione in Agricoltura "Basile Caramia" di Locorotondo (BA).

Caratterizzazione pomologica e molecolare

Sulle diverse accessioni sono state eseguite osservazioni per la descrizione dei caratteri pomologici e produttivi, e dei parametri qualitativi dei frutti al fine di acquisire tutte le informazioni bio-morfologiche necessarie alla compilazione delle schede pomologiche per ciascuna delle varietà autoctone recuperate sul territorio regionale (Fig.1).



Fig. 1: Piante in campo nel sito di rilevamento di alcune accessioni di melo (in alto) e di pero (in basso) recuperate nel corso del progetto.

Parallelamente, sono stati eseguiti prelievi di campioni per analisi di caratterizzazione molecolare attraverso la rilevazione delle differenze nel numero delle ripetizioni delle brevi sequenze di DNA che costituiscono i microsatelliti (SSR). I frammenti di DNA corrispondenti a tali sequenze vengono amplificati e separati mediante un sequenziatore capillare per poi essere visualizzati sotto forma di picchi in un elettroferogramma.

Accertamenti sanitari

Al fine di verificare lo stato fitosanitario minimo in accordo alla legislazione vigente (CAC, DM 14/4/1997), tutte le piante sono state sottoposte ad accertamenti sanitari mediante saggi diagnostici. Gli accertamenti sanitari sono stati eseguiti su 188 accessioni di pero, 27 di melo, 9 di cotogno ed hanno riguardato i virus: Apple mosaic Virus (ApMV), Apple chlorotic leaf spot virus (ACLS), Apple stem grooving Virus (ASGV) e batteri da quarantena (*Erwinia amylovora*) mediante tecniche sierologiche: DAS-ELISA (double-antibody sandwich enzyme linked immunosorbent assay) per ACLSV, ASGV ed *Erwinia amylovora* e la DAS-ELISA (Double antibody sandwich indirect ELISA) per ApMV.

MELO				PERO			
NOME ACCESSIONE	COMUNE	NOME ACCESSIONE	COMUNE	NOME ACCESSIONE	COMUNE	NOME ACCESSIONE	COMUNE
DI ACCADIA	ACCADIA	GAETANELLA	SERRACAPRIOLA	INVERNALE ACCADIA	ACCADIA	ROSSO DI SETTEMBRE	MARITIMA FRANCA
GIALLO DI BICCARI	BICCARI	VETRO	SERRACAPRIOLA	REGINA	ACQUIAVIVA	AGOSTINA	MOTTOLA
SAN GIOVANNI	CEGLIE MESSAPICA	DI VOLTURINO	VOLTURINO	BIANCOLELLA	ANDRIA	S. GIOVANNI BOSCO	NOCI
ROSSA ESTIVA	LOCOROTONDO	ROSA	VICO DEL GARGANO	CAROPPO	CEGLIE MESSAPICA	SAN BENEDETTO	OSTUNI
GELATO	MOTTA MONTECORVINO	SERGENTE	PANFI	CICC ANTONIO	CHIEUTI	RECCHIA FALSA	CONVERSANO
LIMONCELLA TONDA	ORSARA	ROSSO	POLIGNANO	IVROS	LOCOROTONDO	INVERNALE ORSARA	ORSARA
LIMONCELLA ROSA	ORSARA	DECO	VICO DEL GARGANO	PETRUCCIA	SALUTONE	CARMOSINA	PUTIGNANO
MELONCELLA	ORSARA	GRASTA	LOCOROTONDO	ORTO	LECCE	SCALOTI	SAN DONACI
GELATA	PANNI	CHIABELLA	ORSARA	PUREDDO	MONTESANTANGELO	GELATO	TRICARICO
RUSI	SERRACAPRIOLA	DELL'ERBA	CASTELLANA GROTTE	GIATRUOLO	BICCARI	AMBROSINA	BISCEGLIE
DI MAGGIO	VICO DEL GARGANO	CISTERNINO	CISTERNINO	PERO GIALLO	CASSANO	MIVA	GALLIPOLI
GIARDINA	BICCARI	APFA	ORSARA	MUSCIONE	CASTELLANA GROTTE	CLARICO	LOCOROTONDO
SAN NICOLA	SELVA VALFOTORE	SPASATO	CEGLIE MESSAPICA	PERO DI MATTINARA	MATTINARA	NENO	ORSARA
GAETANELLA SCACCHI	SERRACAPRIOLA	SANT'ANTONIO	ORSARA	PURDINE	OSTUNI	TERLIZZESE	SANMICHELE
AGOSTINELLA	ORSARA	ROSSA	ORSARA	CALAPROSCIONE	PUTIGNANO	SAN PIETRO	SAVA
CHIERI	PUTIGNANO	MUSO DI CUCCIO	ORSARA	GIUGNOCHIERI	PUTIGNANO	RHUSKA	TURI

Fig. 2: Alcune delle accessioni di melo e di pero e relativo sito di ritrovamento, che sono state recuperate nel corso del progetto.

Risanamento

Le accessioni considerate di elevato pregio per un potenziale interesse commerciale e risultate positive ai saggi diagnostici, sono state sottoposte al risanamento. Il risanamento è avvenuto mediante tecniche ormai consolidate comprendenti la coltura *in vitro* di apici meristemati e la termoterapia, che, in base al tipo di agenti coinvolti nell'infezione sono state eventualmente abbinate tra loro. La termoterapia è stata effettuata su piante *in vivo* o *in vitro*. Le piante sono state esposte a temperature di 36-38°C per un periodo di tempo di 2-4 mesi, durante il quale si è proceduto al prelievo degli apici vegetativi che sono stati in parte iniettati e moltiplicati *in vitro*, o direttamente microinnestati su portinnesti sani allevati *in vivo*. Un'altra tecnica utilizzata è la coltura *in vitro* di apici meristemati prelevando apici di 0,4-0,6 mm che sono stati successivamente rigenerati *in vitro*.

Risultati e conclusioni

Durante il lavoro di ricerca del germoplasma sono state recuperate 37 accessioni di Melo, 9 di cotogno ed oltre 200 diverse accessioni di Pero consociate con diversi nomi nelle diverse zone (Fig.2). Per tutte le varietà recuperate sono state redatte le schede pomologiche. La caratterizzazione molecolare è stata eseguita su 25 campioni di melo utilizzando 12 marcatori SSR consigliati dall'ECPGR, ottenendo 123 alleli differenti e su 114 campioni di pero utilizzando 12 marcatori SSR ottenendo 151 alleli differenti (Fig.3). Gli accertamenti fitosanitari hanno permesso di escludere la presenza di patogeni da quarantena, ma allo stesso tempo di rilevare un'elevata incidenza di infezioni virali nelle diverse specie e accessioni di pomacee analizzate (Fig.4). Inoltre, sono state risanate 21 accessioni di pero, 2 di melo, ed 1 di cotogno (Fig.5). Le piante costituite (fonti primarie) sono in conservazione in numero di due repliche in serre a rete a prova di insetto in condizioni tali da garantire lo stato sanitario migliorato che viene periodicamente verificato mediante saggi diagnostici in diversi periodi vegetativi.

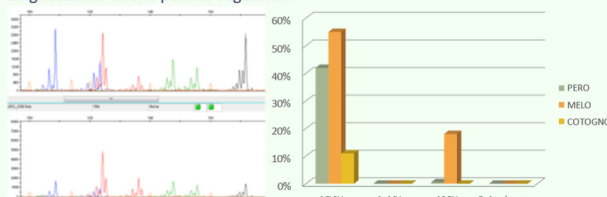


Fig. 3: Elettroferogrammi uguali dei campioni «Vernino Volturino» e «Citrangolo»

Fig. 4: Percentuale di infezioni dei diversi virus nelle diverse specie di pomacee.

MELO	MELO DI S. GIOVANNI MELA GHIACCIATA	AGOSTINA CAMPANELLA AMBROSINA CILARDI VERDE O CASALE ROSSO ANGENIO CICC E ANTONIO PERA A SOLE PERA A VETRO BUON CAMMINO TANZ CARMOSINA SAN COSIMO PERA REGINA
COTOGNO	MOLLESCA	
PERO	PERA CAROPP PERA SAN GIOVANNI PALAGOGNA ROSSO BAMBINO TERLIZZESE FAVARSA CANNELLA MOLA	

Fig. 5: Elenco delle accessioni risanate delle diverse specie di pomacee