



Accademia Italiana della Vite e del Vino

CRA

CONSIGLIO PER LA RICERCA
E LA SPERIMENTAZIONE
IN AGRICOLTURA

VIT

CENTRO DI RICERCA PER LA
VITICOLTURA di Conegliano

"La futura vita della vite" - Tornata ampezzana Accademia Vite Vino

Domenica 14/7/2013

Il genoma della vite come base della tipicità

Meneghetti S., Morreale G., Costacurta A., Calò A.

Il genoma di *Vitis vinifera* è stato sequenziato nel 2007;

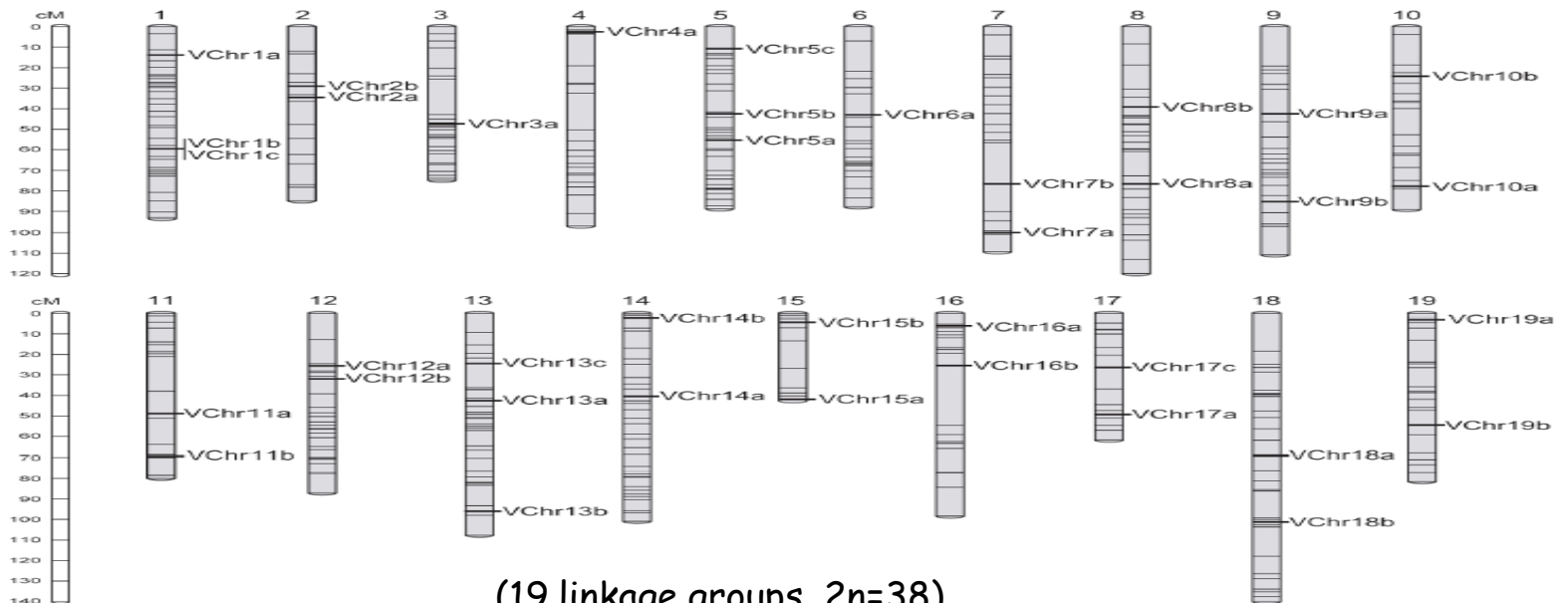
<i>Escherichia coli</i> (batterio)	= 4,6 Mb
<i>Saccharomices cerevisiae</i> (lievito)	= 12 Mb
<i>Drosophyla melanogaster</i> (moscerino)	= 140 Mb
<i>Arabidopsis thaliana</i> (piante)	= 100 Mb
<i>Vitis vinifera</i> (piante)	= 487 Mb (30.000 geni)
Uomo	= 3.000 Mb (32.000 geni)
Topo	= 3.200 Mb
Mais	= 5.000 Mb
Frumento	= 17.000 Mb

(Mb = milioni di paia di basi)

VITIS GENOME

BMC Plant Biology 2008, 8:127

<http://www.biomedcentral.com/1471-2229/8/127>



SSR tri-penta nucleotidici

Lo sviluppo continuo delle **biotecnologie** oggi rende possibile studiare la variabilità in *Vitis vinifera* **direttamente** a livello della molecola del **DNA** in modo sempre più approfondito

Da un qualsiasi **tessuto vegetale** si può estrarre il **DNA** e identificare la **varietà** di vite di appartenenza (nel Registro Varietale Italiano attualmente sono iscritte 460 cultivars);



FOGLIE, LEGNO, RADICI ...



WORKSTATION



gDNA



WORKSTATION



GELDOC



LANE	COD	[ng / µL]
LANE 1	24501569	312
LANE 2	24501570	123
LANE 3	24501571	305
LANE 4	24501572	325
LANE 5	24501573	612
LANE 6	24501574	178
LANE 7	24501575	358
LANE 8	24501576	345
LANE 9	24501577	361

[i] PUREZZA R/DNA



DNA



AUTOMAZIONE



PCR



GENETIC ANALYZER



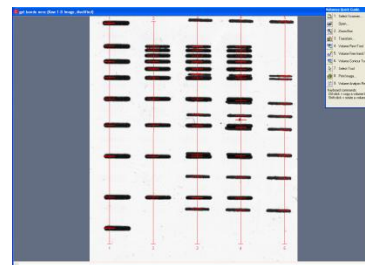
NOME CULTIVAR



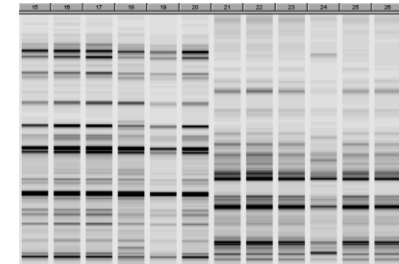
REALTIME



SEQUENCER



SOFTWARE



GENOTIPI

I **marcatori molecolari** (MM) oggi ci permettono di analizzare il genoma in modo veloce ed efficace;

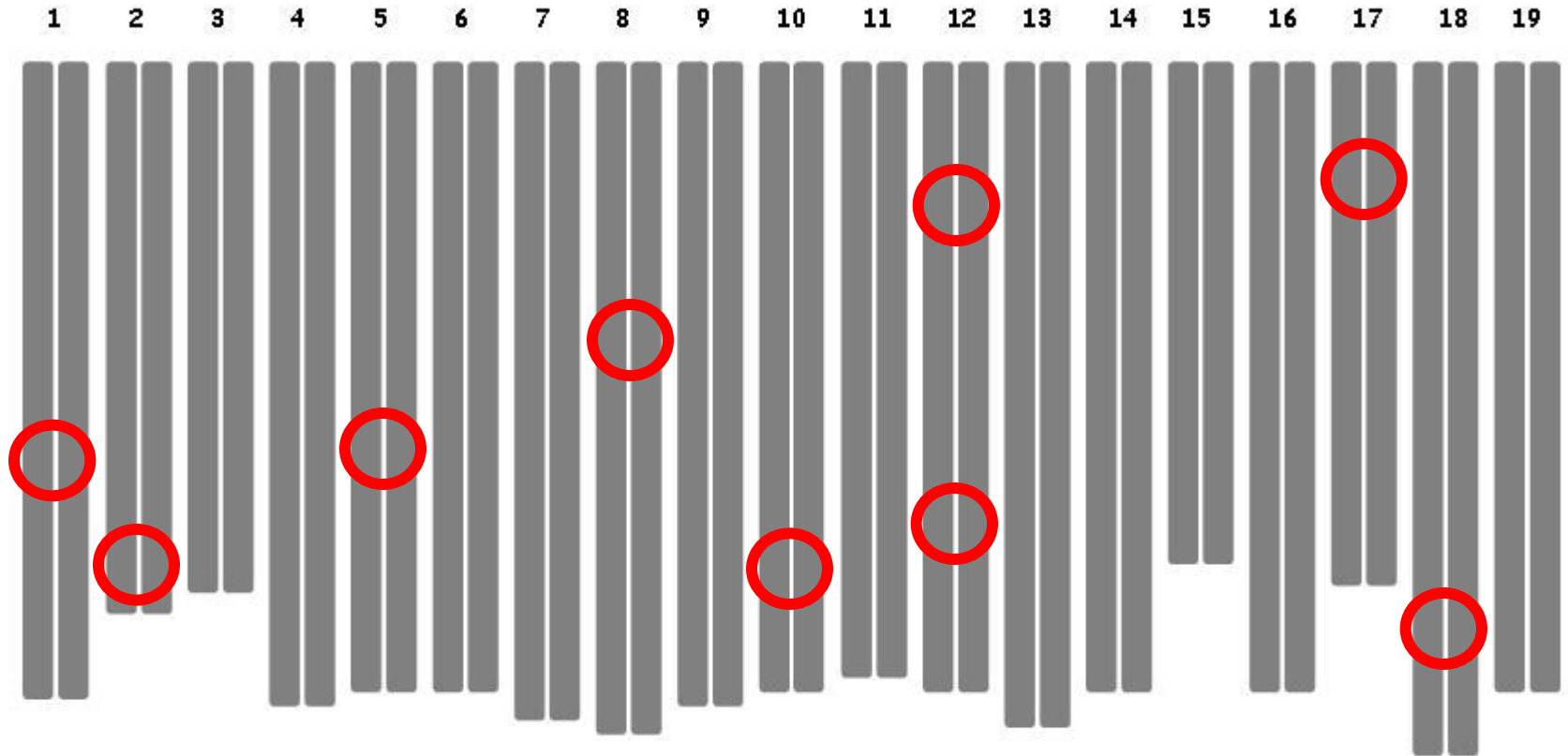
Esistono numerosi tipologie di MM:

- in particolare per **Vitis** gli **SSR** (microsatelliti) permettono di **identificare le varietà** (ogni cultivar ha quindi un suo ben preciso profilo microsatellite);
- altri marcatori invece (MSAP, AFLP, SAMPL, SNP, SSAP, ISSR, RAPD, MAFLP, IRAP) permettono di distinguere genotipi appartenenti alla stessa varietà (**cloni, biotipi, accessioni**);

Già le analisi condotte con **SSR** ci mostrano delle differenze molecolari presenti nel genere **Vitis** (**inter- & intra-specifiche**) ma soprattutto evidenziano la grande variabilità entro la **vite coltivata** (**intra-varietale**);

Identificazione cultivar

Microsatelliti (SSR)



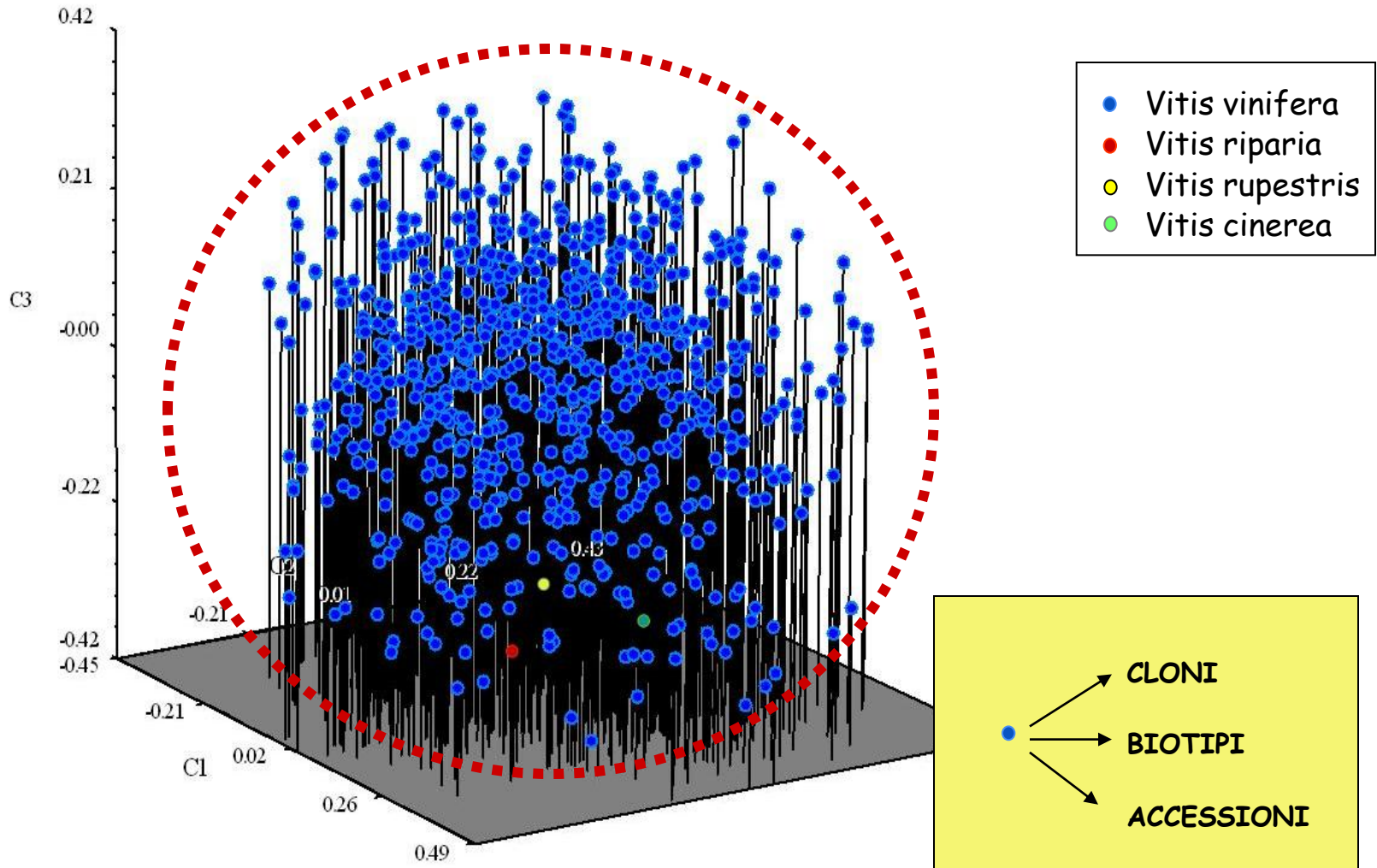
19 x 2 CHRs *Vitis*

L'analisi SSR (**specifiche regioni genomiche**) identifica la varietà.

Genotipi della stessa varietà mostrano lo stesso profilo SSR (presentano quindi gli stessi "alleli microsatelliti").

Per rappresentare graficamente la variabilità tra i profili SSR di 1500 varietà di vite si otterrebbe una **sfera** ...

SSR

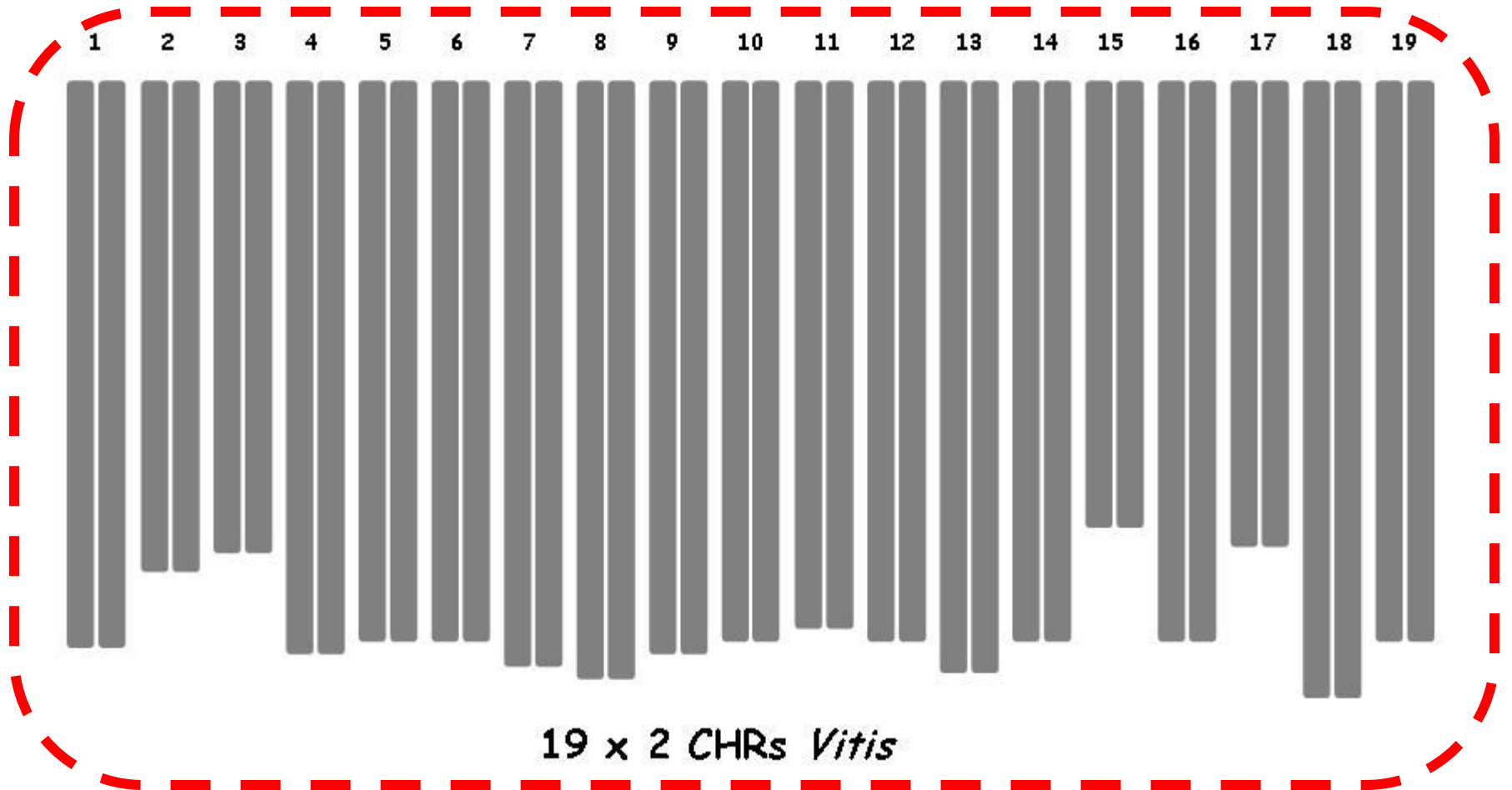


Le analisi SSR mostrano relazioni Inter- & Intra-specifiche ed evidenziano la grande variabilità presente entro la vite coltivata *V. vinifera* (intra-varietale);

GENOMA
&
TIPICITA'

Variabilità Intra-varietale

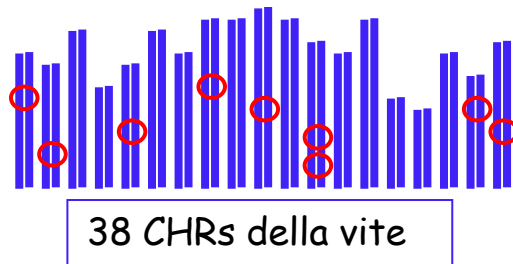
Analisi di tutto il *Genoma*



Genotipi della stessa cultivar (stesso profilo SSR) possono essere discriminati molecularmente mediante l'uso di diversi marcatori molecolari estesi a **tutto il gDNA** fino alla identificazione/discriminazione di cloni, biotipi e accessioni.

Esempio sul **Prosecco**

IDENTIFICAZIONE VARIETALE

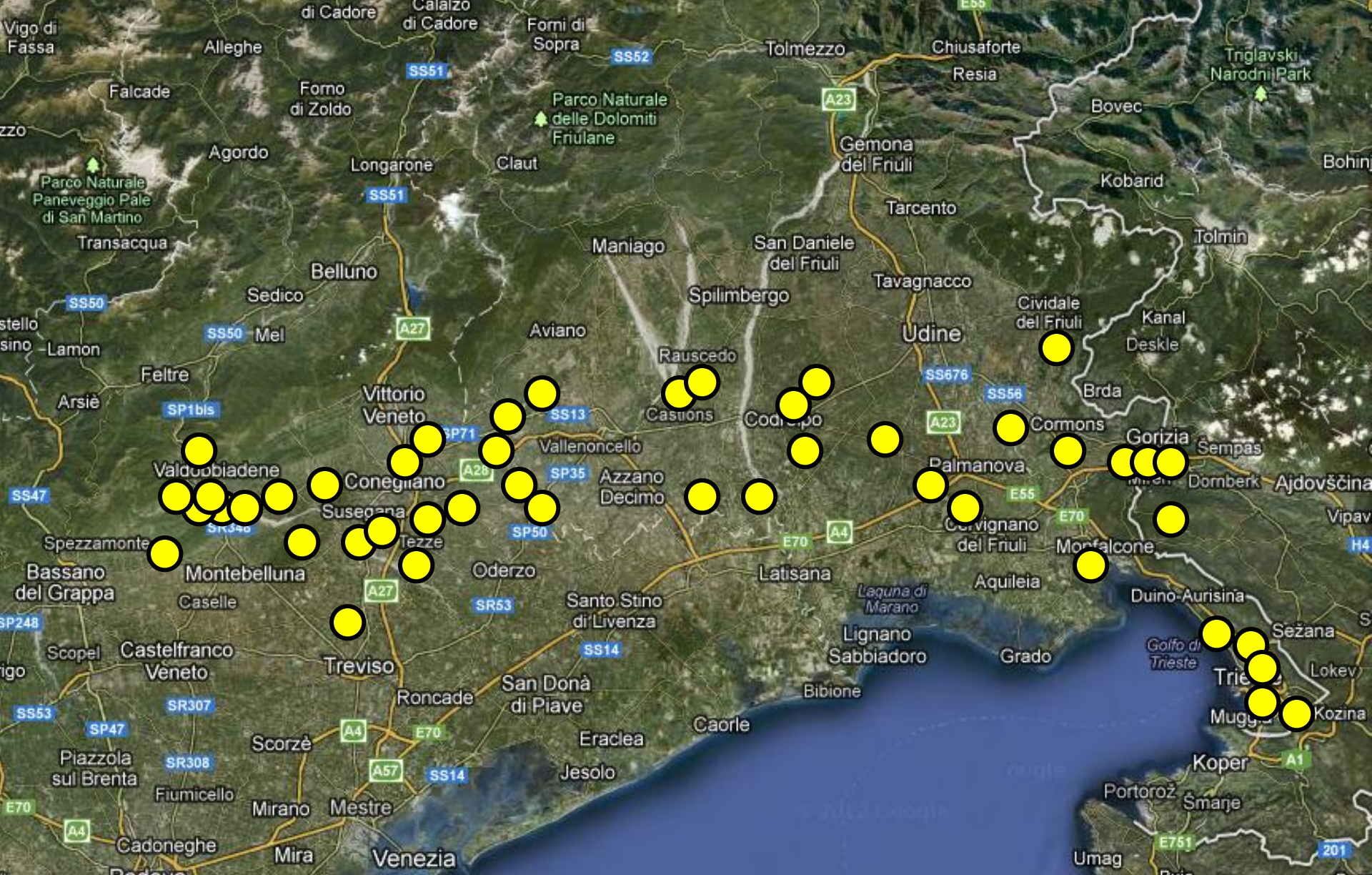


1

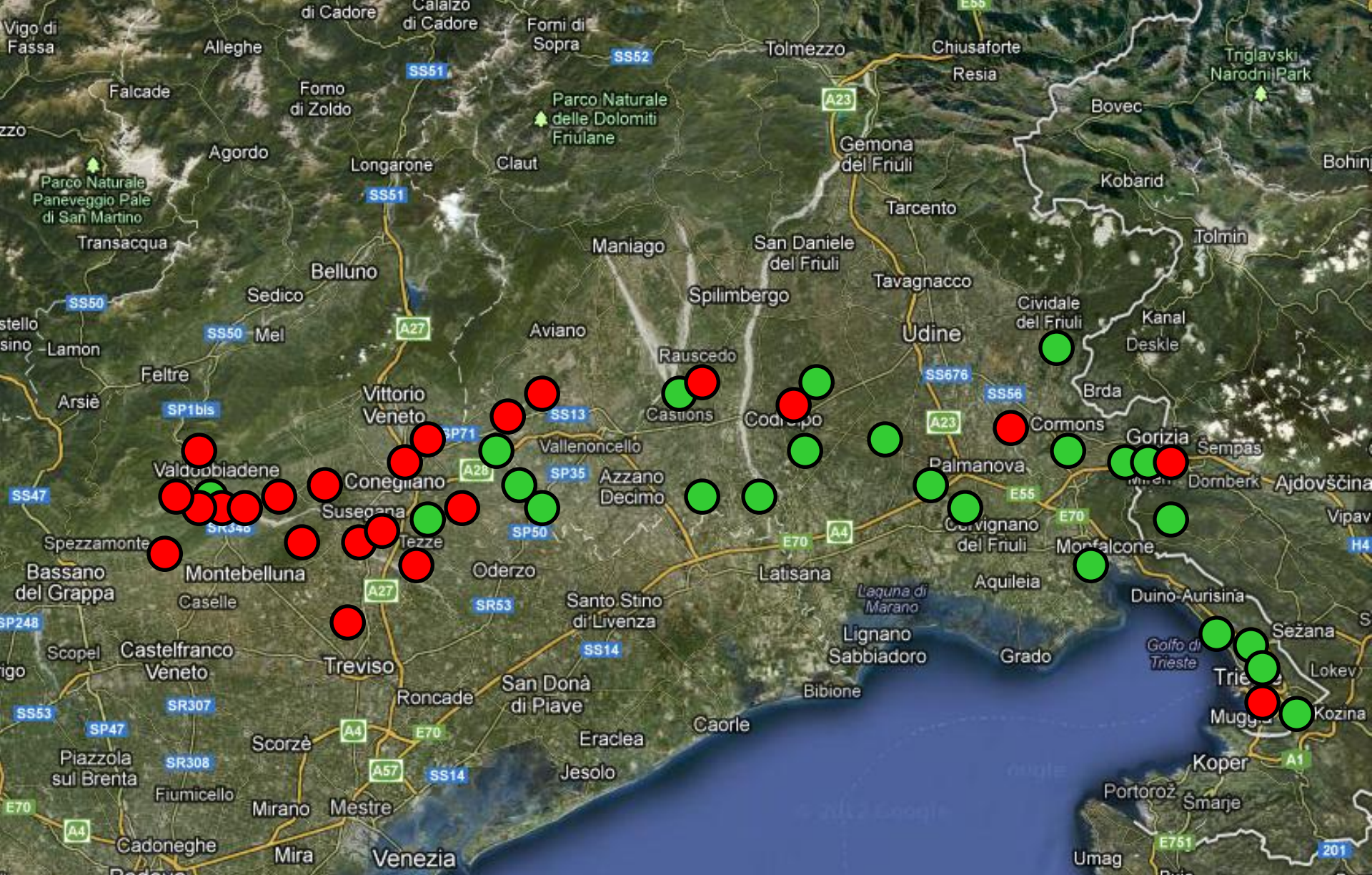
Nella zona del Prosecco troviamo molti vitigni chiamati dai viticoltori col nome **"Prosecco"** ...



... ma **analisi genomiche** mostrano **la presenza di più vitigni**



● Campionamento Prosecco



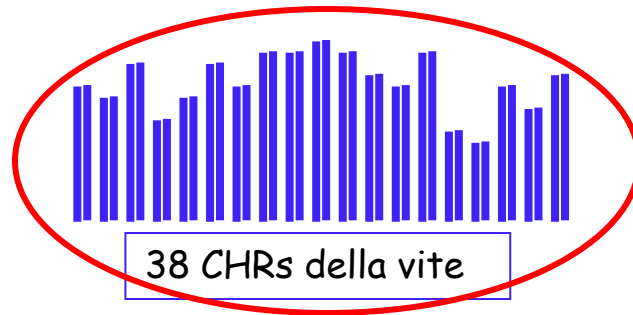
SSR

● PROSECCO TONDO

● PROSECCO LUNGO

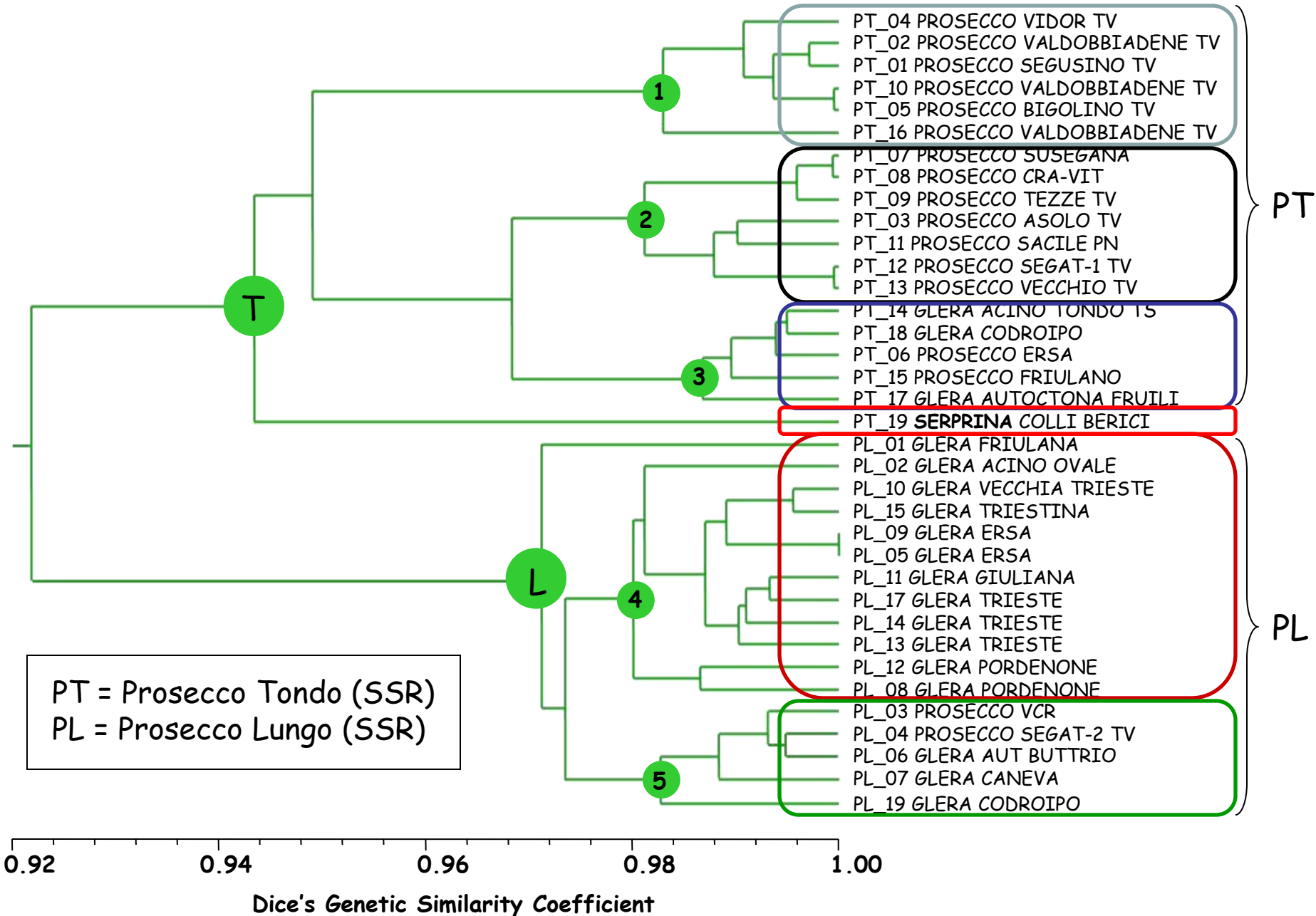
Esempio sul **Prosecco**

ANALISI INTRA-VARIETALI

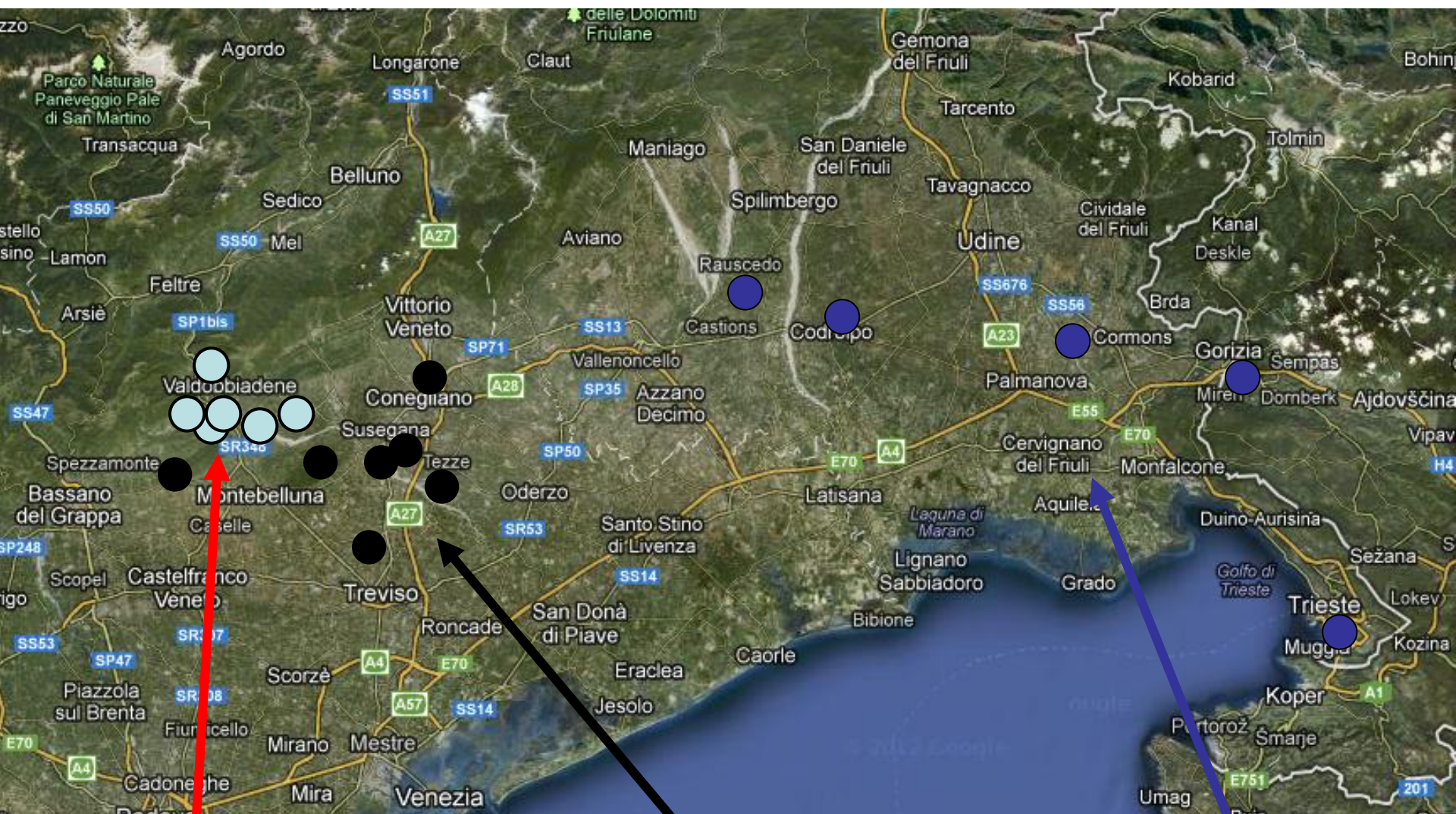


2

DENDROGRAMMA dei Proseccchi



PROSECCO TONDO

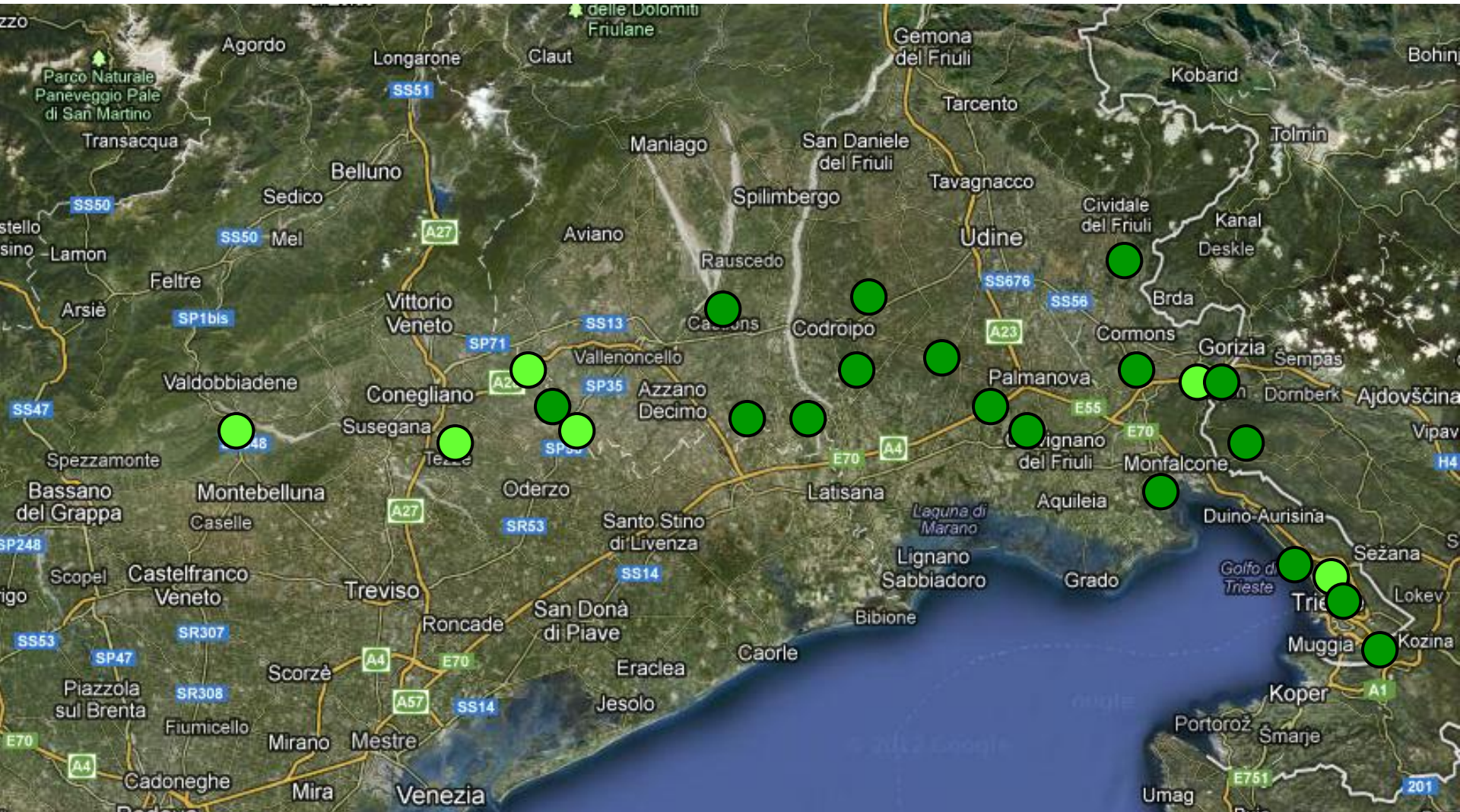


○ Zona Collinare TV

● Zona Pedemontana TV

● Zona Friulana

PROSECCO LUNGO



● Zona occidentale

● Zona orientale

ALTRI ESEMPI

Alcune pubblicazioni internazionali (Theor Appl Genet, Mol Biotechnol; Annals of Applied Biology)

Annals of Applied Biology ISSN 0003-4746

Mol Biotechnol (2011) 48:244–254
DOI 10.1007/s12033-010-9365-3

RESEARCH ARTICLE

Clone differentiation and varietal identification by means of SSR, AFLP, SAMPL and M-AFLP in order to assess the clonal selection of grapevine: the case study of Manto Negro, Callet and Moll, autochthonous cultivars of Majorca

E. Cretazzo¹, S. Meneghetti², M.T. De Andrés³, L. Gaforio³, E. Frare² & J. Cifre¹

CULTIVARS FROM MALLORCA

Mol Biotechnol
DOI 10.1007/s12033-011-9403-9

RESEARCH

Study of Intra-Varietal Genetic Variability in Grapevine Cultivars by PCR-Derived Molecular Markers and Correlations with the Geographic Origins

Stefano Meneghetti · Angelo Costacurta · Giacomo Morreale · Antonio Calò

PRIMITIVO, MALVASIA BR/LE, NEGROAMARO

Mol Biotechnol
DOI 10.1007/s12033-011-9423-5

RESEARCH

Inter- and Intra-Varietal Genetic Variability in Malvasia Cultivars

Stefano Meneghetti · Danijela Poljuha · Enrica Frare · Angelo Costacurta · Giacomo Morreale · Luigi Bavaresco · Antonio Calò

MALVASIA ISTRIANA

RESEARCH

Clones Identification and Genetic Characterization of Garnacha Grapevine by Means of Different PCR-Derived Marker Systems

Stefano Meneghetti · Angelo Costacurta · Enrica Frare · Graziana Da Rold · Daniele Migliaro · Giacomo Morreale · Manna Crespan · Vicente Sotés · Antonio Calò

GARNACHA GRENACHE CANNONAO

Theor Appl Genet
DOI 10.1007/s00122-010-1411-9

ORIGINAL PAPER

The SSR-based molecular profile of 1005 grapevine (*Vitis vinifera* L.) accessions uncovers new synonymy and parentages, and reveals a large admixture amongst varieties of different geographic origin

Guido Cipriani · Alessandro Spadotto · Irena Jurman · Gabriele Di Gaspero · Manna Crespan · Stefano Meneghetti · Enrica Frare · Rita Vignani · Mauro Cresti · Michele Morgante · Mario Pezzotti · Enrico Pe · Alberto Pollicritti · Raffaele Testolin

SSR LONG REPEATS

Mol Biotechnol
DOI 10.1007/s12033-011-9475-6

RESEARCH

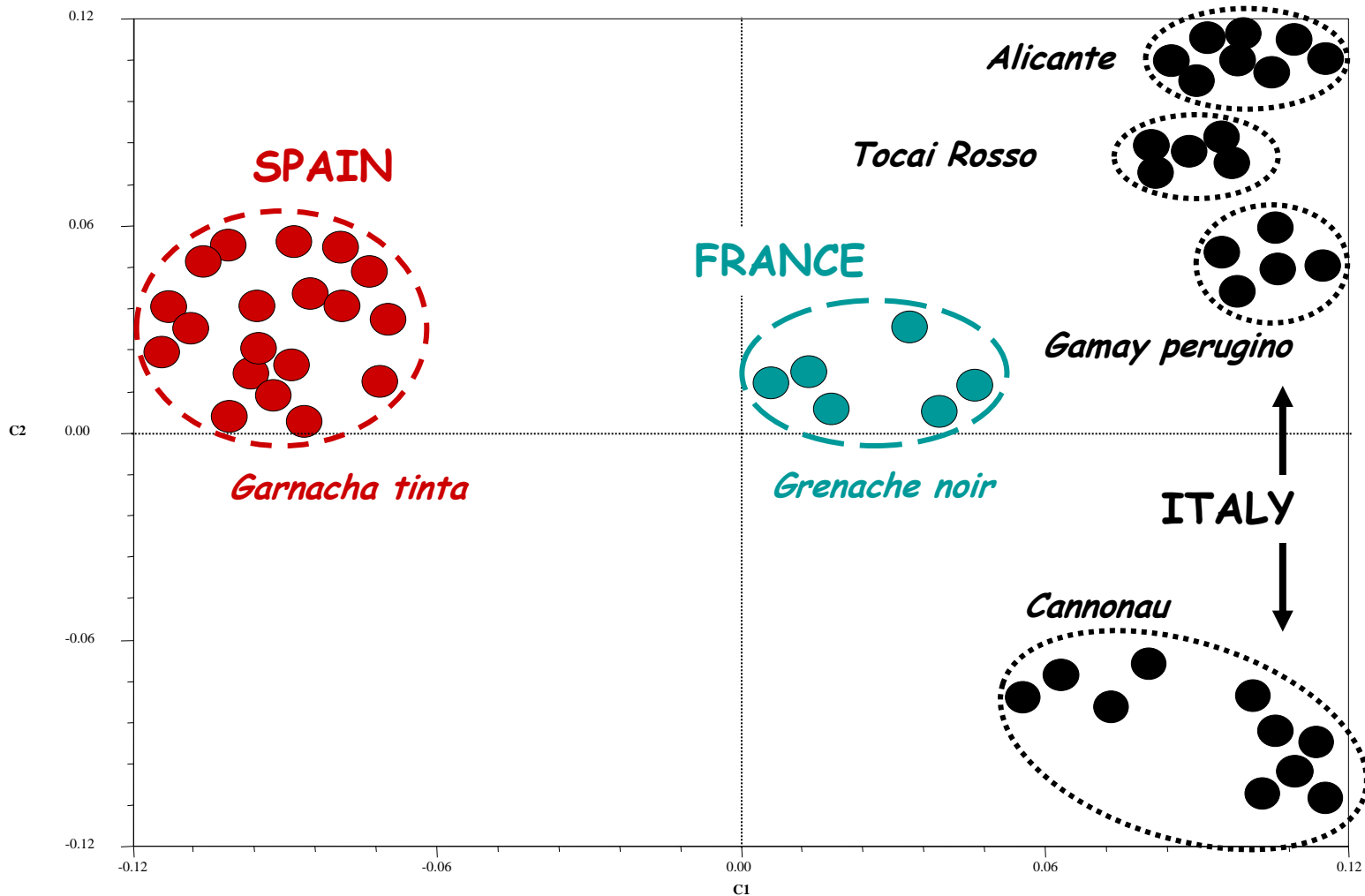
A Strategy to Investigate the Intravarietal Genetic Variability in *Vitis vinifera* L. for Clones and Biotypes Identification and to Correlate Molecular Profiles with Morphological Traits or Geographic Origins

Stefano Meneghetti · Antonio Calò · Luigi Bavaresco

MALVASIA of CANDIA

Garnacha tinta - Grenache noir - Cannonau

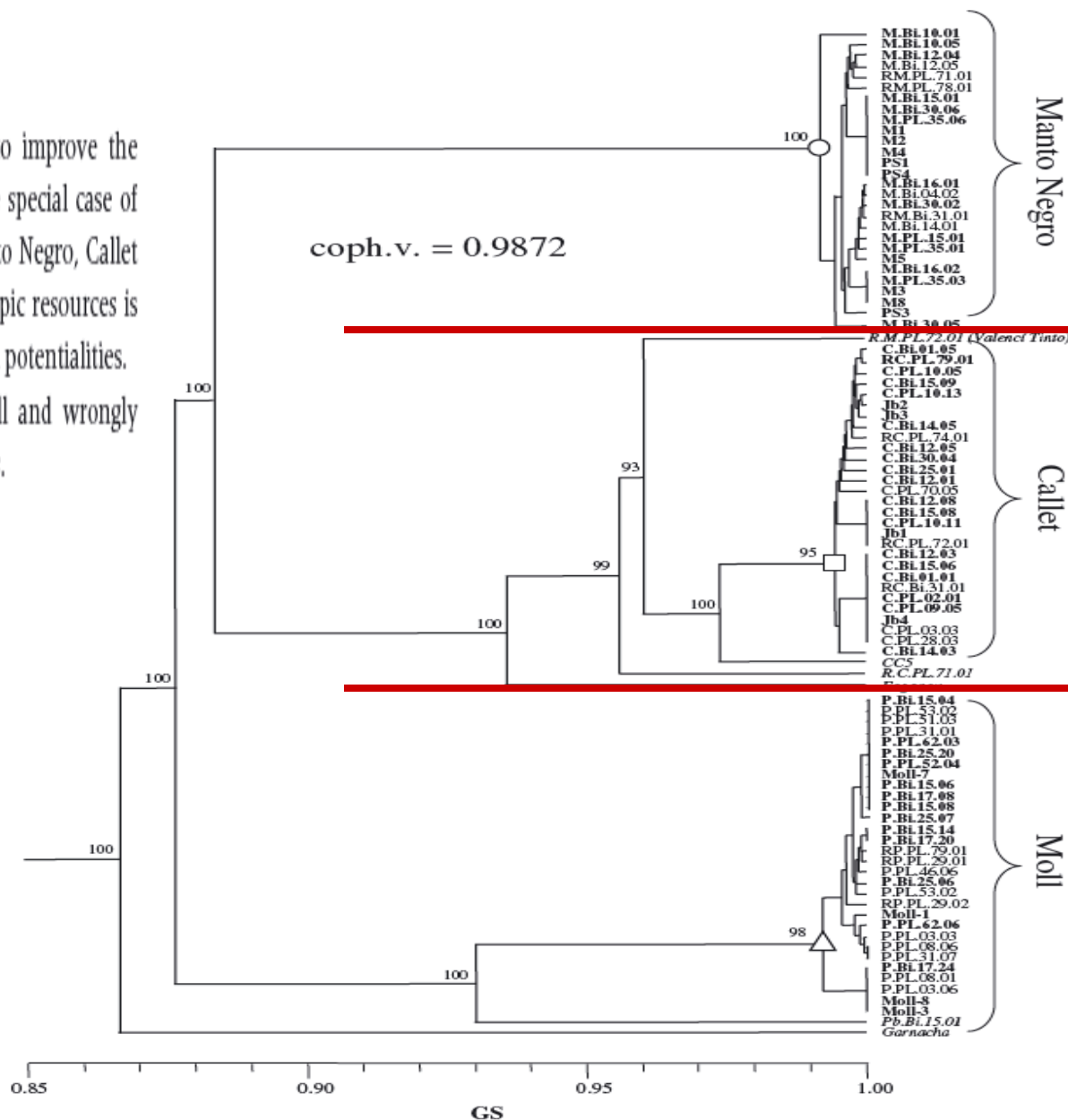
Le accessioni dei 3 Stati sono state discriminate (Italy) come quelle siciliane, dei Colli Vicentini, umbro-toscane e sarde



Discriminazione tra 3 cultivars maiorchine e relativi cloni

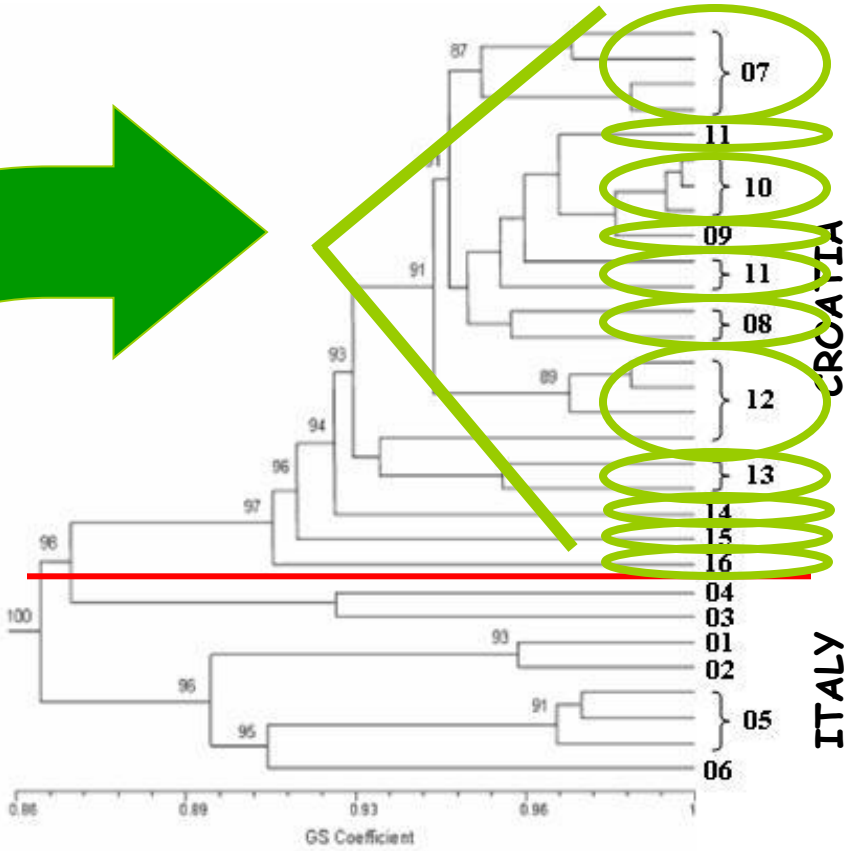
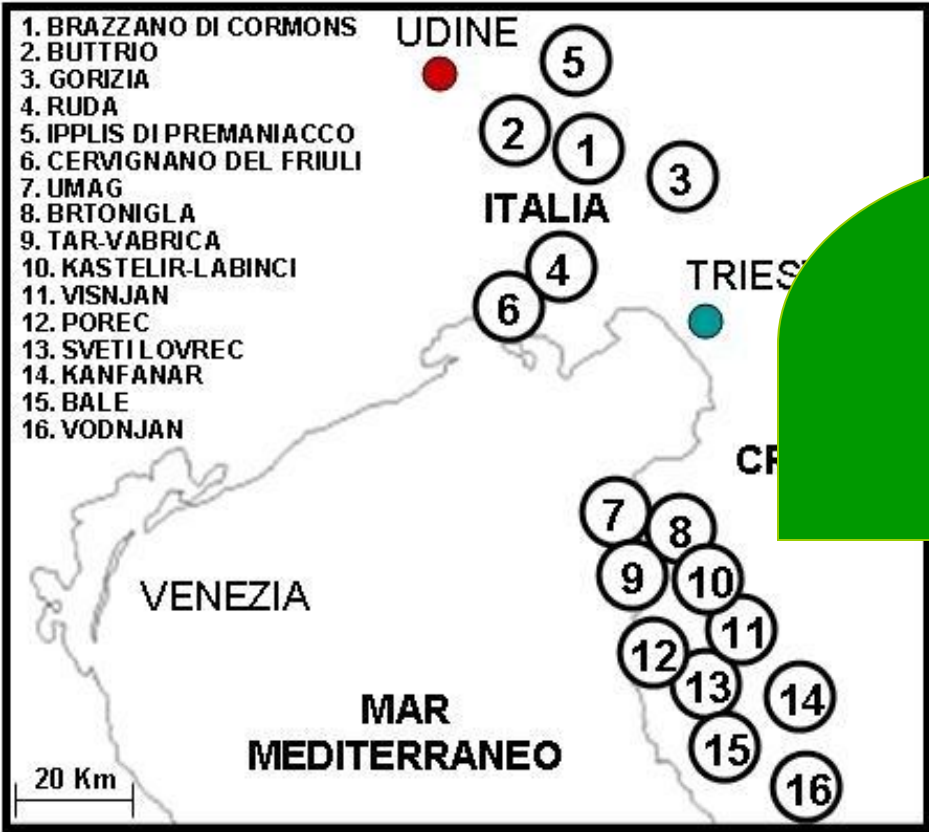
Abstract

Clonal selection is the most worldwide spreading method to improve the performance of wine grapevine (*Vitis vinifera*) cultivars. In the special case of autochthonous varieties with only local interest, such as Manto Negro, Callet and Moll in Majorca (Spain), good knowledge of their genotypic resources is helpful to assess the development of viticultural and enological potentialities. In this study, 94 vines (including Manto Negro, Callet, Moll and wrongly identified samples) were analysed by means of genetic markers.



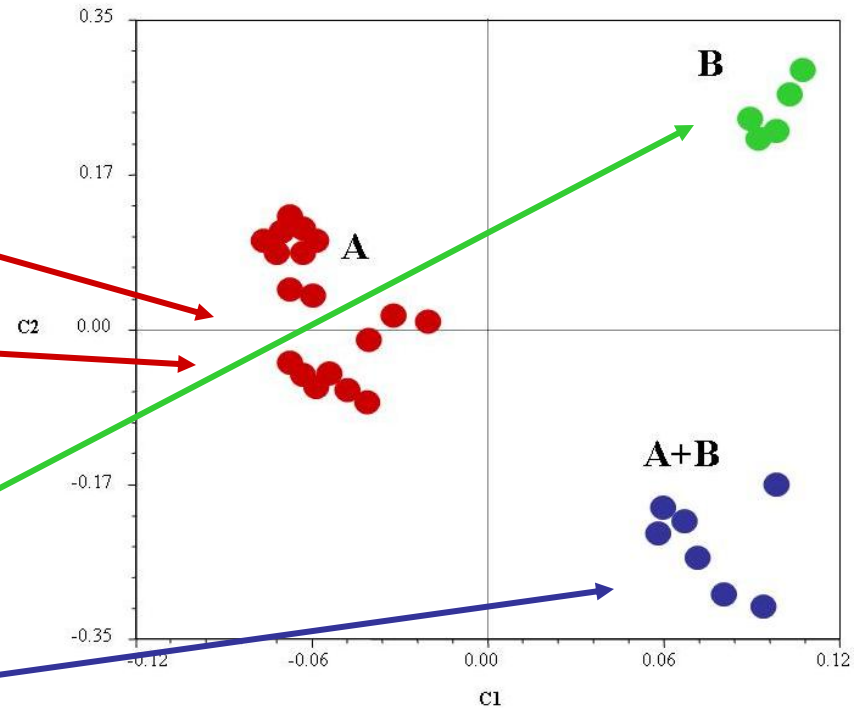
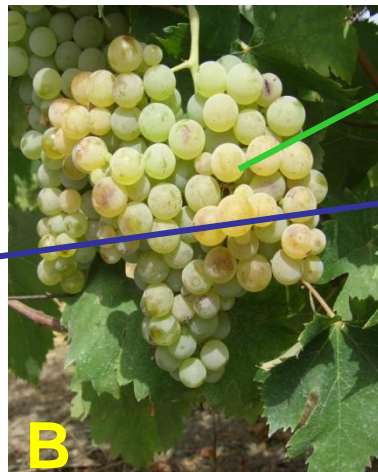
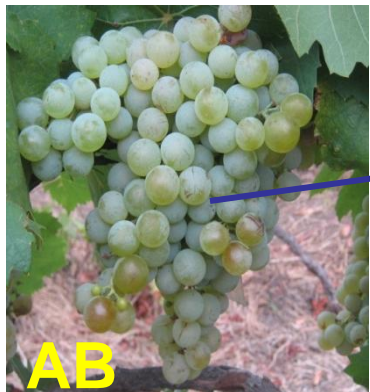
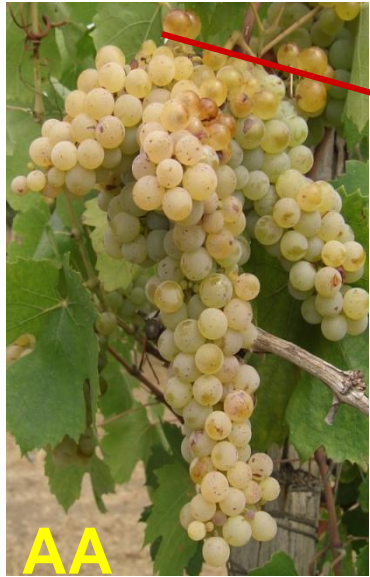
Malvasia istriana

Materiali autoctoni croati e cloni italiani registrati di tre diversi istituti sono stati raggruppati in conformità con l'origine geografica (materiali d'origine, vecchi vigneti)



Malvasia di Candia a sapore semplice

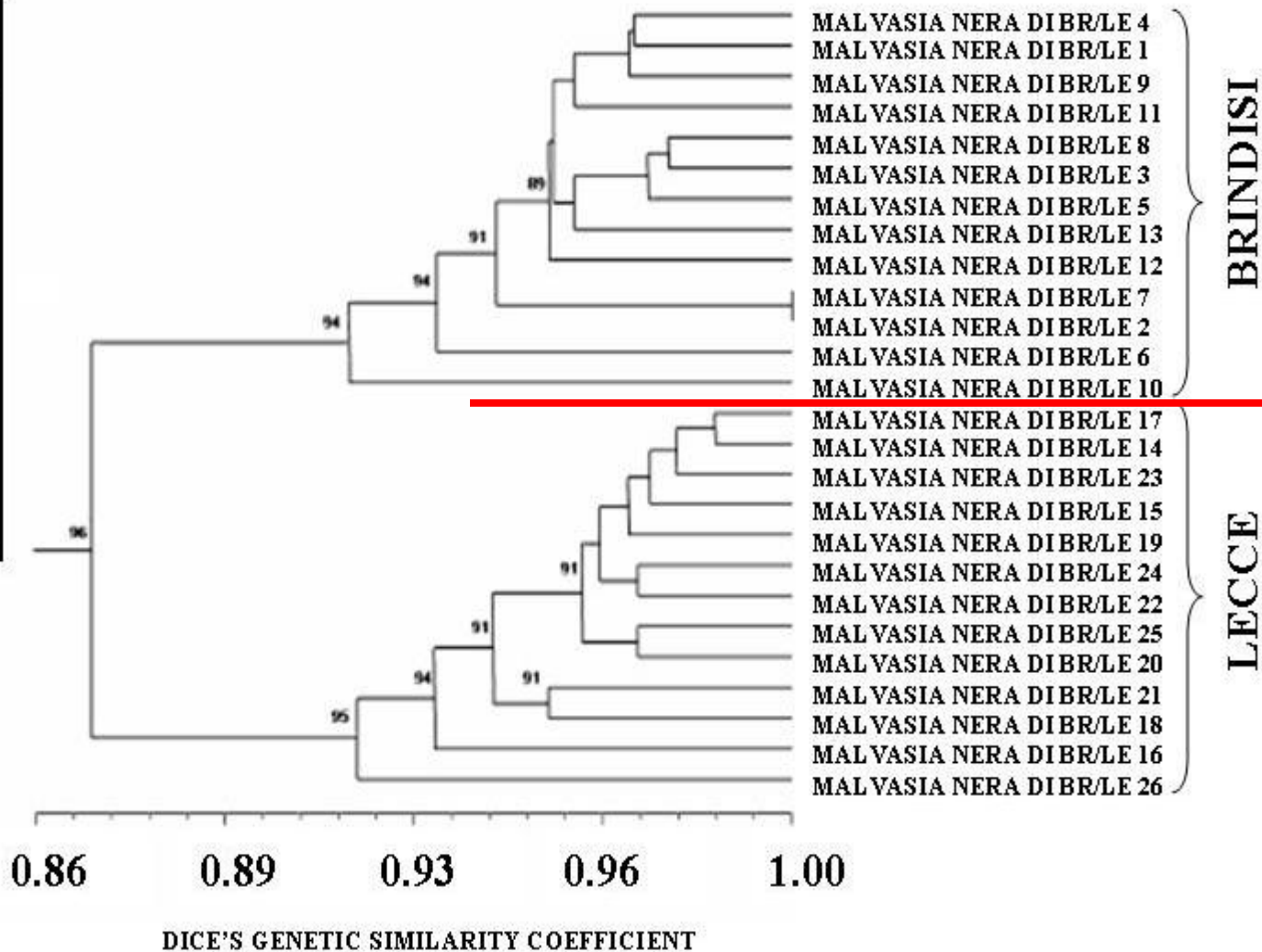
Su materiale autoctono recuperato nella Frascati DOC sono stati individuati 4 biotipi principali per la forma del grappolo, biotipi raggruppabili anche molecolarmente in 3 clusters



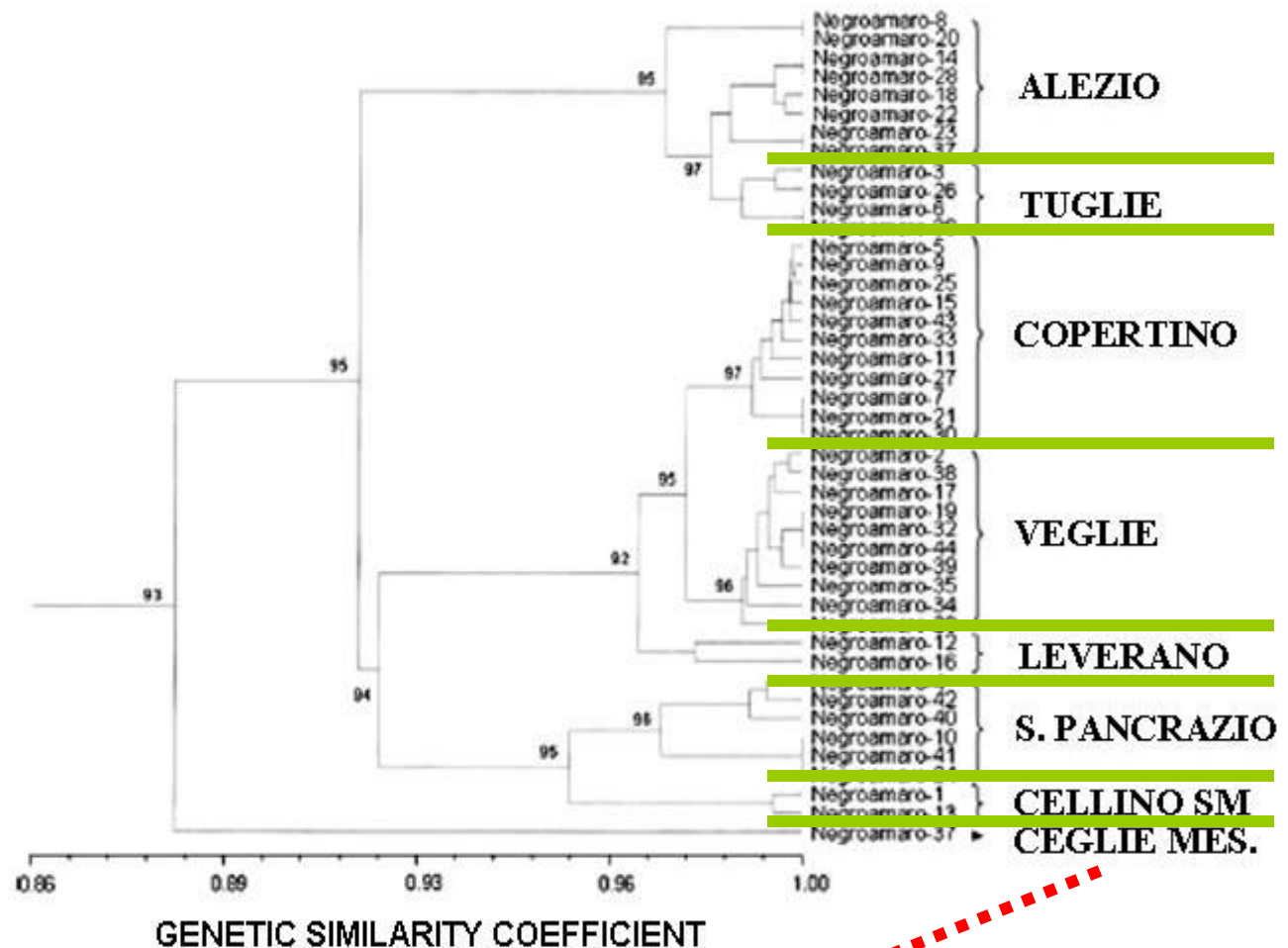
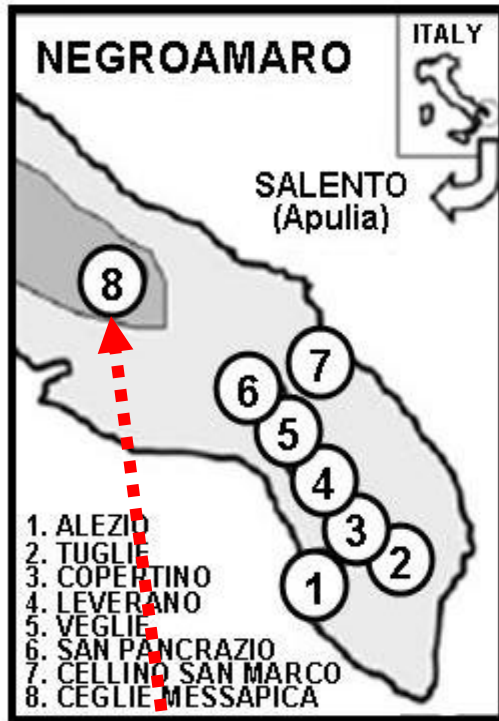
Progetto per il recupero germoplasma in vecchi vigneti (di almeno 50 anni) nella Frascati DOC.

Malvasia nera di Brindisi-Lecce

Materiali provenienti da Brindisi e Lecce, identici agli SSR, sono risultati discriminabili alle analisi molecolari



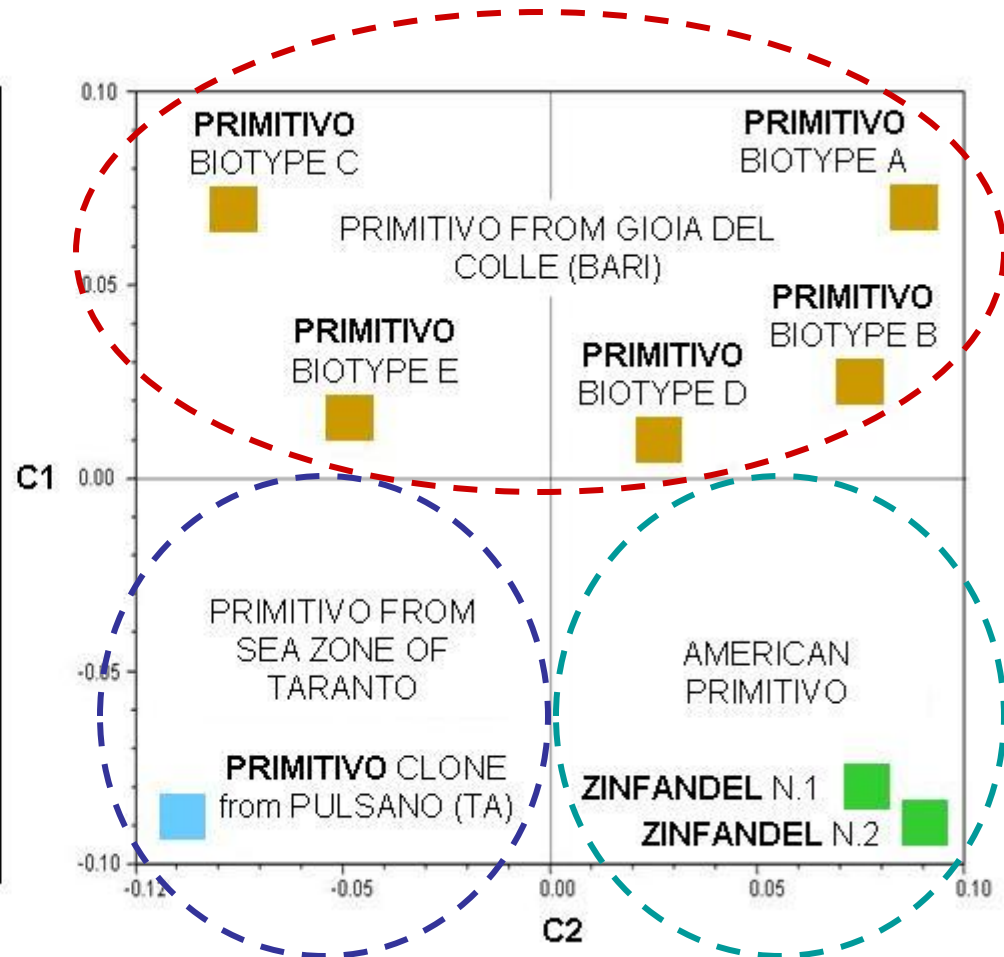
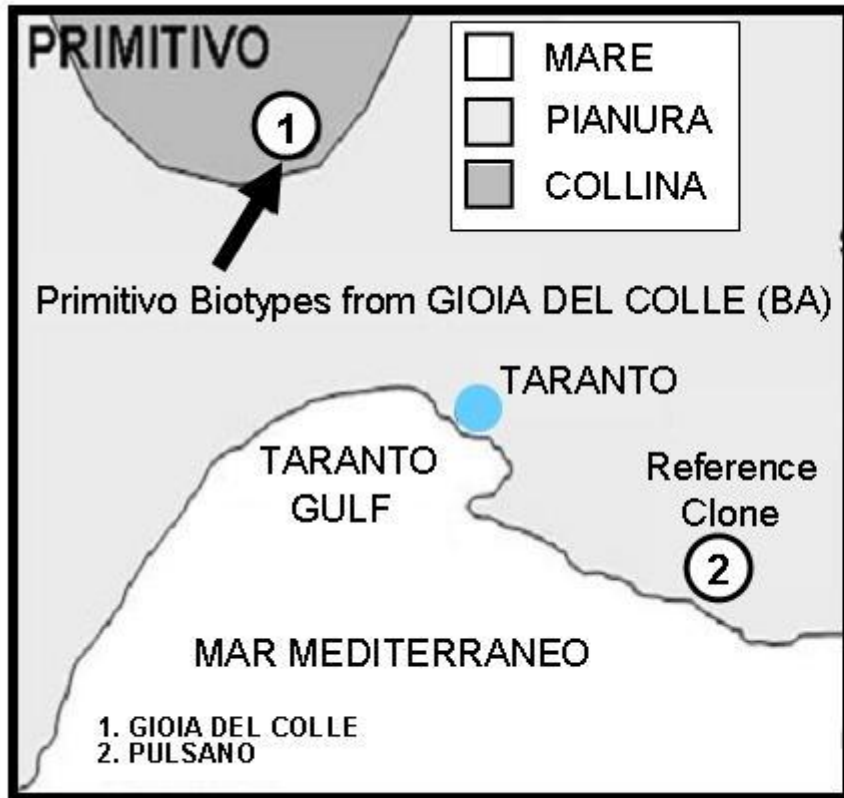
Negroamaro del Salento (Apulia)



L'analisi di raggruppamento pone i genotipi (biotipi) di Negroamaro propagati agamicamente in ogni azienda seguendo la secolare tradizione di famiglia) in cluster in accordo con l'origine dei materiali (gradiente latitudinale e altitudinale)

Primitivo

Primitivo di Gioia del Colle (BARI, Italy), un clone di riferimento dalla zona marittima di Pulsano (TARANTO, Italy) e 2 accessioni di Zinfandel Statunitense



CONCLUSIONI

La **grande variabilità** in *Vitis vinifera* per aromi, sapori, profumi, aspetti fenologici e ampelografici trova conferma nell'ampia variabilità riscontrata anche a livello genetico;

I marcatori molecolari permettono la **sicura identificazione varietale** (SSR) ma anche la discriminazione molecolare di individui appartenenti alla stessa cultivar ma con caratteristiche differenti (**variabilità intra-varietale, biotipi, cloni**) che spesso risultano in relazione con le differenti **zone geografiche**.

Preservare le tipicità dei tanti vitigni selezionati nel corso dei secoli dall'opera continuativa dell'uomo su **ambienti diversi** è fondamentale sia dal punto di vista **scientifico** (risorse genetiche) che **pratico-culturale** (tipicità prodotti) attraverso una propagazione programmata dei materiali di moltiplicazione.

GRAZIE DELL'ATTENZIONE