



## Analisi genetiche e morfologiche

Claudia Mattioni

Isacco Beritognolo

Istituto di Ricerca sugli Ecosistemi Terrestri

IRET -CNR

Sede Porano Terni

Laboratorio genetica

- Simone Cardoni
- Marcello Cherubini
- Luca Leonardi



## Descrizione dell'Attività

Caratterizzare geneticamente i castagneti; piante madri e frutti

Valutare il flusso pollinico da castagneti limitrofi non coltivati »selvatici«

Caratterizzare i frutti e le piante (varietà) con indicatori morfologici



La conoscenza della variabilità genetica e morfologica dei castagneti lombardi permetterà:

la conservazione delle risorse autoctone,

la gestione razionale dei castagneti e la valorizzazione dei prodotti locali

# Campionamento analisi genetica

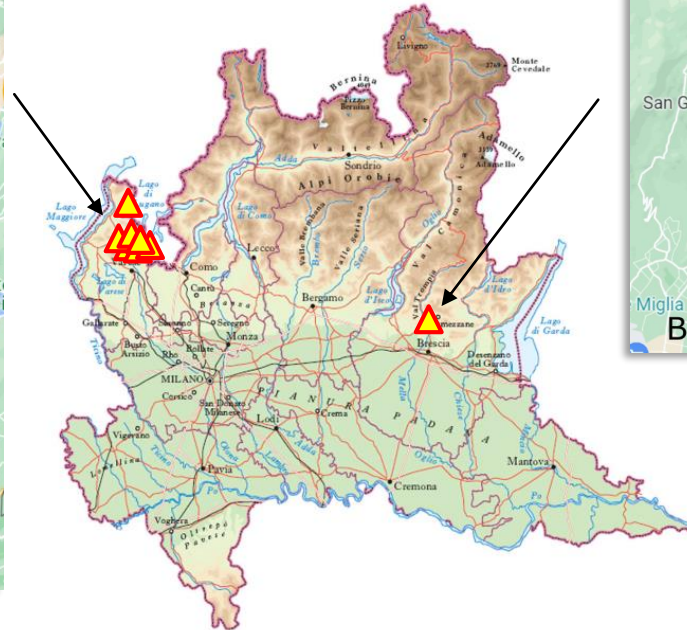
12 siti 255 piante

castagneti gestiti (da frutto) e castagneti non gestiti (selvatici)

## Prov. Varese



## Prov. Brescia



	N Piante	Foglie (M)	Frutti (F)
<b>Prov. Varese</b>			
Curiglia	19	✓	✓
Castelveccana	21	✓	✓
Aga (Castelzuigno)	18	✓	✓
Brinzio	16	✓	✓
Orino	19	✓	✓
Velate	20	✓	✓
Arcisate	19	✓	✓
Castello Cabiaglio (Selvatico)	22	✓	
Curiglia (Selvatico)	20	✓	
<b>Prov. Brescia</b>			
Breda } Serle	19	✓	✓
Predel } Serle	20	✓	✓
Meder	20	✓	✓
Madonnina (Selvatico)	22	✓	

## Analisi genetiche

- ▶ Estrazione DNA (Foglie e Frutti)
- ▶ Studio della diversità genetica valutando zone variabili del genoma caratteristiche di ciascun individuo
- ▶ 12 Marcatori microsatellitari SSRs sviluppati sul genoma del castagno

	nSSRs			
Mix1	CsCAT3	CsCAT6	CsCAT16	EMCs38
Mix2	CsCAT1	CsCAT2	CsCAT14	EMCs25
Mix3	CsCAT17	CsCAT34	CsCAT41	EMCs32



# Risultati variabilità e struttura genetica dei popolamenti coltivati

## Individui identici Brescia

BreP24	20	Marrone
BreP22	0	Marrone
BreP21	0	Marrone
BreP20	0	Marrone
BreP8	0	Marrone
BreB5	0	Marrone
BreB4	0	Marrone
BreB1	0	Marrone
Pre37	0	Marrone
Pre36	0	Marrone
Pre35	0	Marrone
Pre34	0	Marrone
Pre33	0	Marrone
Pre30	0	Marrone
Pre29	0	Marrone
Pre28	0	Marrone
Pre27	0	Marrone
Pre26	0	Marrone
Pre25	0	Marrone
Pre14	0	Marrone
BreP5	4	Rossera
BreP4	0	Rossera
Pre31	0	Rossera
Pre12	0	Rossera

## Individui identici Varese

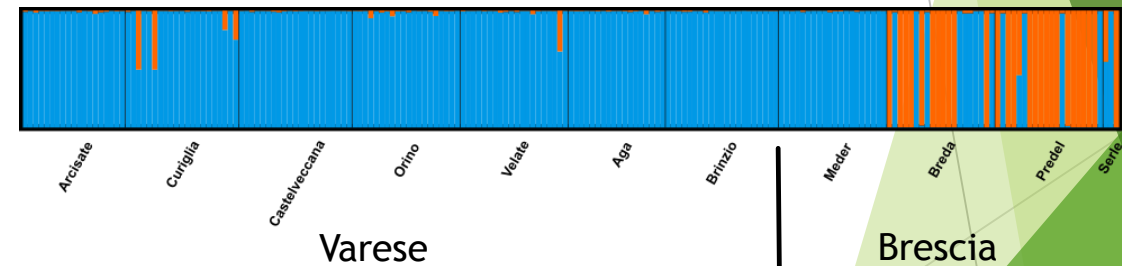
Cv5	2	nd
Cv1	0	nd
Cur6	2	nd
Cur3	0	nd
Bri5	2	nd
Bri2	0	nd
Bri19	3	nd
Bri17	0	nd
Bri4	0	nd
Ori8	2	nd
Ori7	0	nd

Pop		N	Na	Ne	I	Ho	He	uHe	F
Varese	Mean	130.833	10.000	4.197	1.582	0.675	0.718	0.720	0.064
	SE	0.505	1.487	0.569	0.135	0.056	0.032	0.032	0.064
Brescia	Mean	58.917	7.833	4.429	1.595	0.820	0.740	0.746	-0.120
	SE	0.083	0.886	0.469	0.118	0.025	0.031	0.032	0.031

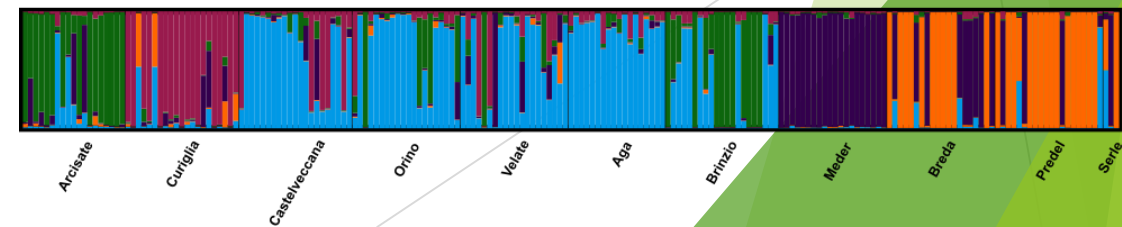
## Principal Coordinates (PCoA)



K2



K 5



## **Cosa ci dicono questi risultati della variabilità genetica dei popolamenti coltivati ?**

Nelle due aree lombarde le popolazioni si distinguono geneticamente

Gli indici di diversità genetica delle due zone sono comparabili

Maggiore numero di individui clonali nei castagneti di Brescia indicano una diversa gestione; probabilmente una maggiore pratica dell'innesto



## **Quali sono stati gli approcci di studio successivi?**

Indagare la variabilità genetica dei frutti

Indagare l'apporto pollinico delle popolazioni non coltivate circostanti (selvatico)

# Analisi genetica su circa 20 frutti per popolazione

Un frutto per pianta

Indici di diversità genetica più alti nell'analisi dei frutti



Alleli privati nei frutti e nelle piante madri



	N° Alleli Privati Madri	N° Alleli Privati Frutti
Varese	6	7
Brescia	2	8



I dati sembrano confermare un **flusso di polline dai castagneti selvatici**. Più evidente nella zona di Brescia a causa della maggiore presenza di marroni maschio-sterili

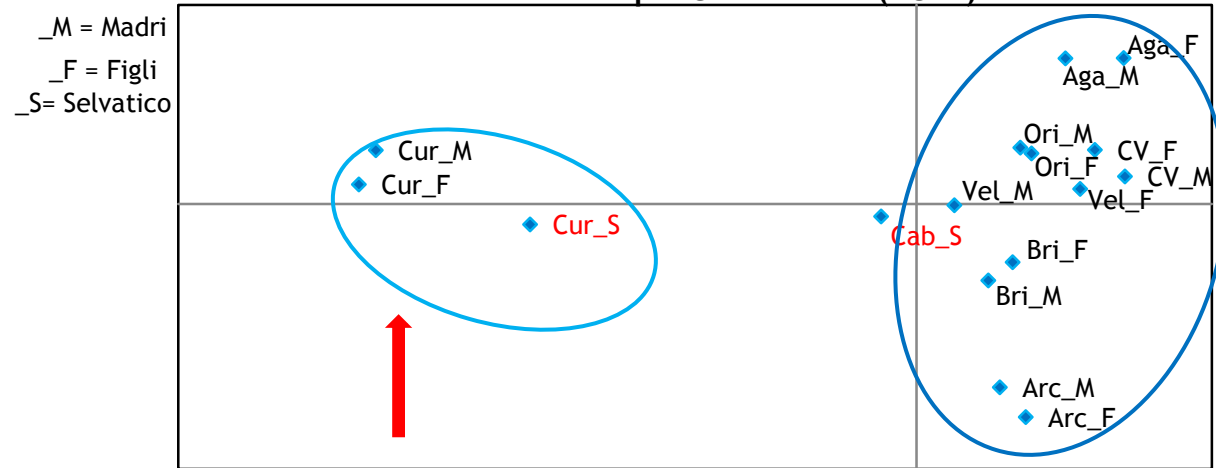
Mean and SE over Loci for each Pop

Pop		N	Na	Ne	I	Ho	He	uHe	F
Aga_M	Mean	17.917	4.917	3.044	1.210	0.647	0.623	0.641	-0.059
	SE	0.083	0.434	0.359	0.103	0.049	0.039	0.040	0.075
Aga_F	Mean	17.750	5.833	3.326	1.312	0.600	0.649	0.668	0.086
	SE	0.179	0.458	0.391	0.108	0.053	0.041	0.043	0.042
Arc_M	Mean	18.833	5.833	3.307	1.338	0.663	0.664	0.682	0.010
	SE	0.112	0.638	0.326	0.103	0.068	0.033	0.034	0.087
Arc_F	Mean	18.833	6.083	3.523	1.405	0.558	0.688	0.707	0.187
	SE	0.112	0.690	0.345	0.102	0.067	0.027	0.028	0.093
Bri_M	Mean	16.000	4.583	2.890	<b>1.169</b>	0.750	0.631	0.651	-0.190
	SE	0.000	0.557	0.233	0.089	0.068	0.027	0.028	0.104
Bri_F	Mean	15.250	5.750	3.595	<b>1.392</b>	0.682	0.699	0.723	0.022
	SE	0.494	0.664	0.327	0.099	0.052	0.024	0.025	0.070
Cur_M	Mean	18.917	5.583	3.278	1.228	0.612	0.607	0.623	0.026
	SE	0.083	0.773	0.562	0.151	0.079	0.056	0.057	0.102
Cur_F	Mean	17.750	5.417	3.116	1.213	0.570	0.602	0.620	0.043
	SE	0.131	0.793	0.463	0.144	0.071	0.052	0.053	0.101
Cv_M	Mean	20.833	5.667	3.574	1.355	0.681	0.679	0.696	0.004
	SE	0.112	0.732	0.418	0.123	0.075	0.035	0.035	0.103
Cv_F	Mean	20.750	6.583	3.619	1.428	0.619	0.695	0.712	0.112
	SE	0.250	0.723	0.329	0.107	0.048	0.029	0.030	0.064
Ori_M	Mean	18.917	5.917	3.557	1.391	0.655	0.686	0.704	0.041
	SE	0.083	0.645	0.395	0.108	0.063	0.030	0.031	0.083
Ori_F	Mean	18.667	6.000	3.563	1.381	0.600	0.675	0.694	0.125
	SE	0.188	0.628	0.443	0.113	0.056	0.034	0.035	0.056
Vel_M	Mean	19.417	7.333	4.275	1.576	0.726	0.733	0.753	0.020
	SE	0.260	0.899	0.477	0.119	0.051	0.028	0.029	0.050
Vel_F	Mean	18.833	6.750	3.938	1.507	0.672	0.722	0.743	0.082
	SE	0.824	0.770	0.351	0.099	0.057	0.025	0.026	0.057
CabS	Mean	21.917	6.500	4.041	1.467	0.653	0.704	0.720	0.081
	SE	0.083	0.733	0.502	0.132	0.065	0.038	0.039	0.080
CurS	Mean	19.917	6.250	3.596	1.368	0.648	0.663	0.680	0.016
	SE	0.083	0.750	0.491	0.130	0.074	0.046	0.047	0.099
MadS	Mean	21.833	7.583	4.637	1.645	0.774	0.750	0.768	-0.028
	SE	0.112	0.679	0.542	0.110	0.042	0.028	0.028	0.041
Ser_M	Mean	39.000	6.500	3.219	<b>1.343</b>	0.908	0.675	<b>0.684</b>	-0.356
	SE	0.000	0.634	0.193	0.083	0.019	0.022	0.022	0.040
Ser_F	Mean	38.833	8.333	4.714	<b>1.666</b>	0.768	0.763	<b>0.773</b>	-0.007
	SE	0.112	0.956	0.441	0.114	0.043	0.026	0.026	0.045
Med_M	Mean	19.917	5.833	3.673	<b>1.365</b>	0.649	0.663	<b>0.680</b>	0.024
	SE	0.083	0.575	0.471	0.128	0.055	0.050	<b>0.051</b>	0.035
Med_F	Mean	20.000	7.083	4.143	<b>1.502</b>	0.638	0.689	<b>0.706</b>	0.083
	SE	0.000	0.783	0.601	0.139	0.058	0.048	0.049	0.056

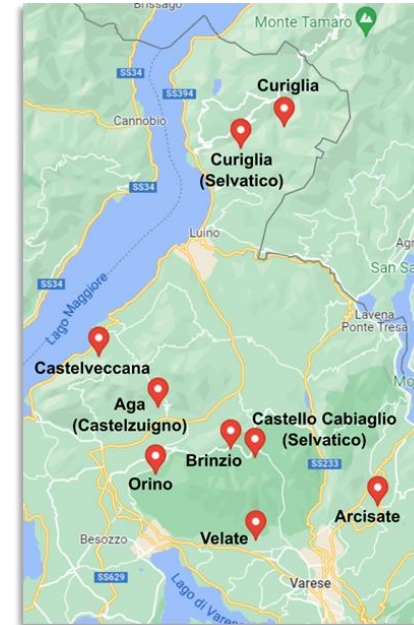
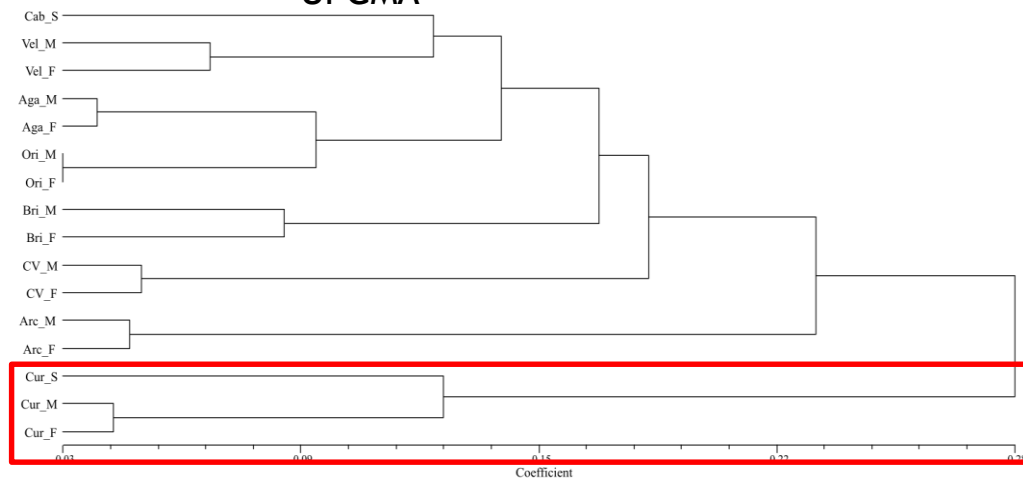
# I castagneti della provincia di Varese:

7 popolamenti coltivati, 2 selvatici, frutti dai 7 popolamenti coltivati

Principal Coordinates (PCoA)



UPGMA



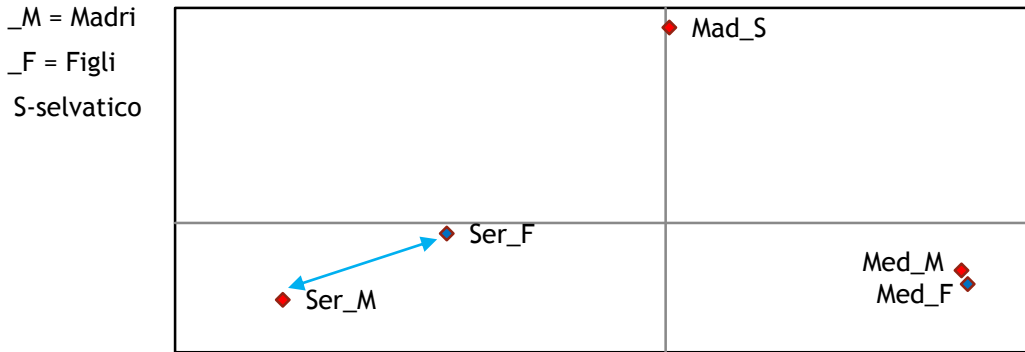
La zona di Curiglia geograficamente più distante mostra una maggiore distanza genetica dalle altre popolazioni di Varese



# I castagneti della provincia di Brescia

2 popolamenti coltivati, 1 selvatico, frutti da 2 popolamenti coltivati

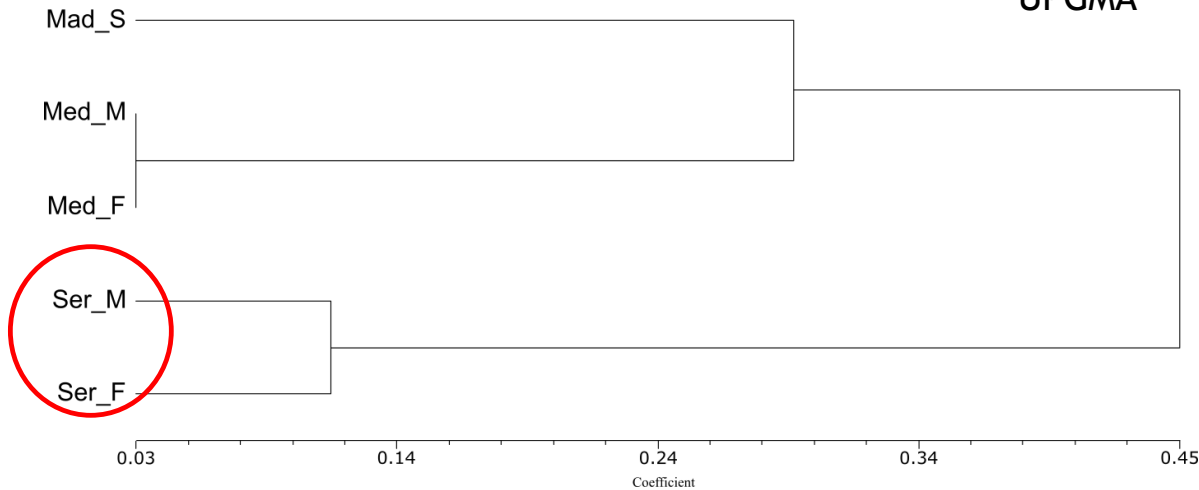
Principal Coordinates (PCoA)



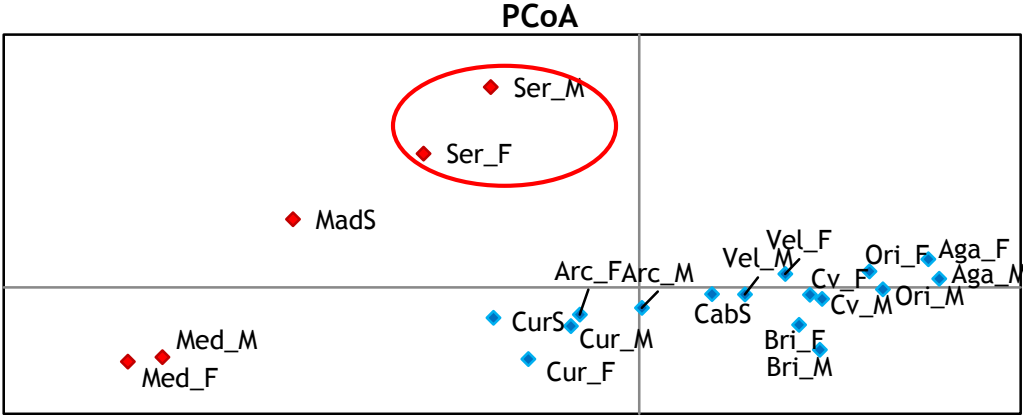
Una maggiore distanza genetica si osserva tra i frutti e la popolazione di Serle (Pre +Bre) dove sono stati riscontrati individui di marrone

La popolazione di Meder geograficamente più isolata mostra una chiara similarità genetica tra frutti e piante madri

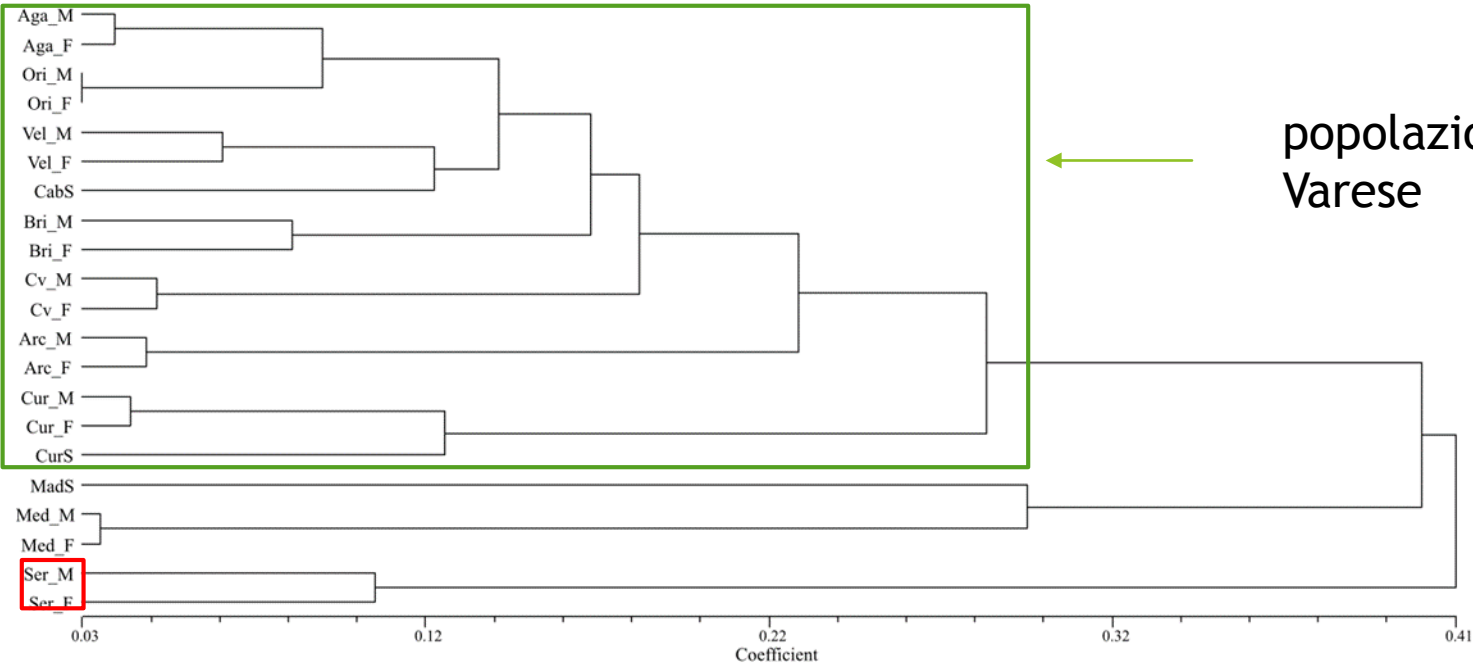
UPGMA



# Struttura e distanza genetica tra le popolazioni delle due aree di campionamento



L'analisi dei popolamenti da frutto, dei popolamenti selvatici e dei frutti confermano la divergenza delle popolazioni di Varese e di Brescia



# Identità del germoplasma Lombardo

Varietà clonali?

Varietà popolazioni?

Sinonimia / omonimia con varietà italiane?

BreP24	20	Marrone
BreP22	0	Marrone
BreP21	0	Marrone
BreP20	0	Marrone
BreP8	0	Marrone
BreB5	0	Marrone
BreB4	0	Marrone
BreB1	0	Marrone
Pre37	0	Marrone
Pre36	0	Marrone
Pre35	0	Marrone
Pre34	0	Marrone
Pre33	0	Marrone
Pre30	0	Marrone
Pre29	0	Marrone
Pre28	0	Marrone
Pre27	0	Marrone
Pre26	0	Marrone
Pre25	0	Marrone
Pre14	0	Marrone
BreP5	4	Rossera
BreP4	0	Rossera
Pre31	0	Rossera
Pre12	0	Rossera

Cv5	2	nd
Cv1	0	nd
Cur6	2	nd
Cur3	0	nd
Bri5	2	nd
Bri2	0	nd
Bri19	3	nd
Bri17	0	nd
Bri4	0	nd
Ori8	2	nd
Ori7	0	nd

individui clonali tra  
le piante madri:  
Marroni e Rossera

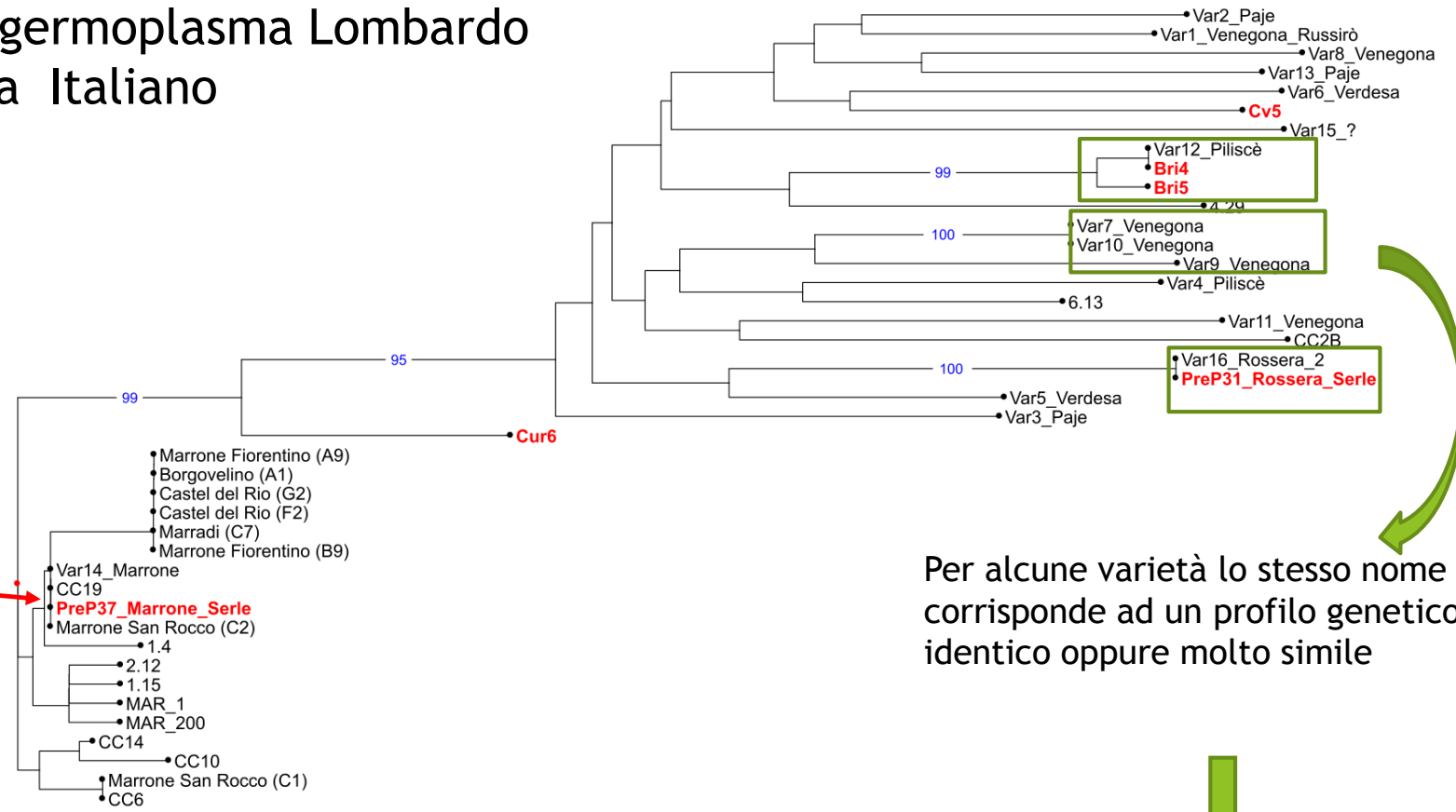
Id	VARIETA'
Var1	Venegona o Russirò
Var2	Pajè
Var3	Pajè
Var4	Piliscè
Var5	Verdesa
Var6	Verdesa
Var7	Venegona
Var8	Venegona
Var9	Venegona
Var10	Venegona
Var11	Venegona
Var12	Piliscè
Var13	Pajè
Var14	Marrone
Var15	?
Var16	Rossera
PreP31	Rossera
PreP37	Marrone
Cur6	nd
Cv5	nd
Bri4	nd
Bri5	nd

Campionamento  
2021  
Individui a cui è  
attribuito un nome  
varietale

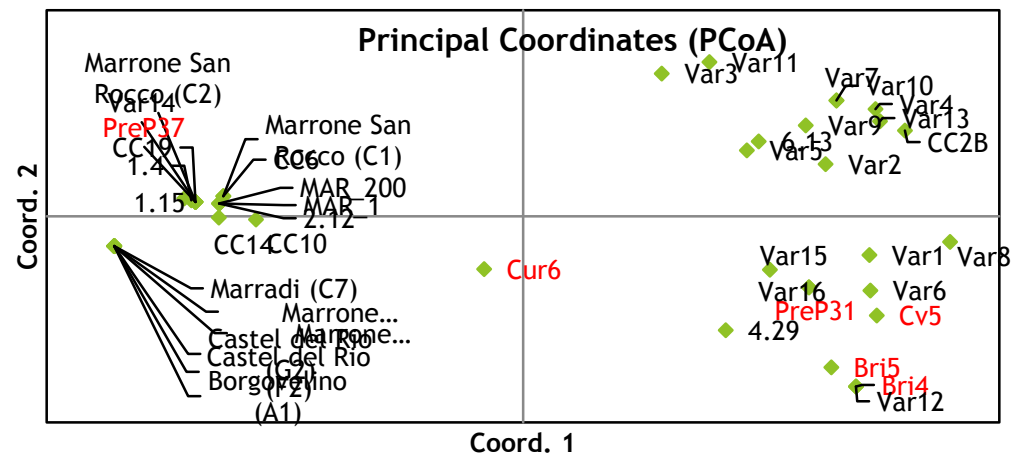
Confronto con la banca dati  
IRET

# Confronto tra germoplasma Lombardo e germoplasma Italiano

Il genotipo «marrone di Serle» è geneticamente simile ai Marroni Italiani



Id	VARIETA'
Var1	Venegona o Russirò
Var2	Pajè
Var3	Pajè
Var4	Piliscè
Var5	Verdesa
Var6	Verdesa
Var7	Venegona
Var8	Venegona
Var9	Venegona
Var10	Venegona
Var11	Venegona
Var12	Piliscè
Var13	Pajè
Var14	Marrone
Var15	?
Var16	Rossera
PreP31	Rossera
PreP37	Marrone
Cur6	nd
Cv5	nd
Bri4	nd
Bri5	nd



Per alcune varietà lo stesso nome corrisponde ad un profilo genetico identico oppure molto simile

I genotipi Bri4, BRI5 ( gruppo clonale area Varese) sono la varietà Piliscè?

### CONCLUSIONI

Sono stati osservati due gene pools differenti nelle due aree di studio

La diversità genetica tra le due zone è comparabile

La maggiore presenza di individui clonali nell'area di Brescia indica una gestione differente dei castagneti, un maggiore uso della tecnica di innesto

Il risultato dell'analisi genetica conferma l'origine da seme della popolazione di Meder

Alcuni individui appartenenti alla stessa varietà sono clonali altri hanno profili simili

Varietà popolazioni?



### PROSPETTIVE FUTURE

progetto PSR CASTANEVAL

Chiarire l'identità genetica delle varietà presenti nelle due aree di studio

Giugno e Ottobre 2023 campionamento varietà

Analisi genetiche in corso e risultati CASTANEVAL