

SEDE LEGALE

Via Po, 14 - 00198 Roma

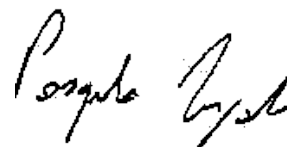
T +39 06 47836.1

C.F. 97231970589 **P.I.** 08183101008

SCHEDA DI PROGETTO

Istituzione	CREA- Centro di Ricerca Orticoltura e Florovivaismo CREA OF
Titolo del progetto	Identificazione di polimorfismi genetici in varietà locali di peperone collezionate da ARSIAL nel Lazio
Indirizzo	Via dei Cavalleggeri 25, Pontecagnano (SA)
Responsabile scientifico e partecipanti	Responsabile: Pasquale Tripodi
Contributo richiesto	€ 11.535,48

Firma del Responsabile



Orticoltura e Florovivaismo

Via Cavalleggeri, 25 - 84098 Pontecagnano (SA)
Corso degli Inglesi, 508 - 18038 Sanremo (IM)
Via Salaria, 1 - 63030 Monsampolo del Tronto (AP)
Via dei Fiori, 8 - 51017 Pescia (PT)

@ of@crea.gov.it **f** of@pec.crea.gov.it **f** **W** www.crea.gov.it

T +39 089 386211
T +39 0184 69481
T +39 0735 701706
T +39 0572 451033

Titolo del progetto	Identificazione di polimorfismi genetici in varietà locali di peperone collezionate da ARSIAL nel Lazio
----------------------------	---

Responsabile scientifico e partecipanti	Responsabile: Pasquale Tripodi
--	---------------------------------------

Contributo richiesto	€ 11.535,48
-----------------------------	--------------------

PREMESSA

Il “Piano Settoriale d’Intervento per la tutela delle risorse genetiche autoctone di interesse agrario (LR 15/2000) - triennio 2018-2020” e i relativi Programmi Operativi della Regione Lazio, indicano la necessità di avviare indagini di caratterizzazione genetico molecolare delle accessioni di specie ortive collezionate nel corso del censimento svolto da ARSIAL, ed in particolare per il peperone si specifica che le accessioni della varietà locale Cornetto di Pontecorvo, già iscritta al Registro Volontario Regionale, siano confrontate con varietà locali simili e con varietà commerciali della stessa tipologia. ARSIAL, in passato, ha svolto una caratterizzazione morfologica e agronomica, ed effettuato una valutazione del profilo sensoriale delle bacche prodotte dalla varietà locale (Rea et al., 2014).

La varietà locale “Peperone Cornetto di Pontecorvo” viene coltivata da numerosi agricoltori nell’areale *in situ*: Pontecorvo, Esperia, S. Giorgio a Liri, Pignataro Interamna, Villa S. Lucia, Piedimonte S. Germano, Aquino, Castrocielo, Roccasecca, San Giovanni Incarico (FR).

Al fine di individuare le opportune strategie per la conservazione *in situ/on farm* della varietà locale “Peperone Cornetto di Pontecorvo” ed a completamento delle indagini già avviate dal CREA-OF sulla predetta varietà locale del Lazio (Mennella et al., 2018) risulta pertanto necessario ampliare il precedente studio di confronto tra le varietà locali a tipologia Cornetto, verificando la variabilità genetica presente tra le accessioni degli agricoltori della Rete di Conservazione e Sicurezza del Lazio, in confronto con le altre varietà locali, simili per tipologia, presenti nelle Regioni limitrofe.

Nell'ambito dell'Accordo di Collaborazione sottoscritto da ARSIAL e CREA per la realizzazione di progetti di ricerca a supporto delle attività inerenti la tutela e la conservazione delle risorse genetiche tutelate dalla L.R. n. 15/2000, ARSIAL e CREA-OF hanno individuato le linee di attività del presente progetto per avviare la caratterizzazione genetico molecolare delle accessioni di peperone collezionate da ARSIAL in confronto con la collezione di varietà locali di peperone autoctone dell'Italia centro-meridionale (Campania e Marche) presente presso il CREA-OF.

1. Competenze Istituzione in relazione al progetto

L'Istituzione proponente Centro di Ricerca Orticoltura e Florovivaismo (CREA OF), svolge ricerche con approcci integrati e multidisciplinari per il miglioramento genetico, la valorizzazione della biodiversità, l'innovazione agronomica e la difesa ecocompatibile di specie coltivate in pieno campo e sotto serra, orticole, aromatiche, floricole - ornamentali, per l'arredo urbano e delle produzioni vivaistiche. Gli obiettivi di ricerca ed innovazione si concretizzano nell'aumento sostenibile della produttività, della redditività e dell'efficienza delle risorse negli agro-ecosistemi; nella valorizzazione delle risorse genetiche e dei servizi ecologici e sociali provenienti dall'agricoltura; nella sicurezza alimentare legata a qualità, tipicità dei prodotti agricoli e stili di vita.

Le attività di ricerca nell'area della genetica e genomica, hanno come obiettivo la caratterizzazione della diversità delle colture con approcci genetici innovativi e lo sviluppo di nuovi materiali genetici avanzati mediante programmi di selezione assistita da marcatori molecolari. Le specie orticole principali sono peperone, rucola, melanzana, pomodoro e leguminose da granella.

2. Descrizione della ricerca

2.1. Stato dell'arte specifico

Il peperone è una specie appartenente alla famiglia delle *Solanaceae* che annovera molte delle colture più importanti dal punto di vista economico/industriale e nutrizionale tra cui pomodoro, patata, melanzana, tabacco e caffè. Il genere di appartenenza *Capsicum*, comprende circa 38 specie (<http://www.theplantlist.org/>) che si possono suddividere in due maggiori raggruppamenti: specie a dodici ($2n=2x=24$) ed a tredici ($2n=2x=26$) cromosomi. La specie maggiormente diffusa è *C. annuum* che comprende la maggior parte delle accessioni coltivate e consumate in diversi areali nel mondo. I peperoni sono stati introdotti dall'America tropicale e subtropicale (centro di origine) dalle Indie Occidentali in Europa nel 1493 dopo il primo viaggio di Cristoforo Colombo. Successivamente si sono diffusi in Africa e Asia. Le varietà di peperone esistenti e coltivate in tutto il mondo sono molteplici e si differenziano per forma, dimensione e colore. L'Italia è tra i primi paesi coltivatori in Europa con una produzione di circa duemila tonnellate su una superficie di circa 9.000 Ha (Fonte dati: Istat). Diverse sono le varietà locali che sono state selezionate nei vari areali nazionali con potenzialità per il consumo diretto, legate all'elevato contenuto di sostanze nutritive e con effetti benefici sulla salute.

L'importanza di questa specie ha dato notevole impulso nel corso degli anni alla comunità scientifica che ha contribuito a decifrarne la sequenza del genoma. In particolare, il genoma di peperone è stato recentemente sequenziato da due consorzi internazionali che ne hanno stabilito la dimensione (~3.5 Gb, uno dei più grandi nell'ambito delle *Solanaceae*) ed il numero di geni (circa 35.000). La possibilità di conoscere sequenze complete del genoma apre le porte all'utilizzo di metodologie di indagine avanzata per lo studio della diversità genetica di varietà locali. Tra queste, ci sono tecniche basate sulla frammentazione del DNA mediante restrizione e successivo sequenziamento dei frammenti (*genotyping by sequencing*). Tale strategia permette di individuare dai 70 ai 100 mila marcatori polimorfici singolo nucleotide (SNP) distribuiti su tutto il genoma. La disponibilità della sequenza dell'intero genoma di peperone permette di posizionare con precisione

sui 12 cromosomi, i marcatori individuati e determinare quelli che ricadono nei geni di interesse o nelle regioni intergeniche. Tale metodologia già utilizzata in peperone (Taranto et al., 2016) consente di identificare in modo univoco accessioni diverse di una varietà locale, come ad es. il “Peperone Cornetto di Pontecorvo” ed, in comparazione con altre tipologie, di determinare le relazioni filogenetiche ed effettuare studi comparativi (*“Occurrence of variable levels of health-promoting fruit compounds in horn-shaped Italian sweet pepper varieties assessed by a comprehensive approach”* G. Mennella, A. D’Alessandro, G. Francese, D. Fontanella, M. Parisi and P. Tripodi, *J Sci Food Agric*, 2018).

2.2 Obiettivi

L’obiettivo è identificare i polimorfismi genetici di accessioni locali di peperone della regione Lazio al fine di investigare la diversità genetica e determinarne l’univocità rispetto a tipologie simili coltivate presso aziende ed agricoltori locali della regione Lazio e zone limitrofe. L’analisi della variabilità interna alle popolazioni locali è proposta sia al fine di individuare opportune strategie per la conservazione in situ/on farm, sia al fine di verificare la possibile iscrizione come “varietà da conservazione” al Registro Nazionale.

2.3 Piano di attività

Il piano di attività prevede l’individuazione delle accessioni della collezione ARSIAL da sottoporre allo studio della diversità genetica.

L’approccio da seguire sarà il seguente:

- Scelta dei materiali da analizzare e di tipologie simili per studi comparativi;
- Estrazione di DNA da 3-5 piante ed analisi molecolari al fine di determinare l’omogeneità intra accessione;
- Analisi genetica (*fingerprinting*) delle accessioni selezionate.

Tutte le analisi saranno condotte con le tecniche genetiche più avanzate che prevedono lo sviluppo di marcatori SNPs ad alta densità (circa 100.000).

A tal fine la produzione di sequenze (attività di genotipizzazione) sarà fatta presso un provider esterno mentre le analisi e l’elaborazione dei risultati sono di competenza del CREA-OF.

Nella tabella a seguire, sono dettagliate le attività del progetto svolte dal CREA OF e vengono computate le ore di lavoro/uomo.

Tabella 1 - Elenco attività CREA OF da svolgere per l’analisi genetica di accessioni della varietà locale Peperone Cornetto di Pontecorvo

ATTIVITÀ	ORE
Controllo qualità dei dati di sequenza	66
Chiamata degli SNP su genoma di riferimento	46
Filtering dei dati di sequenza	12
Analisi di struttura della collezione	52
Analisi di diversità genetica	60
Identificazione dei migliori polimorfismi	10
Ottenimento ed elaborazione di dendrogrammi	10
Stime duplicazioni	14
Totale ore	270

Risulta necessario specificare che le attività svolte dal personale CREA OF, nell'ambito dell'accordo di collaborazione stipulato con ARSIAL, non costituiscono un costo reale. Pertanto, per la quantificazione economica, del contributo apportato dal CREA OF alla realizzazione del progetto, si è tenuto conto di un costo orario medio del personale direttamente coinvolto pari a 30 €/ora.

Tutte le analisi saranno condotte con le tecniche genetiche più avanzate che prevedono lo sviluppo di marcatori SNPs ad alta densità (circa 100.000).

2.4 Articolazione temporale delle attività

1° fase selezione dei materiali, estrazione DNA, genotipizzazione

2° fase Identificazione dei polimorfismi ed analisi dei dati

2.5 Risultati attesi

Ottenimento di profili molecolari dettagliati per ciascuna accessione oggetto di studio e confronto con le altre varietà locali e/o commerciali utilizzate dagli agricoltori.

2.6 Ricadute e benefici

Le ricadute riguardano la possibilità di discriminare in modo univoco le accessioni in corso di studio determinando le varietà locali di riferimento per gli agricoltori. Infatti ARSIAL gestisce e coordina la Rete di Conservazione e Sicurezza (Rete), a cui aderiscono i detentori delle risorse genetiche autoctone, favorendo la conservazione *in situ/on farm* delle varietà locali e la riproduzione/moltiplicazione di tali materiali anche al fine di renderlo disponibile agli operatori agricoli che ne facciano richiesta. Ulteriore ricaduta per ARSIAL consiste nell'integrazione della scheda varietale del "Peperone Cornetto di Pontecorvo" in vista di una eventuale iscrizione come "varietà da conservazione" al Registro Nazionale delle sementi.

Per il CREA-OF le ricadute sono rappresentate dal completamento delle indagini sulle varietà locali di peperone a tipologia Cornetto (Mennella et al., 2018) e l'implementazione della banca dati del CREA OF relativa alle varietà locali di peperone dell'Italia centro-meridionale.

Costi per la realizzazione del progetto

	Anno	Totale (iva inclusa)
Genotipizzazione (96 campioni) ¹	I/II	10.611,00 €
Estrazione DNA (100 campioni)	I	224,48 €
Missioni	I/II	700,00 €
Attività CREA OF ² (270 ore x 30 €/ora)	I/II	8.100,00 €
TOTALE EURO		19.635,48 €

¹ Il costo prevede la produzione di dati genomici grezzi e non l'analisi di questa che sarà effettuata presso il CREA- OF

² Costo sostenuto da CREA- OF ma non rendicontato

Importo richiesto a contributo e rendicontabile

	Anno	Totale (iva inclusa)
Genotipizzazione (96 campioni) ¹	I/II	10.611,00 €
Estrazione DNA (100 campioni)	I	224.48 €
Missioni	I/II	700,00 €
Attività CREA OF ²	I/II	0,00 €
TOTALE EURO		11.535,48 €