

Caratterizzazioni morfo-fenologiche e molecolari di germoplasma siciliano di mandorlo: primi risultati

Monte M.^{1*}, Sottile F.¹, Gentile A.², Caruso M.², Continella G.², Barbera G.¹

¹ Dipartimento di Colture Arboree, Università di Palermo, viale delle Scienze 11, 90128 Palermo

² Dipartimento di OrtoFloroArboricoltura e Tecnologie Agroalimentari, Università di Catania, via S. Sofia 100, 95100 Catania

Morpho-phenological and molecular characterization of sicilian almond germplasm: first results.

Abstract. The Sicilian almond germplasm results a big source of variability. A deep study on the accessions still available allowed to set up an on farm collection-field. The *ex situ* collection, named "Museo vivente del mandorlo F. Monastra", is located in Agrigento (Valle dei Templi); it was completed at the end of the 90s. Some biometric studies regarding the characterization of the accessions were carried out using the official IPGRI descriptor list. These observations were useful to define a morphological description evidencing a high diversity. A bio-molecular study was approached in 2005 by using RAPD primers on 20 accessions collected in the *ex situ* field including as control 3 cultivars internationally known: Pizzuta d'Avola, Ferragnés and Falsa Barese.

Key words: almond, germplasm, RAPD.

Introduzione

Il mandorlo è specie notoriamente tipica del paesaggio agricolo meridionale e ha, oltre tutto, rappresentato per decenni un solido strumento di reddito per l'agricoltura in Sicilia. Le esigenze ecologiche della specie hanno trovato ampia corrispondenza con le caratteristiche di diversi ambienti siciliani contribuendo, quindi, ad una forte presenza della stessa in coltura promiscua prima e specializzata dopo. Dopo un lungo periodo di declino che ha visto una sensibile riduzione delle superfici e delle produzioni con repentina perdita di importanza del contributo siciliano alla produzione mondiale di mandorlo, nell'ultimo decennio si assiste ad un rinnovato interesse per la coltura grazie anche

all'adozione di tecniche colturali innovative.

Le diversità ambientali del territorio siciliano e la presenza di un numero elevato di varietà di mandorlo, con caratteristiche bio-agronomiche a volte differenti tra loro, hanno contribuito a generare la biodiversità di cui ancora oggi, in buona parte, si dispone. In tale contesto, infatti, bisogna ricordare che le cultivar di mandorlo, come è noto, presentano un particolare comportamento biologico (prevalente autosterilità) che certamente ha contribuito a generare la variabilità esistente nel patrimonio varietale siciliano mentre la prevalente adozione della propagazione gamica fino agli inizi del secolo scorso ha contribuito a diffonderla.

L'effetto di una siffatta diversificazione è stato quello di fare annoverare, ad oggi, oltre 200 accessioni di mandorlo che sono state raccolte dal 1997 presso il "Museo Vivente del Mandorlo F. Monastra" realizzato nella Valle dei Templi di Agrigento. Nello specifico, si tratta di varietà, accessioni e cultivar in collezione *ex situ*, provenienti da differenti areali siciliani e poste nelle medesime condizioni ecologiche, pedologiche e fisiologiche. Della collezione fanno parte anche varietà alloctone, considerate come "varietà di riferimento" per le osservazioni.

Già alcune indagini preliminari (Sottile *et al.*, 2003: 2004) sono state utili a mettere in evidenza la grande variabilità esistente dal punto di vista fenologico e biometrico, ma lasciavano anche trapelare, con sufficienti evidenze, la possibilità che esistessero casi di omonimia e/o sinonimia tra le accessioni in studio.

A tale scopo, l'approccio molecolare è stato considerato quello che più di ogni altro potesse contribuire a chiarire la reale consistenza di una così vasta diversificazione varietale.

Materiale e metodi

Già da svariati anni sono stati condotti studi di natura biometrica sulle varietà in collezione presso il "Museo vivente del mandorlo F. Monastra", con l'ausilio di uno specifico *descriptor list* ma tutt'ora risultano non risolti alcuni dubbi legati a problemi di sinonimia e/o omonimia.

* mmonte@unipa.it

Lo studio è stato eseguito su 20 varietà che hanno mostrato tra loro differenti caratteristiche morfo-fenologiche (epoca di fioritura, produzione, caratteristiche qualitative dei frutti) e, contestualmente, tre varietà notoriamente conosciute anche a livello internazionale. Pizzuta d'Avola, Ferragnés e Falsa Barese che sono state utilizzate come riferimento.

Dal punto di vista carpologico sono state determinate la resa in sgusciato e il rapporto diametrico (diametro longitudinale/diametro trasversale) rispettivamente del seme e del frutto e sulla base di essi sono state calcolate le relative classi di frequenza (%). È stata, inoltre, determinata la percentuale di semi doppi.

Sotto il profilo molecolare sono stati utilizzati differenti marcatori RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA); il DNA è stato estratto da giovani foglie utilizzando il Kit GenElute® (Sigma-Aldrich). Lo studio ha previsto un test preliminare con 80 primer decameri della Operon Technologies (serie A, F, G, N, Z), che ha portato alla scelta di 35 di essi capaci di fornire polimorfismi chiari e nello stesso tempo ripetibili.

I dati ottenuti sono stati analizzati con il programma Phylogenetic Analysis Using Parsimony, utilizzando i metodi UPGMA e NJ (Swofford, 2002).

Risultati e discussioni

Le accessioni osservate presentano una discreta variabilità dal punto di vista fenologico (fig. 1) e morfologico, come mostra il fenogramma della fioritura. La fioritura ha inizio nella prima decade di febbraio per le varietà a fioritura precoce come la cv 'Nuciddara' mentre, per le varietà a fioritura tardiva, si è evidenziata nella prima decade di marzo. Tale

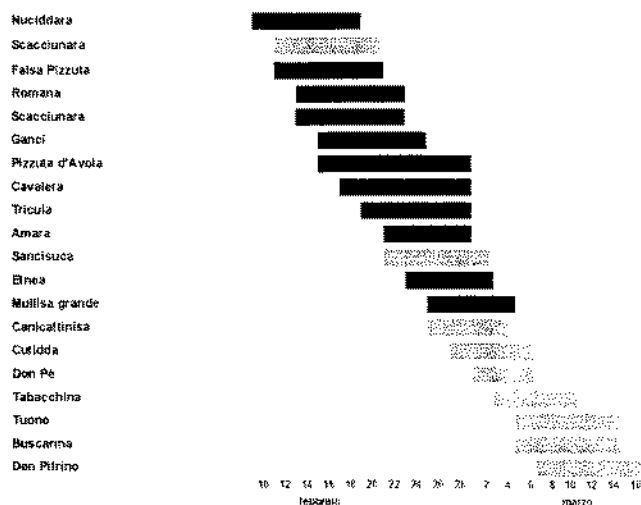


Fig. 1 - Fenogramma della fioritura delle accessioni osservate.
Fig. 1 - Blooming time of observed accessions.

variabilità risulta di estremo interesse in quanto proprio l'epoca di fioritura assume particolare importanza nel mandorlo in considerazione dell'elevato rischio da ritorni di freddo ed anomalie nella formazione del frutto con ricadute negative sulla quantità e qualità della produzione.

La valutazione delle classi di frequenza relative al rapporto diametrico (fig. 2) e alla resa in sgusciato (fig. 3) hanno evidenziato per il primo parametro un'elevata presenza di semi con un rapporto DL/DT tra 1,4 e 1,5, comportamento confermato anche dalle frequenze percentuali rilevate sui frutti.

Le classi di frequenza relative alla resa in sgusciato hanno evidenziato un'elevata percentuale di accessioni con valori percentuali compresi tra 20 e 25. La maggiore resa è stata registrata nella cv Scaccianara, con valori medi percentuali di 40,3 (tab. 1). Questo a conferma del nome attribuito a tale accessione che nel dialetto locale indica una certa facilità nello sgusciare le mandorle premici.

La percentuale di semi doppi, che si è dimostrata elevata in alcune accessioni, si è mantenuta costante negli anni di osservazione.

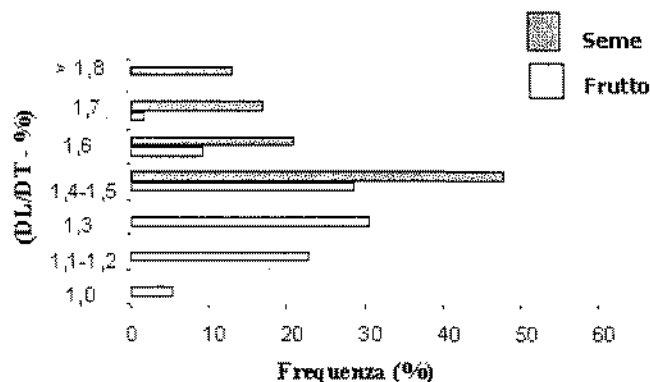


Fig. 2 - Classi di rapporto diametrico del seme e del frutto delle accessioni osservate.

Fig. 2 - Frequencies of diametric seed/fruit ratio of observed accessions.

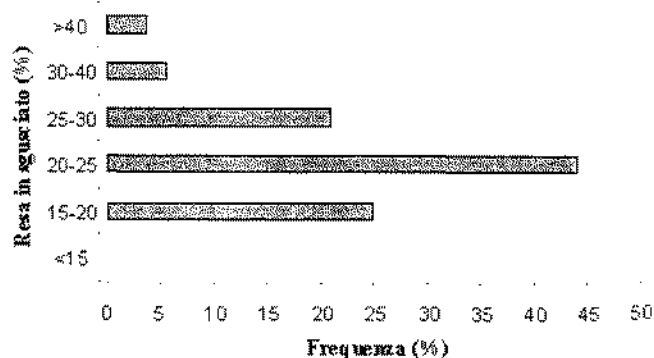


Fig. 3 - Classi di resa in sgusciato dei frutti delle accessioni osservate.

Fig. 3 - Frequencies of shelled almonds (%) of observed accessions.

Tab. 1 - Caratteristiche biometriche dei frutti e dei semi delle accessioni osservate.
 Tab. 1 - Pomological and qualitative traits of fruits and seeds of observed accessions.

Accessione	Peso in guscio	DL/DT frutto	DL/DT seme	Resa (%)	Semi doppi (%)
Etna	6,0	1,3	1,5	21,2	7
Tricula	4,5	1,4	1,5	23,6	0
Falsa Pizzuta	4,3	1,7	1,8	22,9	4
Spatola	5,1	1,8	2,0	20,9	29
Ganci	5,2	1,5	2,0	22,4	0
Mullisa Grande	5,5	1,4	1,7	23,1	0
Amara	4,1	1,5	1,7	19,3	2
Romana	5,9	1,5	1,7	17,0	28
Selvatica di Contino	4,7	1,8	2,2	21,2	0

Il risultato dell'analisi molecolare, rappresentato dai due dendrogrammi (figg. 5 e 6) ha messo in evidenza la presenza di due *cluster* principali.

Destano particolare attenzione le accessioni Pizzuta d'Avola e Falsa Pizzuta e Cavalera-a e Cavalera-b. Nel primo caso si conferma la diversa denominazione in quanto, già in fase preliminare, sono emerse diversità sul piano molecolare; ulteriori indagini devono essere effettuate per chiarire il livello di vicinanza tra le accessioni. Nel secondo caso si tratta probabilmente di "omonimia". Infatti anche se morfologicamente non si evincono differenze significative tra le due accessioni, i *primer* utilizzati hanno generato alcuni polimorfismi.

Il lavoro svolto ha consentito di evidenziare la necessità di approfondire le conoscenze sul patrimonio mandorlicolo siciliano. Ciò sia ai fini di una possibile valorizzazione di alcune cultivar con particolari caratteristiche bio-agronomiche (autofertilità, resa in sgusciato, assenza di semi doppi) che ai fini di una possibile valutazione dei caratteri posseduti per una più oculata scelta di parentali in programmi di miglioramento genetico.

Riassunto

La coltura del mandorlo in Sicilia è permeata da un'antica tradizione sulla quale per decenni si è con-

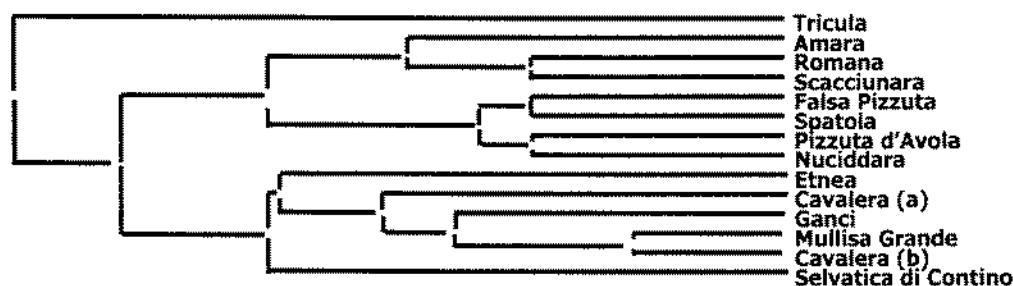


Fig. 5 - Dendrogramma ottenuto con il metodo unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA).
 Fig. 5 - Unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA) dendrogram.

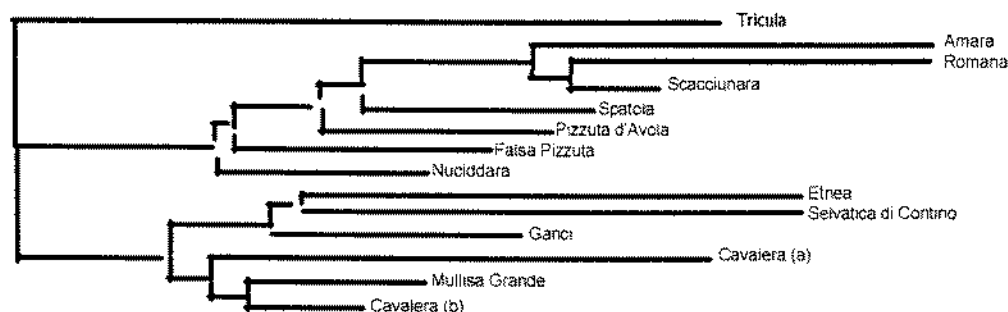


Fig. 6 - Dendrogramma ottenuto con il metodo neighbor-joining (NJ).
 Fig. 6 - Neighbor-joining (NJ) dendrogram.

solidata una risposta economica non indifferente. La biologia della specie, e la sua storica presenza sull'Isola, ha fatto sì che si costituisse un panorama varietale molto diversificato, ricco di 'ecotipi' locali selezionati empiricamente dagli agricoltori. Dopo diversi anni di alterne vicende fortemente legate ai mutamenti dell'agricoltura nazionale e regionale, si assiste oggi ad una nuova crescita di interesse per il mandorlo in Sicilia sia in termini di patrimonio genetico sia dal punto di vista colturale. Per salvaguardare una così ampia variabilità genetica, ma anche per favorire lo studio accurato delle accessioni afferenti al germoplasma mandorlicolo siciliano, alla fine degli anni novanta è stato realizzato un "campo-collezione", il Museo vivente del mandorlo F. Monastra", che racchiude in unico ambiente tutto il germoplasma di mandorlo che è stato possibile reperire in Sicilia. Questa collezione ha permesso, già da alcuni anni di effettuare sulle accessioni ivi presenti, una serie di osservazioni di natura biometrica, rilevate mediante l'uso di un descrittore morfologico, e di natura fenologica. Per un limitato numero di accessioni, tale studio ha condotto ad una preliminare caratterizzazione

di tipo morfologico mentre, per ulteriore approfondimento, si è ritenuto utile avviare studi che, su base molecolare, potessero fornire ulteriori elementi di conoscenza del patrimonio studiato. Lo studio è stato effettuato su 20 accessioni in collezione di cui tre di più ampia diffusione, anche a livello internazionale, utilizzate come riferimento, e ha previsto l'utilizzo di differenti marcatori RAPD.

Parole chiave: mandorlo, germoplasma, RAPD.

Bibliografia

- MIRALI N., NABULSI I., 2003. *Genetic diversity of almond (Prunus dulcis) using RAPD technique*. Sci. Hort. 98: 461-471.
- SOTTILE F., MONTE M., OMODEI F., BARBERA G., 2003. *Fertility index, flowering aspects and pomological traits on almond genotypes from different areas*. Proc. XIII Grempa Meeting - Mirandela (Pt), 1-3 June.
- SOTTILE F., MONTE M., OMODEI F., BARBERA G., 2004. *La biodiversità del mandorlo in Sicilia: aspetti fenologici e carpologici del germoplasma in conservazione ex situ*. VII Giornate Scientifiche SOI, Napoli.
- SWOFFORD D.L., 2002. *PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods) version 4*. Sinauer associates, Sunderland, Massachusetts:1-142.