

Dal seme alla farina: metodi tradizionali e innovativi per la tracciabilità genetica dei cereali

Chiara Delogu Lorella Andreani

SCS- Centro per la sperimentazione e certificazione delle sementi



SEME

Materiale destinato alla riproduzione delle piante coltivate

Primo stadio produttivo di una filiera complessa dal campo fino al consumatore che richiede prodotti sempre più diversificati e con caratteristiche specifiche



Tracciabilità

SEME

Fattore di produzione strategico della moderna agricoltura

- Le nuove varietà sono portatrici di innovative caratteristiche agronomiche e qualitative
- Gli incrementi produttivi in molte colture dipendono per almeno il 50% dall'introduzione di nuove varietà



Tracciabilità

Definizione di Varietà

Convenzione UPOV del 1991

*Insieme di individui coltivati identificabili mediante l'espressione delle caratteristiche risultanti da un dato genotipo o da una combinazione di genotipi, che si **distingue nettamente** da un qualsiasi altro insieme vegetale per almeno una delle suddette caratteristiche e che dopo cicli di moltiplicazione successive conservi le proprie **caratteristiche distintive***

alla base della filiera di produzione del seme

La filiera del seme

Solo le **VARIETA'** iscritte ai Registri Varietali nazionali o comunitari
DESCRITTE e **RICONOSCIBILI**



entrano nel processo di
CERTIFICAZIONE che
prevede la **PRODUZIONE** del **SEME** in
SUCCESSIONE GENEALOGICA CONTROLLATA



a garanzia della
QUALITA' TECNOLOGICA
e **GENETICA**
del **SEME** prodotto



Caratterizzazione varietale nei cereali

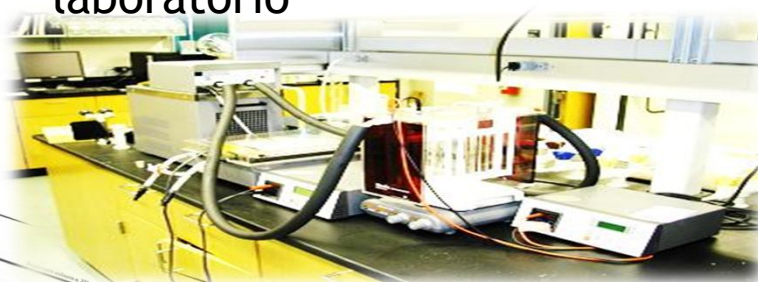
Prova di 2 anni

durante i quali la varietà è descritta nei suoi
caratteri essenziali

Caratteri morfofisiologici
rilevabili in campo durante
il ciclo di crescita e
sviluppo.



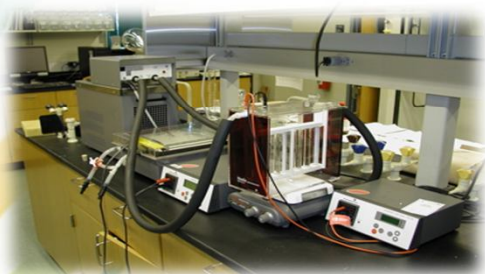
Caratteri biochimici
profili delle proteine di riserva
e degli isoenzimi rilevabili in
laboratorio



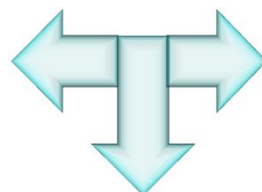
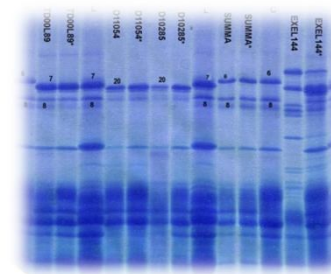
SCHEMA DESCRITTIVA

Registro varietale - profili biochimici

Corse elettroforetiche



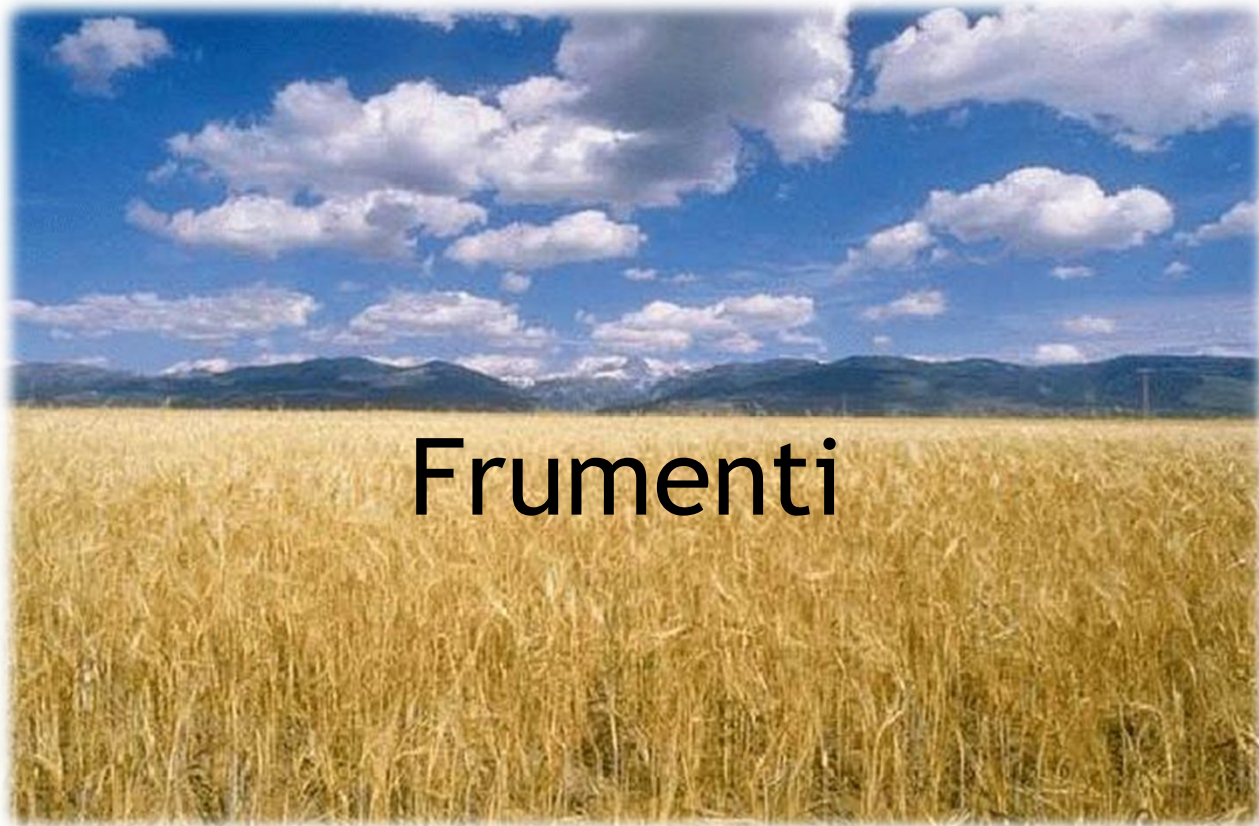
Interpretazione dei risultati



- Scansione del gel e archiviazione dell'immagine (orzo, frumento tenero e duro)
- Archiviazione dei profili elettroforetici in un database (orzo, frumento tenero e duro, mais)

Dal 1999 ad oggi sono stati descritti

- | | |
|--------------------|-------------------|
| • Mais-Ibridi | n di profili 2011 |
| • Mais- linee pure | n di profili 4500 |
| • Frumento tenero | n di profili 320 |
| • Frumento duro | n di profili 260 |
| • Orzo | n di profili 124 |

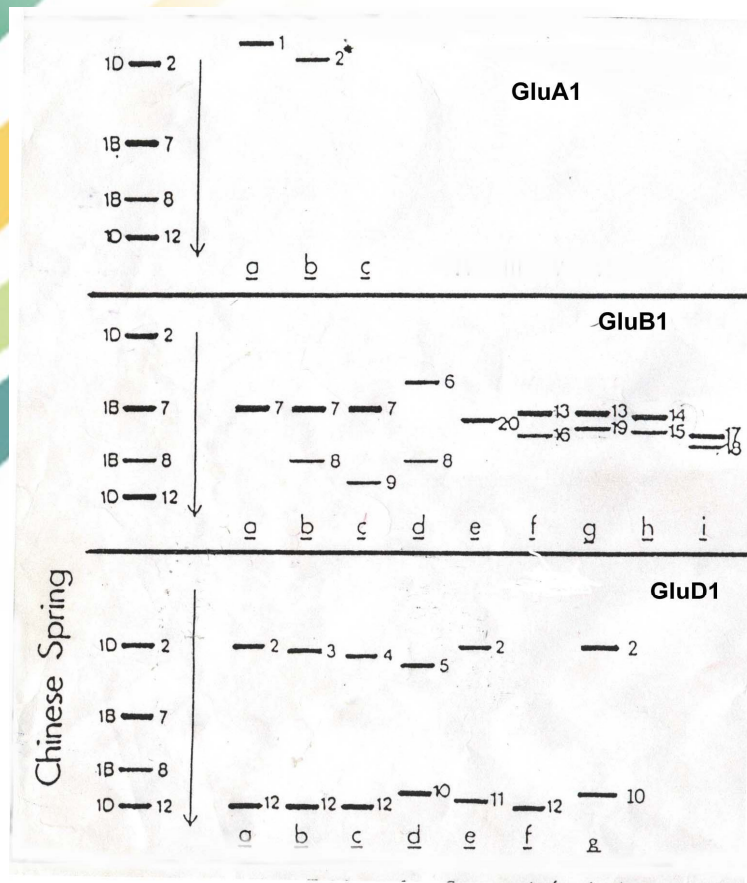


Frumenti

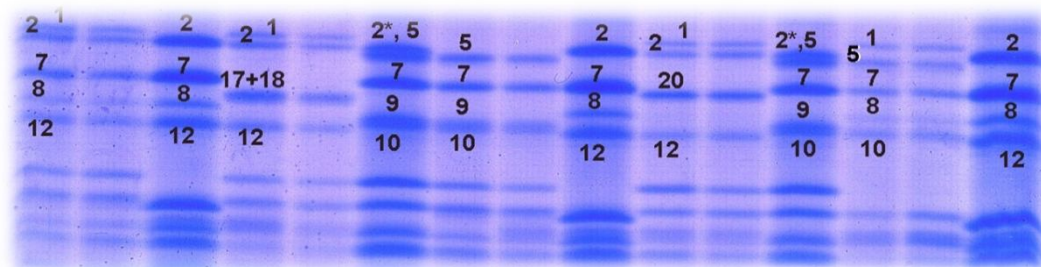


Marcatori biochimici Frumenti- Glutenine ad alto peso molecolare (SDS-PAGE)

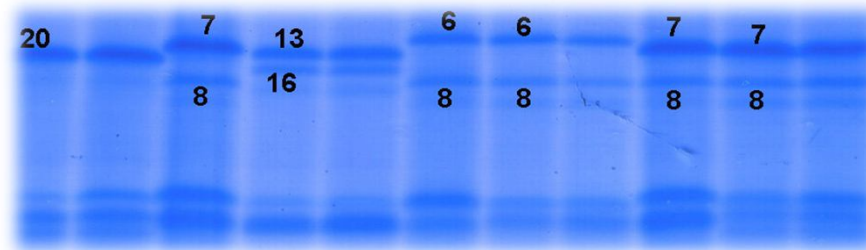
Nomenclatura delle bande



Frumento tenero

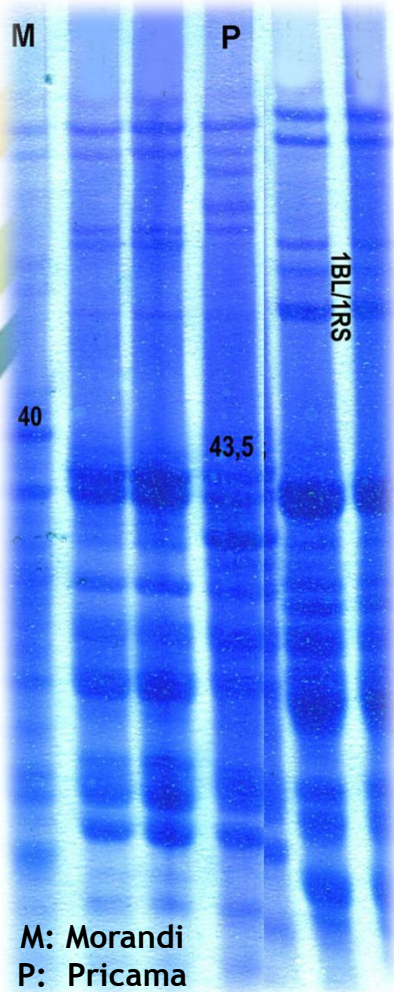


Frumento duro



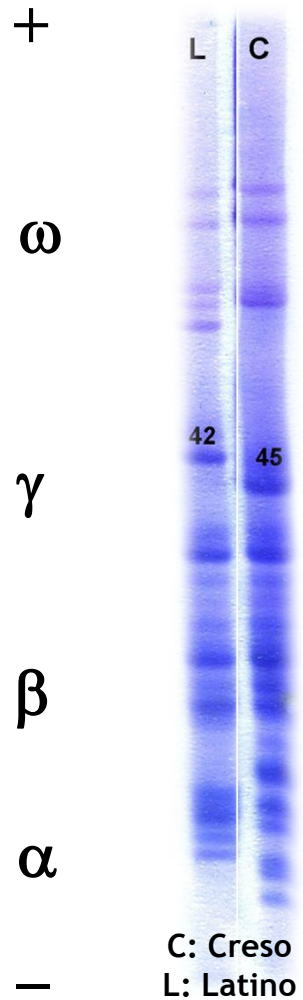
Marcatori biochimici Gliadine (A-PAGE)

Frumento tenero

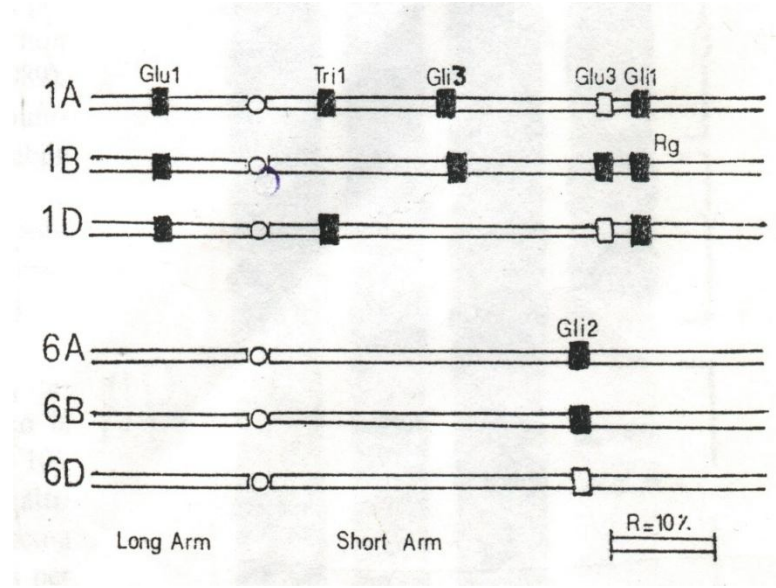


M: Morandi
P: Pricama

Frumento duro



C: Creso
L: Latino



• *Gli1* codifica per le γ -gliadine e le ω -gliadine

• *Gli2* codifica per le α -gliadine e le β -gliadine

Composizione proteica e qualità

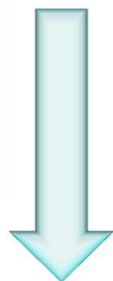
Profilo proteico



Qualità viscoelastiche
del glutine

Glutenine APM

Altamente estensibili

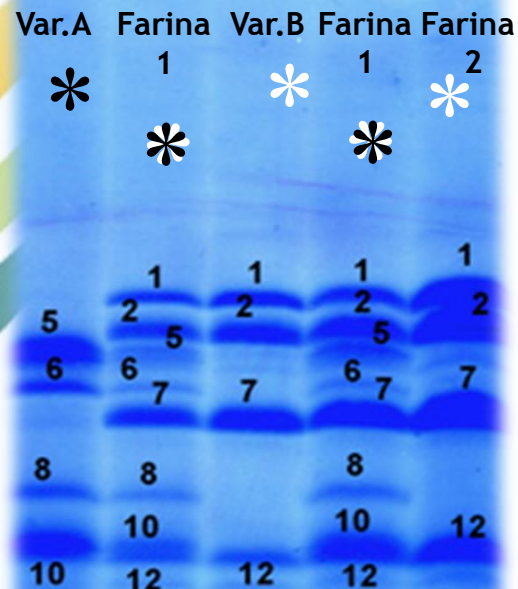


Altamente elastiche

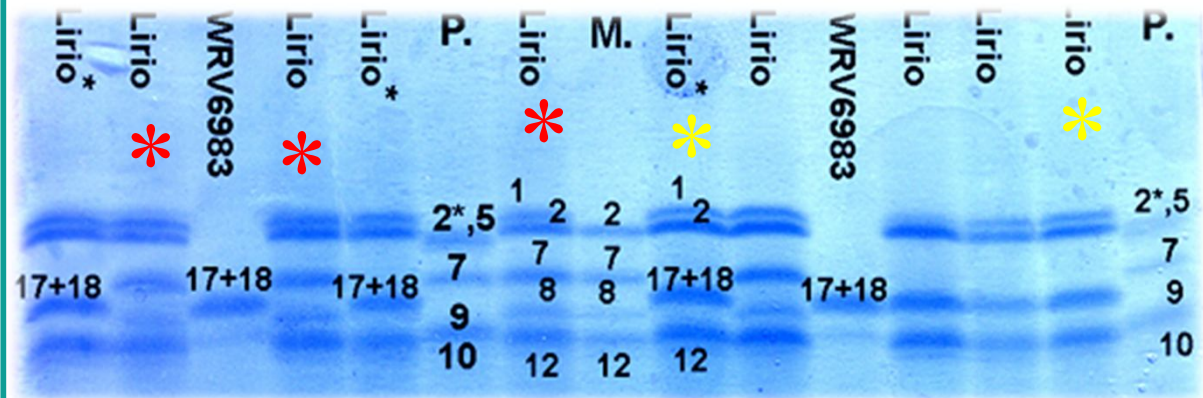
Subunità APM			
Punteggio	1A	1B	1D
6		17+18	5+10
5	2*	7+9	
4		7+8	
3	1		
2	nullo	7	2+12 3+12 4+12
1		20, 6+8	

Verifica della identità e purezza varietale



Caso1: Verifica della composizione varietale di farine di frumento tenero







Caso2: Verifica della omogeneità di una partita di granello di frumento tenero (analisi di 100 semi singoli)

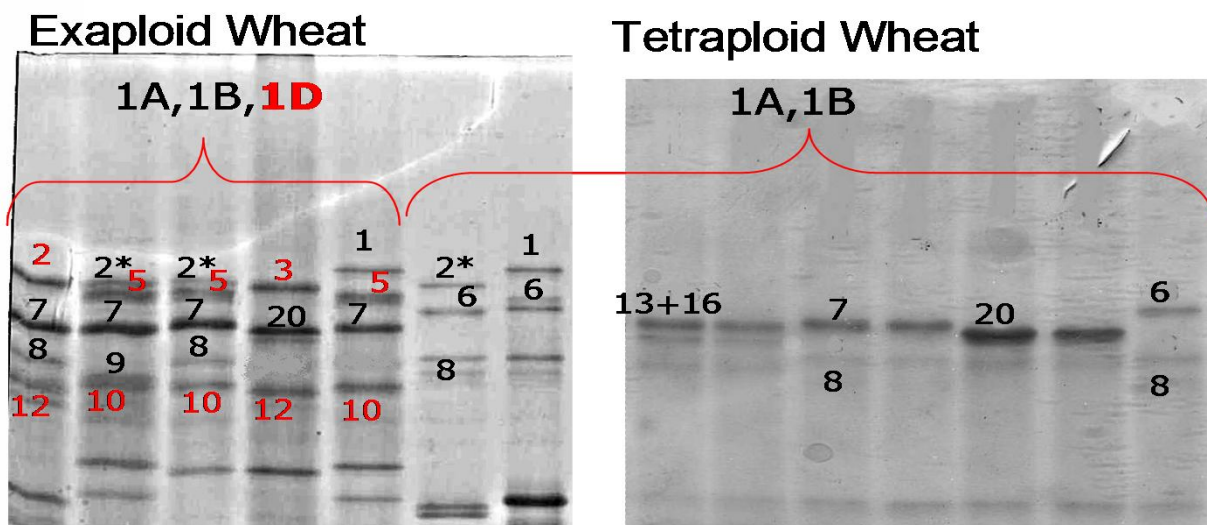


Presenza di individui con profili proteici diversi

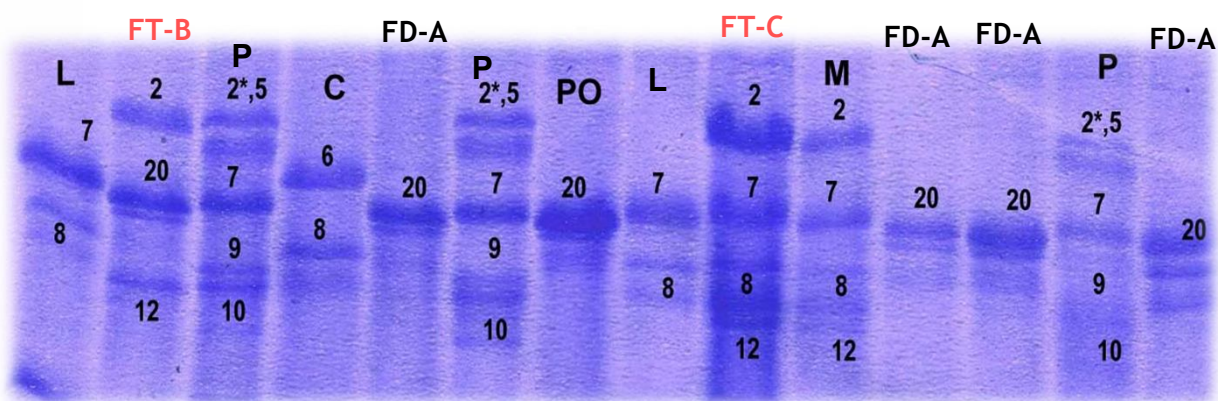
-  Profilo C : 1, 7+8, 2+12 P. qualitativo 9
-  Profilo D: 1, 17 +18, 2+12 P. Qualitativo 11

-  Profilo A: N,6+8,5+10 P. qualitativo 9
-  Profilo B: 1,7, 2+12 P. qualitativo 7
-  Farina 1: 1,6+8,7, 2+12,5+10 P. qualitativo 16
-  Farina 2: 1, 7, 2+12 P. qualitativo 7

Verifica delle specie e della varietà di una partita di granella



Esempio: granella di frumento duro inquinata da frumento tenero



FD-A: frumento duro var. A, FT-B: Frumento tenero var B, FT-C: Frumento tenero var C

Marcatori biochimici

PROTEINE DI RISERVA DEL SEME
ISOENZIMI



BASE GENETICA RELATIVAMENTE RISTRETTA



NUMERO DI PROFILI IDENTIFICABILI LIMITATO



RILEVABILI IN UN NUMERO LIMITATO DI MATRICI
SEME-GRANELLA, FARINA , COLEOPTILI

Marcatori molecolari

Tratti specifici di DNA che in virtù della loro presenza contraddistinguono in modo univoco la regione del genoma che li circonda.

- Sono completamente indipendenti dall'ambiente
- Le sequenze sono identiche indipendentemente dallo stadio di sviluppo della pianta e dal tipo di tessuto vegetale da cui viene estratto il DNA
- Il numero di loci che si possono studiare è teoricamente infinito



Numerosi marcatori molecolari sviluppati: RAPD, RFLP, PCR-RFLP, AFLP, ISSR, SCAR, CAPs, SSR, SNP.

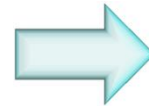
Marcatore IDEALE:

Caratteristiche genetiche

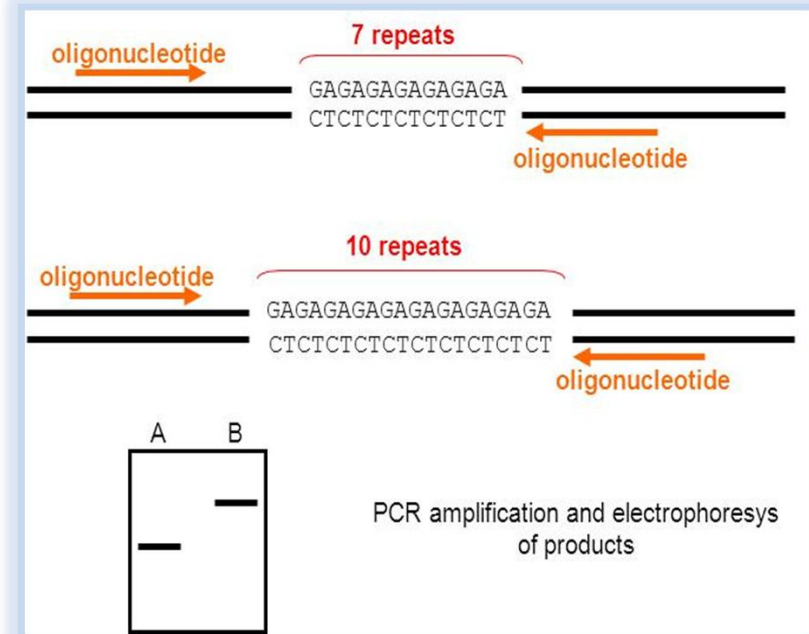
- Buon livello di polimorfismo;
- Ben distribuito nel genoma;
- Codominante (possibilità di identificare individui eterozigoti e omozigoti);

Caratteristiche tecniche

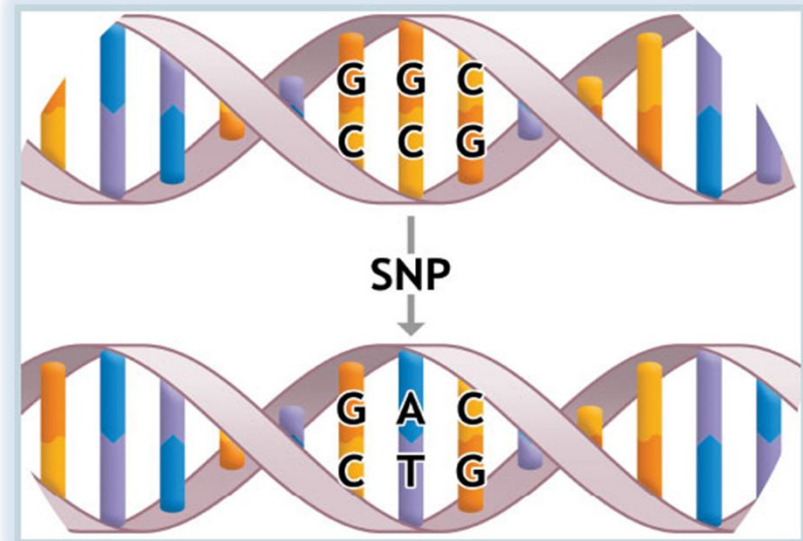
- Ripetibile;
- Stabile;
- Rapida esecuzione;
- Database risultati;
- Economicità.



SSR



SNP



Verifica identità varietale - MAIS

Problema: campo coltivato con disomogeneità tra gli individui.

Variazioni legate a fattori ambientali oppure differenze genetiche?

Prelievo campione



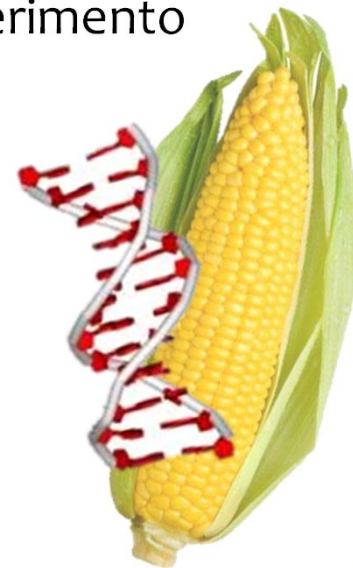
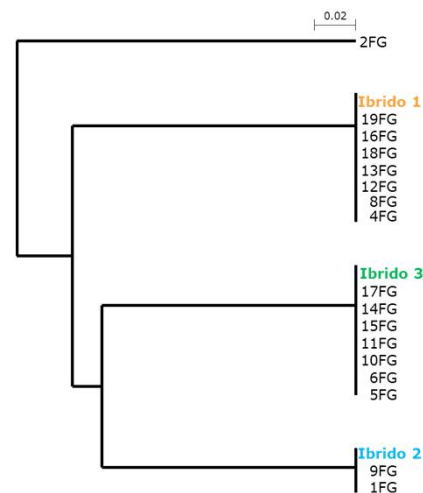
frammenti di foglie raccolti direttamente in campo

Analisi



12 Marcatori SSR – confronto con campione standard da collezione di riferimento

Risultati

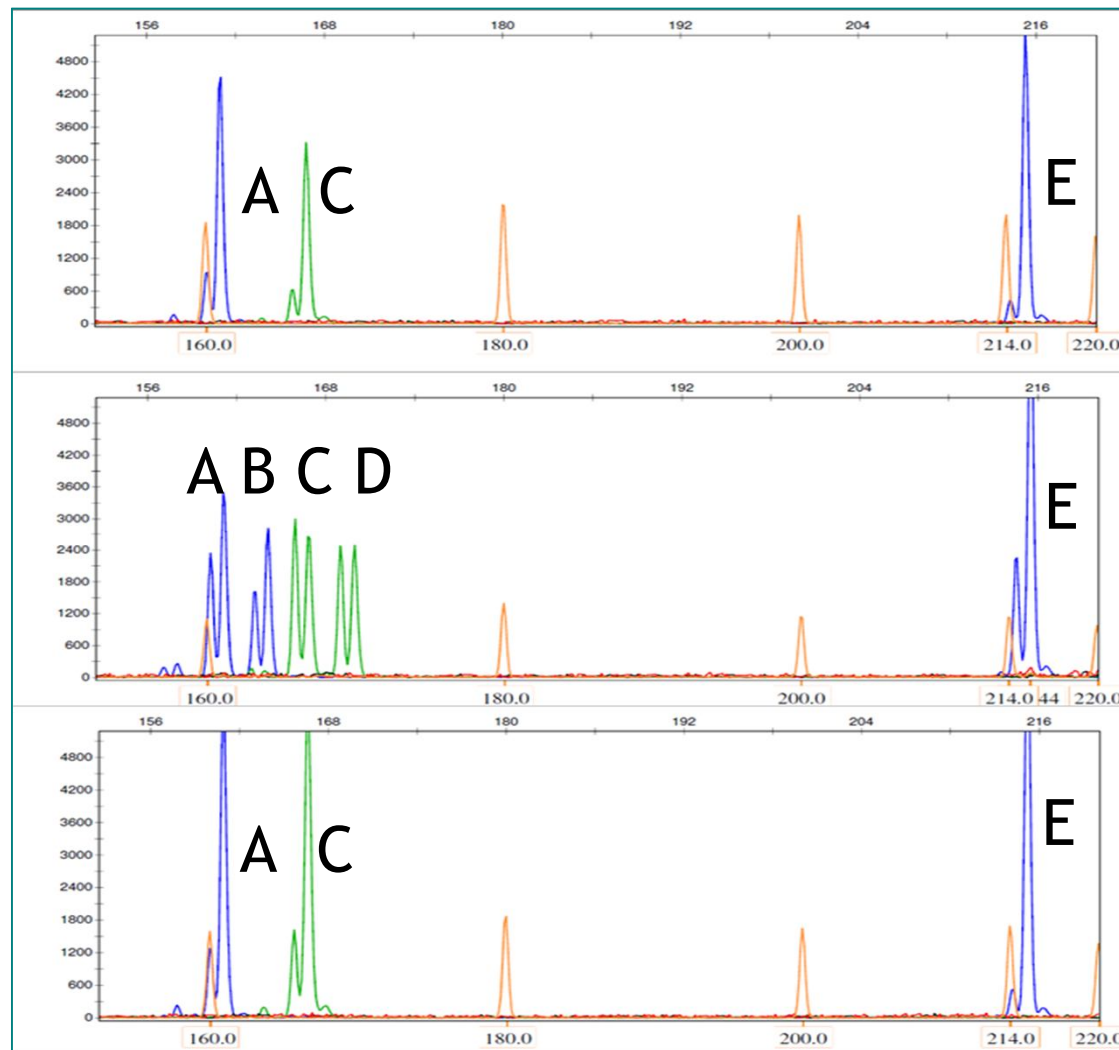


Verifica della qualità della materia prima - Granella di Frumento duro

Campione di riferimento con **OTTIMA RESA** alla lavorazione:
profilo molecolare **A C E**.

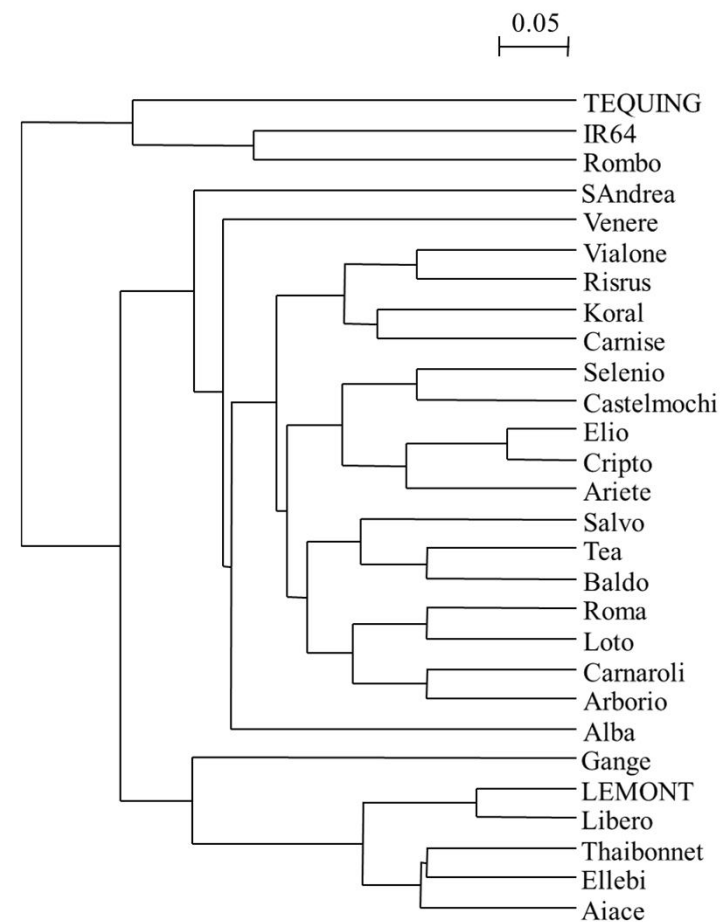
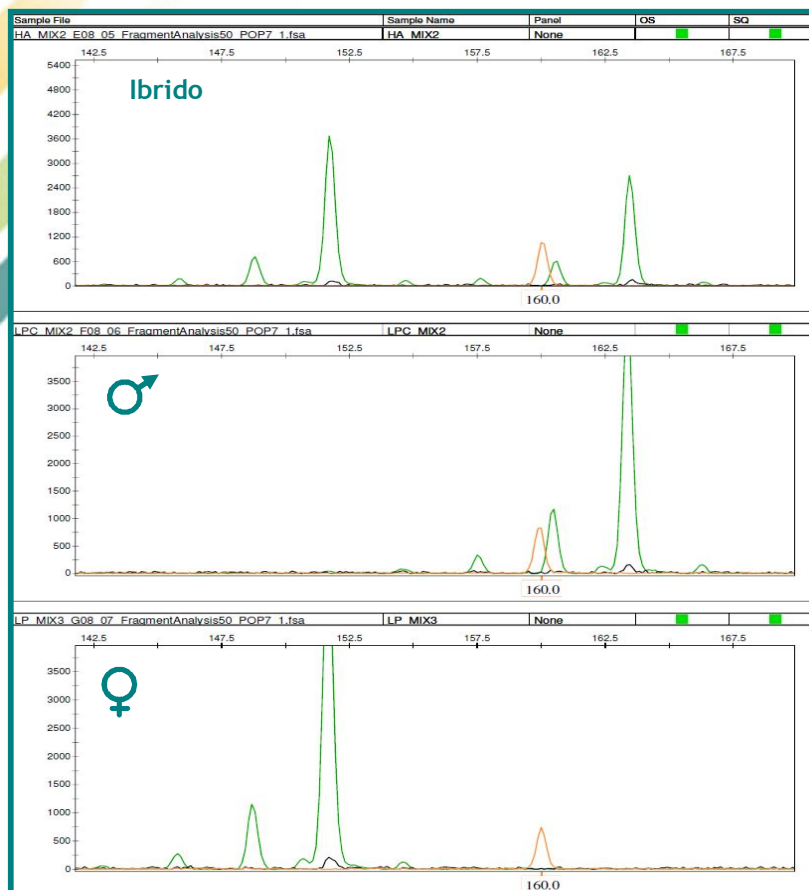
Campione con **BASSA RESA** alla lavorazione:
profilo molecolare **A B C D E**.

Campione con **OTTIMA RESA** alla lavorazione, paragonabile al campione di riferimento:
profilo molecolare **A C E**.



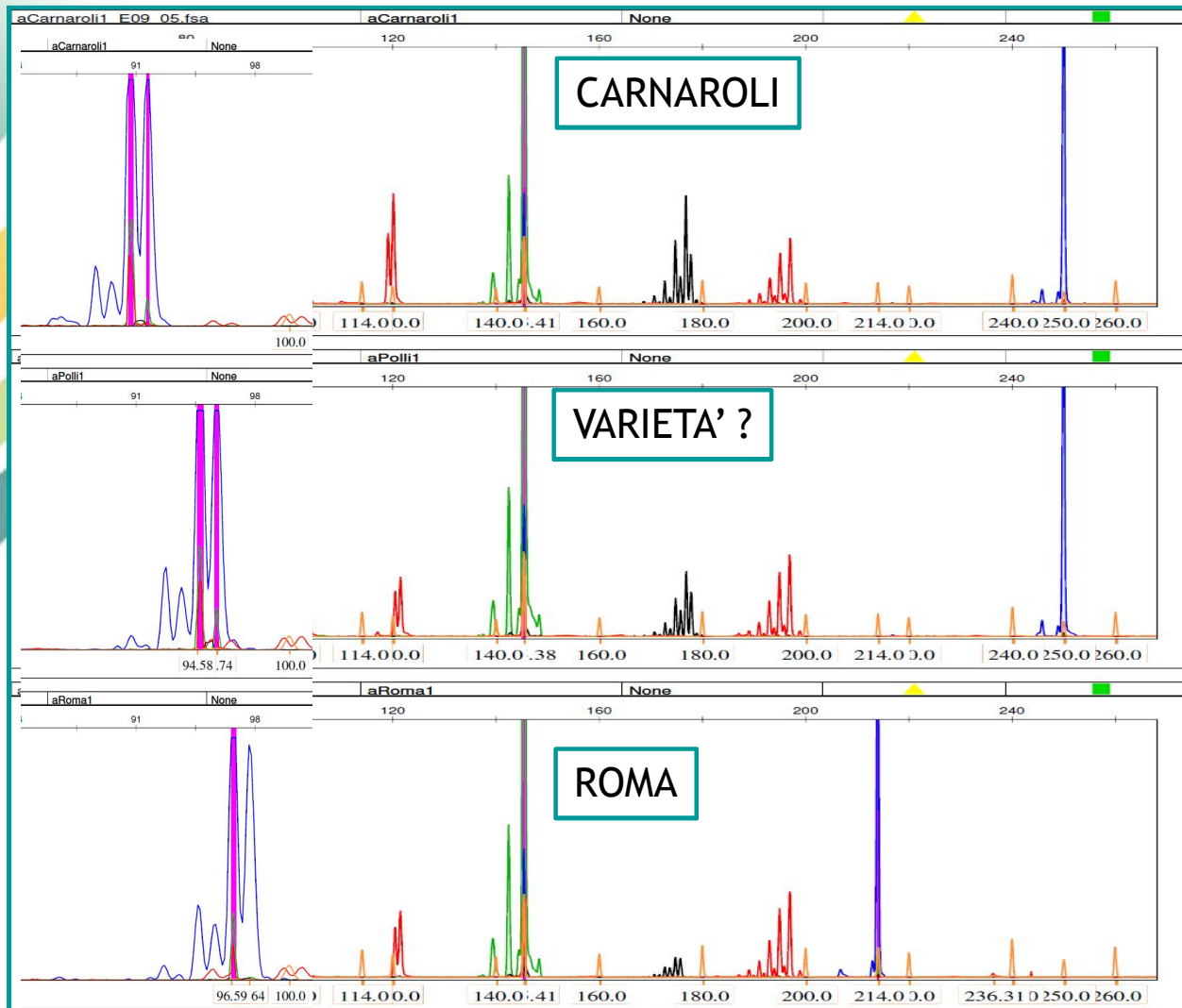
Riso - 12 loci microsatellite

- Caratterizzazione varietale
- Genotipizzazione di varietà antiche
- Verifica della formula delle varietà ibride



Riso -12 loci microsatellite

Risicoltore - verifica della qualità di granaglia di riso



Profilo molecolare di un campione di riferimento della varietà CARNAROLI

Lotto venduto al risicoltore come varietà CARNAROLI. Coltura precedente Roma

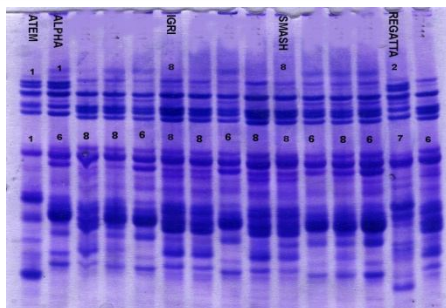
Profilo molecolare di un campione di riferimento della varietà ROMA

Progetto EUSAL

Obiettivo: identificazione di genotipi di frumento adatti alla panificazione con ridotto contenuto di sale - 54 varietà di frumento tenero e 17 di frumento duro

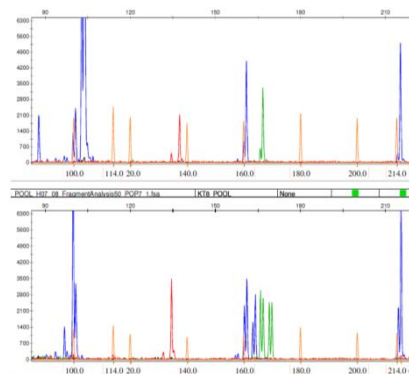
Marcatori biochimici 'tradizionali': PROFILI PROTEICI

- Verifica dell'identità varietale della produzione di 2 anni;
- Valutazione qualitativa e quantitativa dei profili proteici di ciascuna varietà.



Marcatori molecolari: MICROSATELLITI (SSR)

- Messa a punto di un set di marcatori microsatelliti utilizzabili per la tracciabilità dell'intera filiera produttiva.

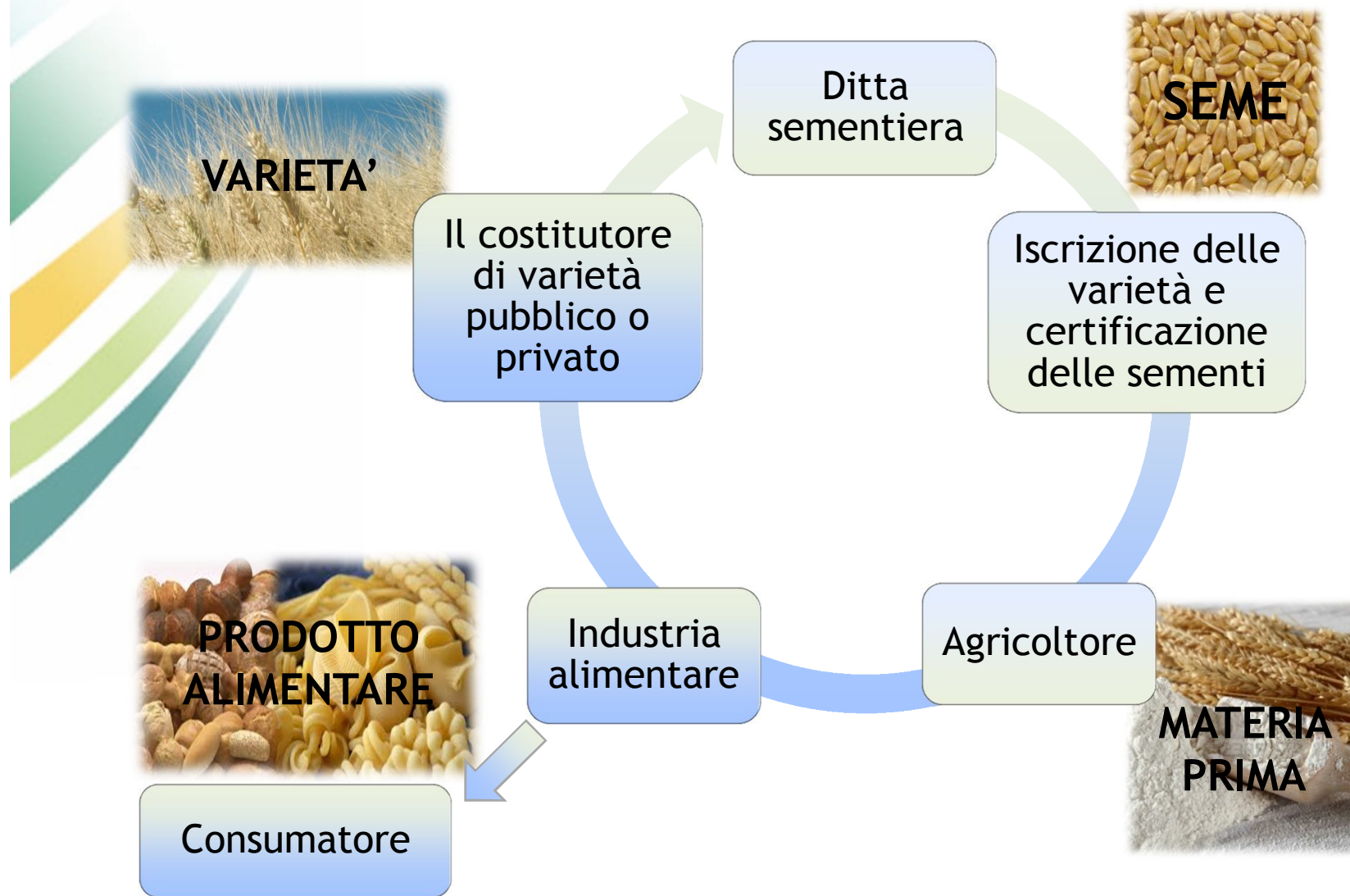


Marcatori molecolari FUNZIONALI

- Sviluppo di marcatori definiti FUNZIONALI, perché in grado di evidenziare caratteristiche varietali specifiche.



Dal seme alla farina: una organizzazione complessa





Un ringraziamento a tutti i collaboratori:
Roberta Cremona, Benedetta Musetti,
Silvia Seminari e Andrea Venturini.

GRAZIE!