



Presentazione dei risultati
del PROGETTO GERMO-SE

Germoplasma di ecotipi di segale piemontese

Venerdì 10 Novembre | 14.00
Aula Magna | Orto Botanico di Torino (TO)
Viale Mattioli 25 Torino | ingresso libero

Paola Migliorini e Sandra Spagnolo
UNISG Università di Scienze Gastronomiche

Marco Mucciarelli
UNITO Dipartimento di Scienze della Vita
e Biologia dei Sistemi DBIOS

Mauro Bassignana
IAR - Institut Agricole Régional

Massimiliano Spigolon
Mulino Val Susa



www.regione.piemonte.it/svilupporurale
Operazione 10.2.1 - Sostegno per la conservazione, l'uso e lo sviluppo sostenibili
delle risorse genetiche vegetali in agricoltura





LA SEGALE IN PIEMONTE

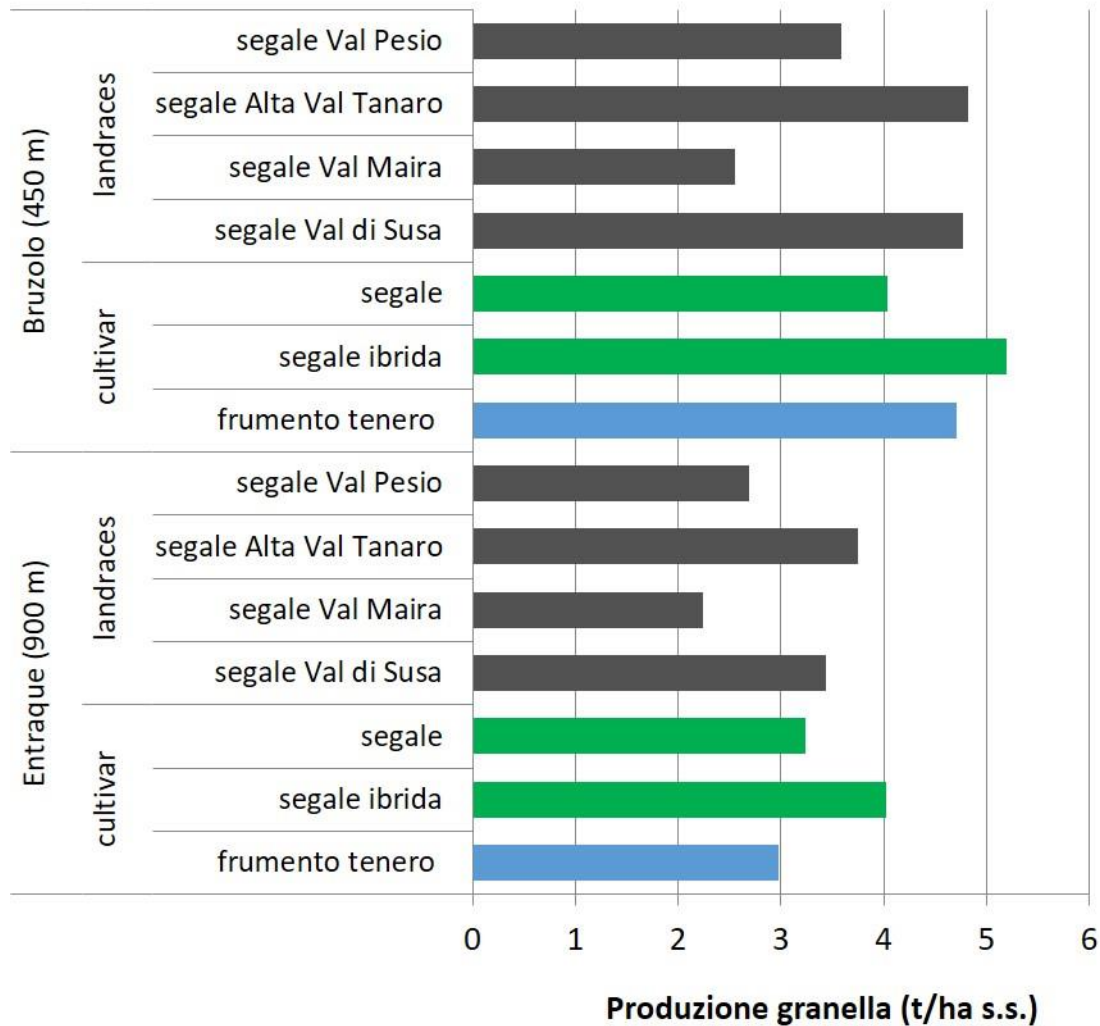
Storia di una rinascita



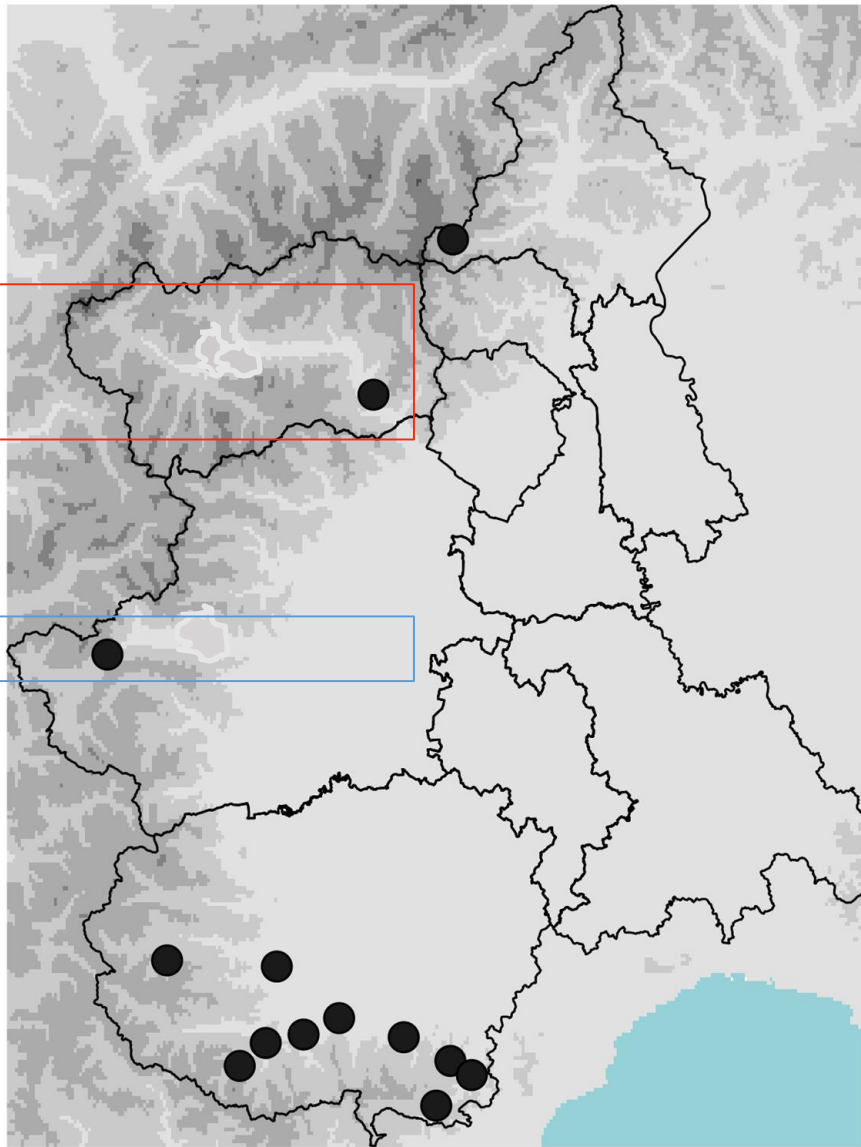


REDMI NOTE 8
AI QUAD CAMERA

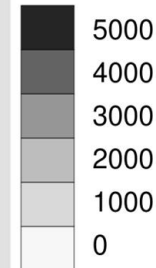
Produzione di granella



Vecchie e nuove varietà



Quota [m slm]

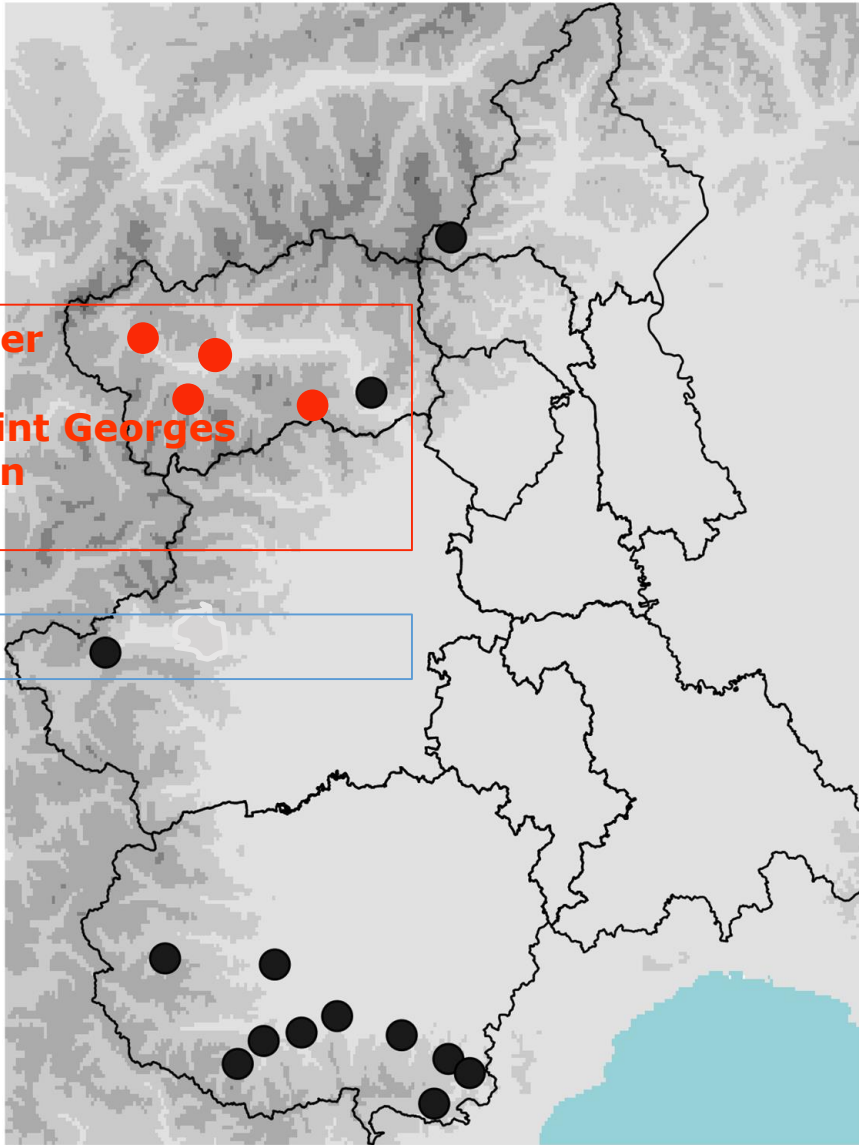


Vecchie e nuove varietà

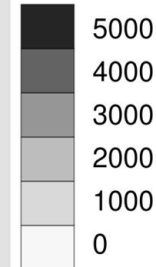


- Champorcher
- Morgex
- Rhêmes Saint Georges
- Sarre-Bellon
- Arnod

- Exilles



Quota [m slm]



2022 - PSR 2014-2022 -SOSTEGNO PER LA CONSERVAZIONE, L'USO E LO SVILUPPO SOSTENIBILI DELLE RISORSE GENETICHE VEGETALI IN AGRICOLTURA (Operazione 10.2.1) Bando 1-2022





[GBIS/I \(ipk-gatersleben.de\)](http://GBIS/I(ipk-gatersleben.de))



EUROPÄISCHE UNION
Europäischer Fonds für
regionale Entwicklung

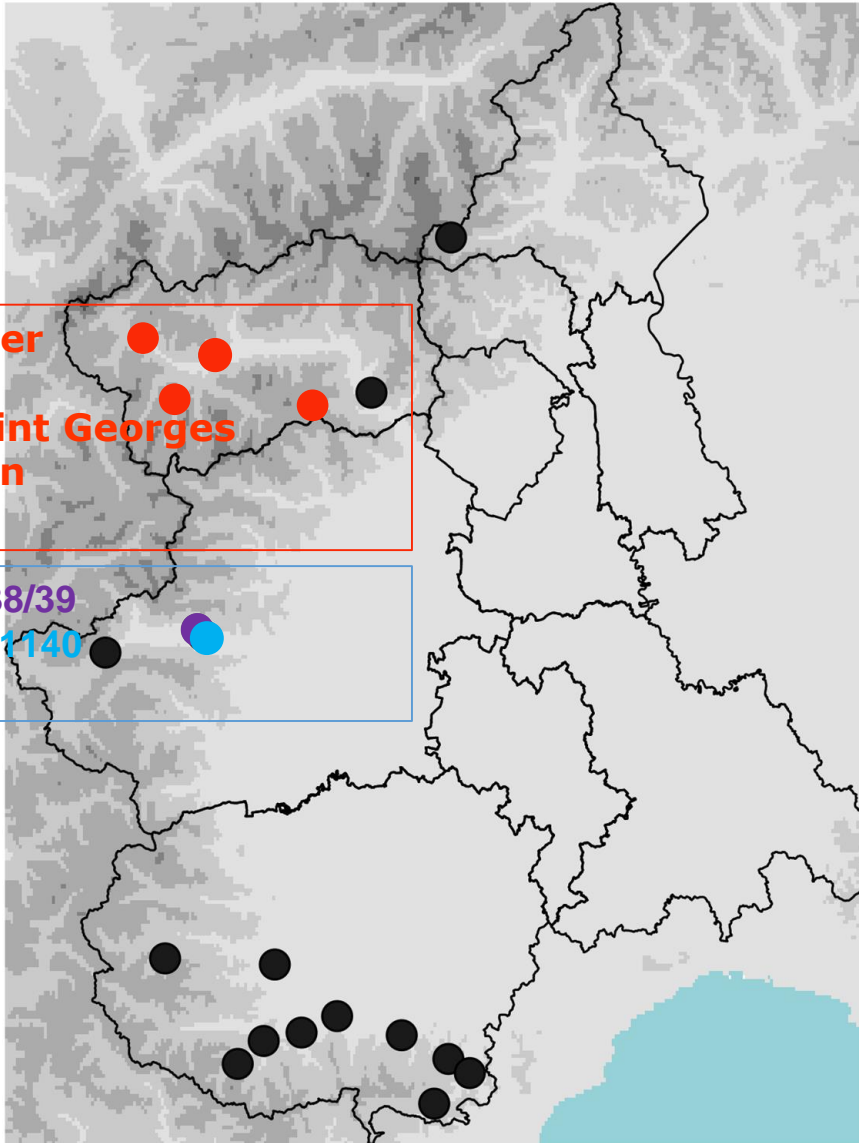


Vecchie e nuove varietà

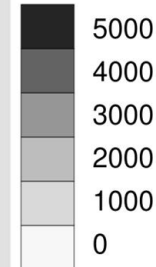


- **Champorcher**
- **Morgex**
- **Rhêmes Saint Georges**
- **Sarre-Bellon**
- Arnod

- **Bruzolo R1138/39**
- **San Didero R1140**
- Exilles



Quota [m slm]



2022 - PSR 2014-2022 -SOSTEGNO PER LA CONSERVAZIONE, L'USO E LO SVILUPPO SOSTENIBILI DELLE RISORSE GENETICHE VEGETALI IN AGRICOLTURA (Operazione 10.2.1) Bando 1-2022



Banca del germoplasma vegetale della Regione Piemonte



No.	ID	Nome	Località	Prov.	Tipo
SC19	MIN	Segale da basto di Garessio	Fraz. Cappello	CN	Ecotipo locale
SC13	EST	Entracque	Esterate	CN	Ecotipo locale
SC03	MAR	Marmora	Marmora	CN	Ecotipo locale
STO11	BRU	Bruzolo 1	Bruzolo	TO	Ecotipo locale
STO16	DID	San Didero	San Didero	TO	Ecotipo locale



Banca del germoplasma vegetale della Regione Piemonte



No.	ID	Nome	Località	Prov.	Tipo
SC19	MIN	Segale da basto di Garessio	Fraz. Cappello	CN	Ecotipo locale
SC13	EST	Entracque	Esterate	CN	Ecotipo locale
SC03	MAR	Marmora	Marmora	CN	Ecotipo locale
STO11	BRU	Bruzolo 1	Bruzolo	TO	Ecotipo locale
STO16	DID	San Didero	San Didero	TO	Ecotipo locale



Siamo in presenza di ecotipi rappresentativi della situazione della segale sulle Alpi occidentali?

- Abbiamo bisogno di confrontare il maggior numero possibile di **accessioni di segale**.

www.regione.piemonte.it/svilupporurale
Operazione 10.2.1 - Sostegno per la conservazione, l'uso e lo sviluppo sostenibili delle risorse genetiche vegetali in agricoltura



Siamo in presenza di ecotipi rappresentativi della situazione della segale sulle Alpi occidentali?

- Abbiamo bisogno di confrontare il maggior numero possibile di **accessioni di segale**.
- Le accessioni possono essere tipizzate mediante l'uso di **polimorfismi genetici individuali (SNPs)** presenti nel genoma di *Secale cereale*?
- **Polimorfismi statisticamente simili tra loro corrispondono** ad uno specifico pattern genetico → **diversi cluster genetici?**
- **Quali relazioni tra questi cluster**, sempre che esistano, **con il territorio alpino?**

- origine geografica della popolazione (clima, altitudine, fertilità del suolo).
- la “storia” della popolazione: isolamento geografico, uso diverso delle granelle e di altre parti della pianta, tradizione familiare tramandata.

www.regione.piemonte.it/svilupporurale
Operazione 10.2.1 - Sostegno per la conservazione, l'uso e lo sviluppo sostenibili delle risorse genetiche vegetali in agricoltura



mipaaf
ministero delle politiche
agricole alimentari e forestali

**REGIONE
PIEMONTE**

PSR
Iniziativa finanziata
dalla misura 10
del PSR 2014/2022



Sequenziamento tramite **tecnologia ddRAD-seq**

→ Sequenziamento simultaneo di diverse centinaia di migliaia di polimorfismi del genoma.

www.regione.piemonte.it/sviluppotorurale
Operazione 10.2.1 – Sostegno per la conservazione, l'uso e lo sviluppo sostenibili delle risorse genetiche vegetali in agricoltura



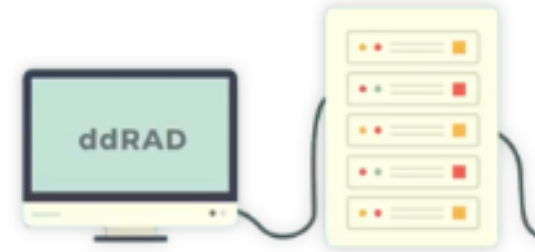
mipaaf
ministero delle politiche agricole alimentari e forestali

REGIONE
PIEMONTE

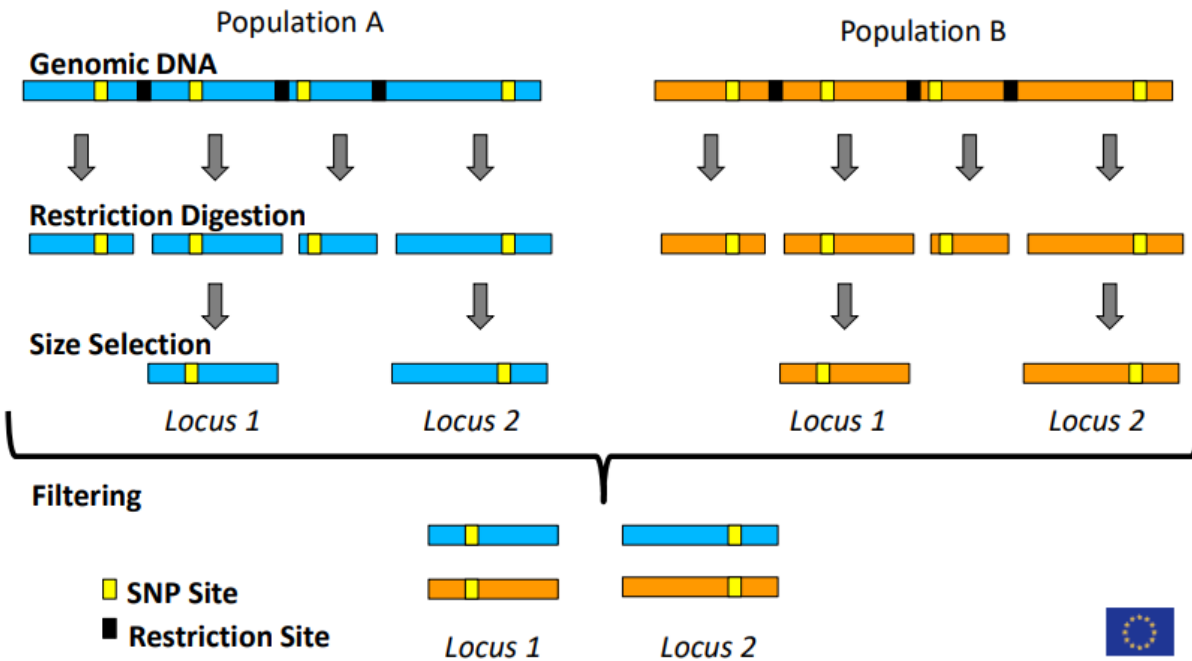


ddRAD genotyping

A technique uses two restriction enzymes to reduce the complexity of genomes allowing to genotype several thousands of loci. Open system for unbiased sampling of genetic variation also in non-referenced organisms.



Restriction-site Associate DNA Sequencing (RADseq)



www.regione.piemonte.it/sviluppatorale
 Operazione 10.2.1 - Sostegno per la conservazione, l'uso e lo sviluppo sostenibili delle risorse genetiche vegetali in agricoltura



Germinazione in vitro: prelievo di foglie da 10 individui per l'estrazione del DNA



www.regione.piemonte.it/svilupp rurale
Operazione 10.2.1 - Sostegno per la conservazione, l'uso e lo sviluppo sostenibili
delle risorse genetiche vegetali in agricoltura

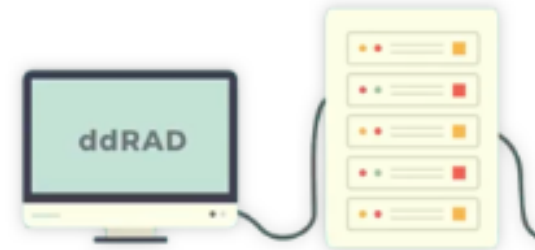




Double digest RAD Sequencing

ddRAD genotyping

A technique uses two restriction enzymes to reduce the complexity of genomes allowing to genotype several thousands of loci. Open system for unbiased sampling of genetic variation also in non-referenced organisms.



- Estrazione del DNA ✓
- Quantificazione e normalizzazione al Qubit ✓
- Double digestion with SphI and EcoRI enzymes ✓
- Genotipizzazione standard con tecnologia ddRAD-seq 92 ✓
- Sequenziamento Illumina: 125bp *paired sequencing* ✓
- Analisi biostatistica: diversità genetica e di popolazione ✓



www.regione.piemonte.it/svilupporurale
Operazione 10.2.1 - Sostegno per la conservazione, l'uso e lo sviluppo sostenibili delle risorse genetiche vegetali in agricoltura



Risultati del RAD-seq

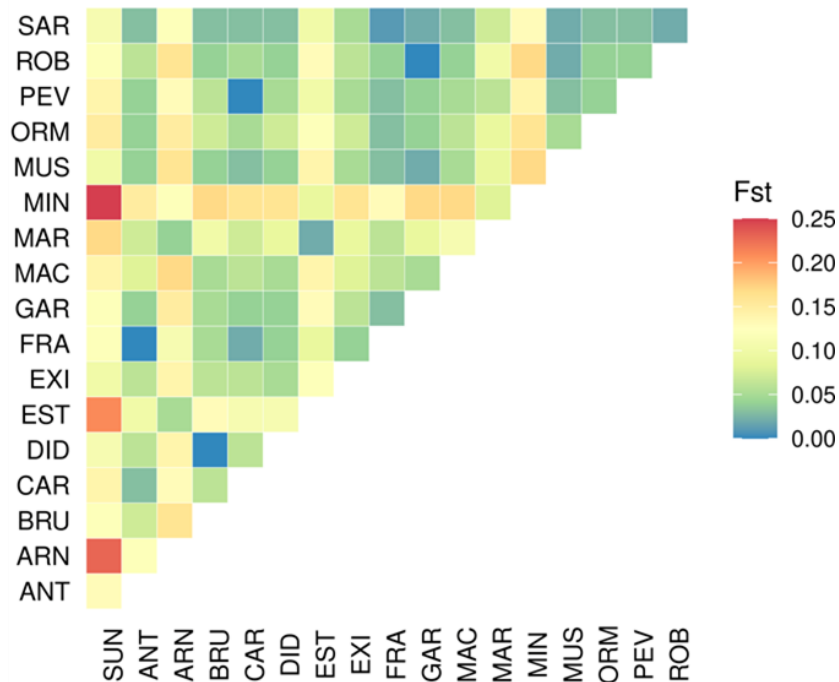
- 482.236.822 sequenze da 192 individui di segale
- 17.705 loci polimorfici per un totale di 119.814 *single nucleotide polymorphisms* (SNPs)

www.regione.piemonte.it/svilupporurale
Operazione 10.2.1 - Sostegno per la conservazione, l'uso e lo sviluppo sostenibili
delle risorse genetiche vegetali in agricoltura



Distanze genetiche tra ecotipi di segale (F_{st})

b



L'ecotipo in località **Mindino** è il più diverso geneticamente, e a seguire: **Arnod** della VDA e **Esterate** della Valle Gesso.

Gli ecotipi della Valle Susa (**Bruzolo** e **San Didero**) sono molto simili geneticamente tra loro.

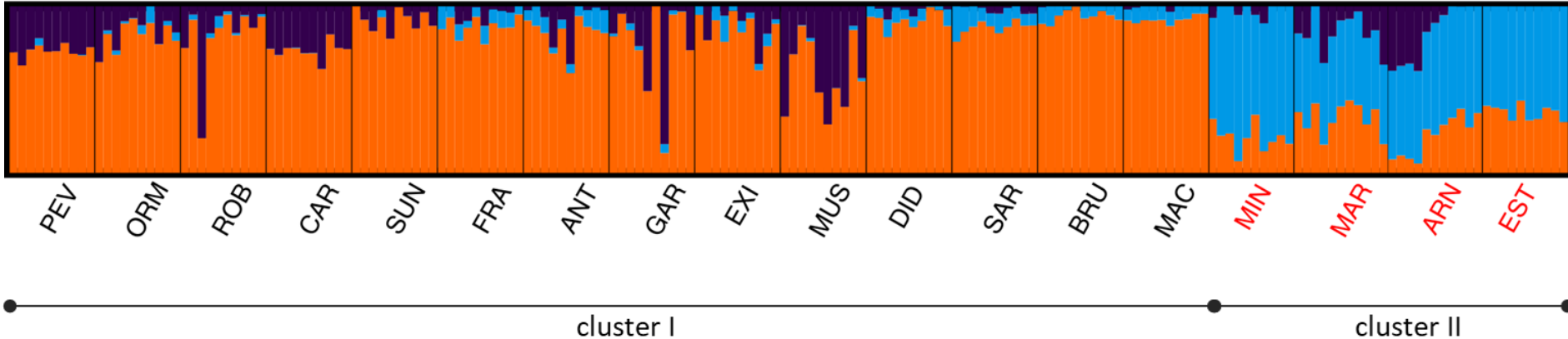
Le **accessioni del Cuneese** con distanze minori tra di loro: Frabosa e Peveragno; ROB e GAR.

distanza bassa (in blu-verde), distanza moderata (in giallo-arancione) e distanza da alta a molto alta (in arancione-rosso scuro)

acronimo	specie	origine	altitudin e ¹	forma	descrizione	anni	impieghi
SUN	<i>S. cereale</i>	N.D.	N.D.	annuale	"Su Nasri" ibrido commerciale (1)	-	Tabelle 2-3 (<i>questo studio</i>)
ANT	<i>S. cereale</i>	N.D.	N.D.	annuale	"Antoninskie" varietà commerciale (2)	-	Tabelle 2-3 (<i>questo studio</i>)

Si distinguono gruppi genetici differenti (diversi clusters)?

K=3



Sì, almeno due cluster principali

cluster I

varietà commerciale moderna ANT + Ibrido SUN + buona parte delle accessioni

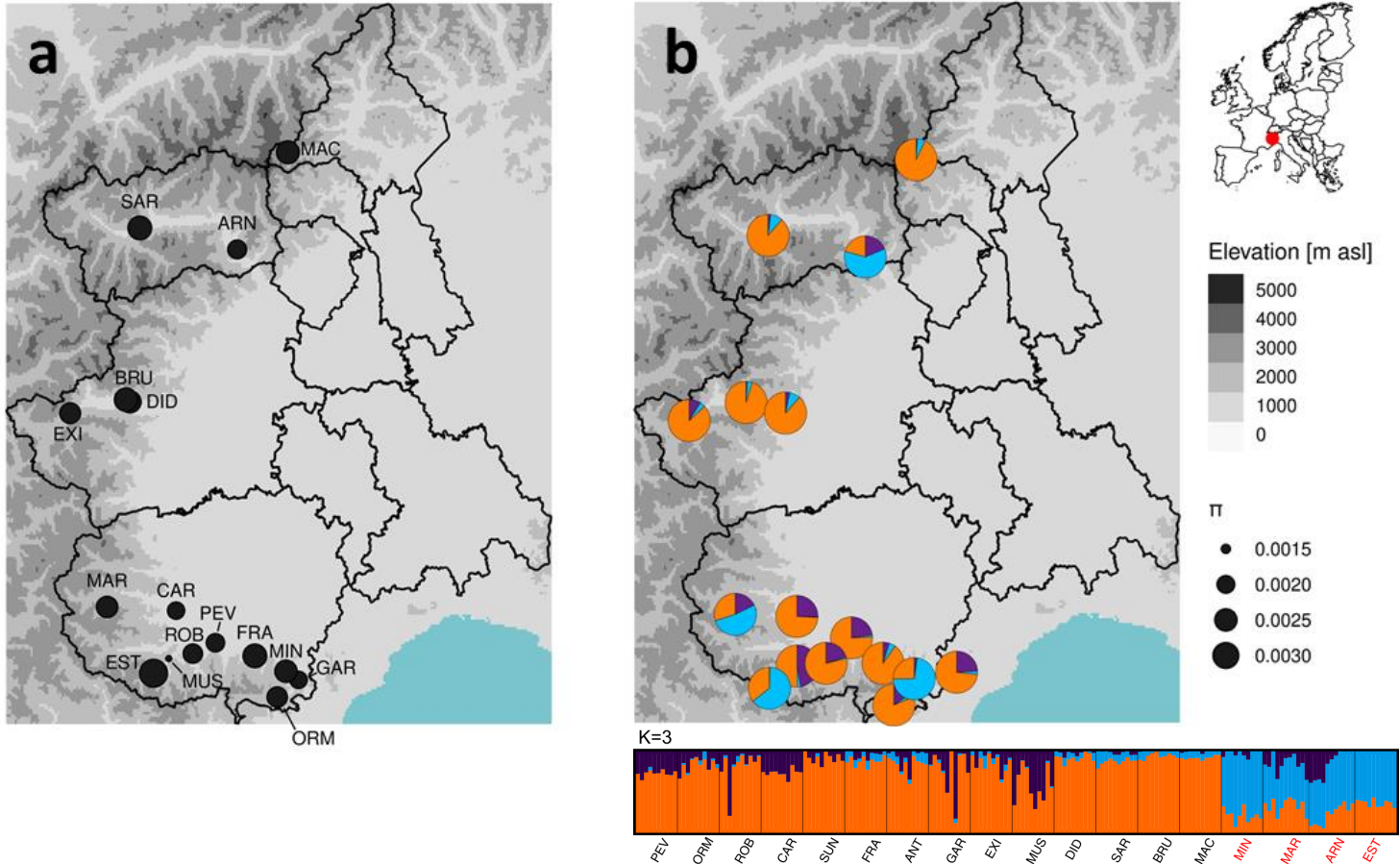
cluster II

poche accessioni geneticamente distanti (Garessio e Marmora)

L'ecotipo di Marmora



cluster simili sono vicini geograficamente e viceversa se sono dissimili, sono più distanti tra loro?

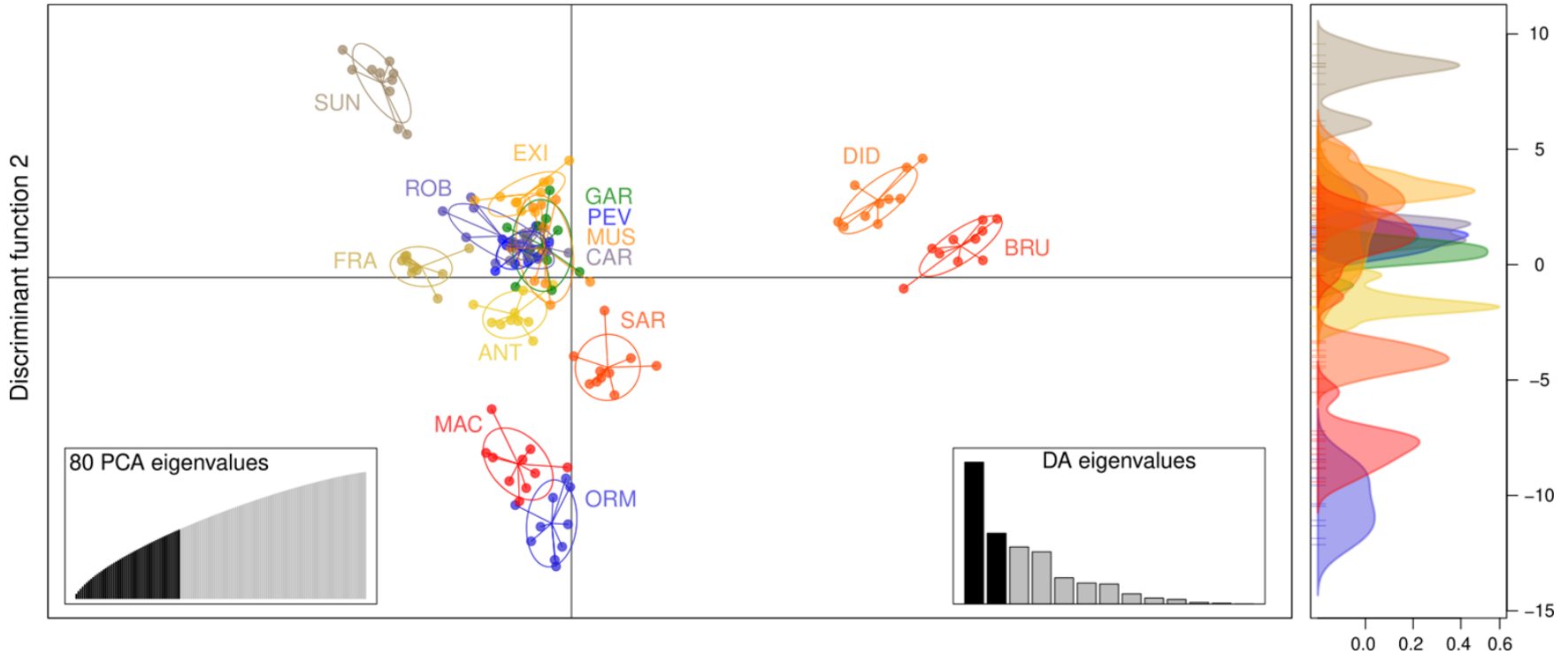
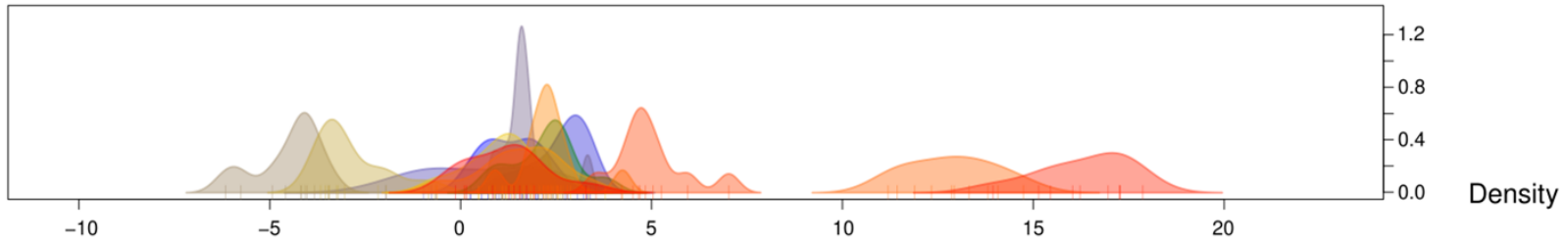


No, la diversità nucleotidica si distribuisce in maniera variegata all'interno dei diversi ecotipi senza una precisa relazione con la posizione geografica.

Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC)

visualizzazione in più dimensioni della variabilità e della struttura genetica delle accessioni

Discriminant function 1



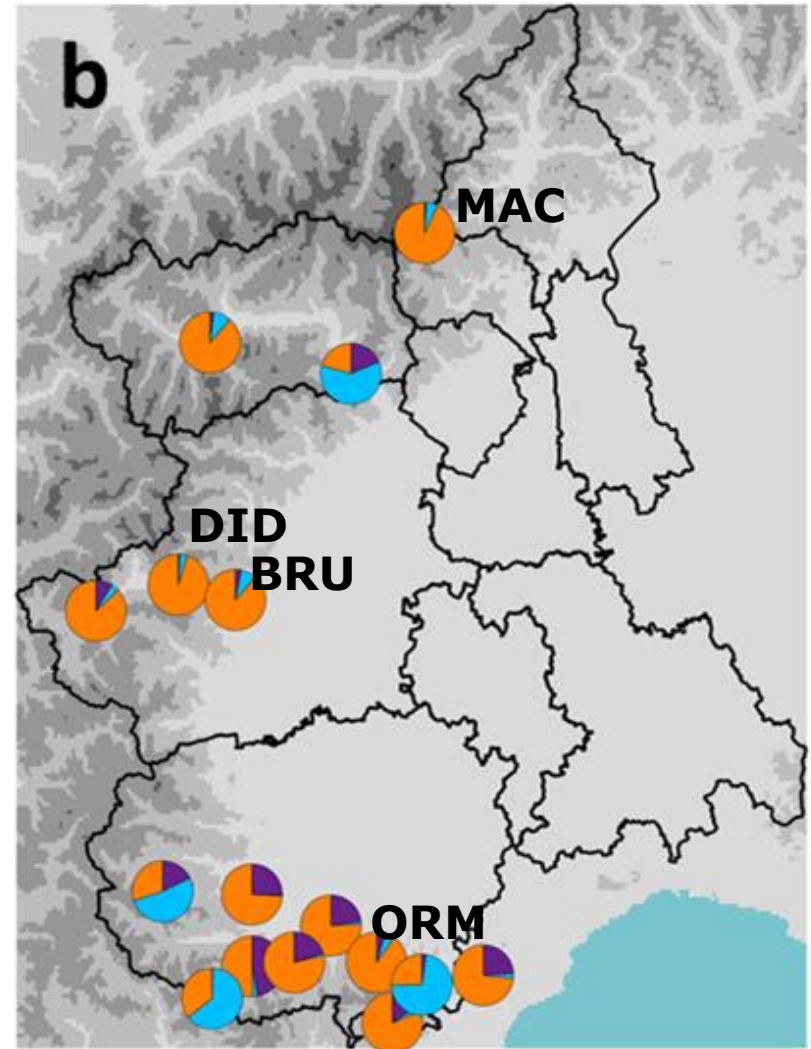
Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC)

La maggior parte degli ecotipi risulta imparentato con la varietà moderna Antoninskie (ANT); la varietà ibrida risulta isolata (SUN)

NON sono direttamente riconducibili ad ANT:

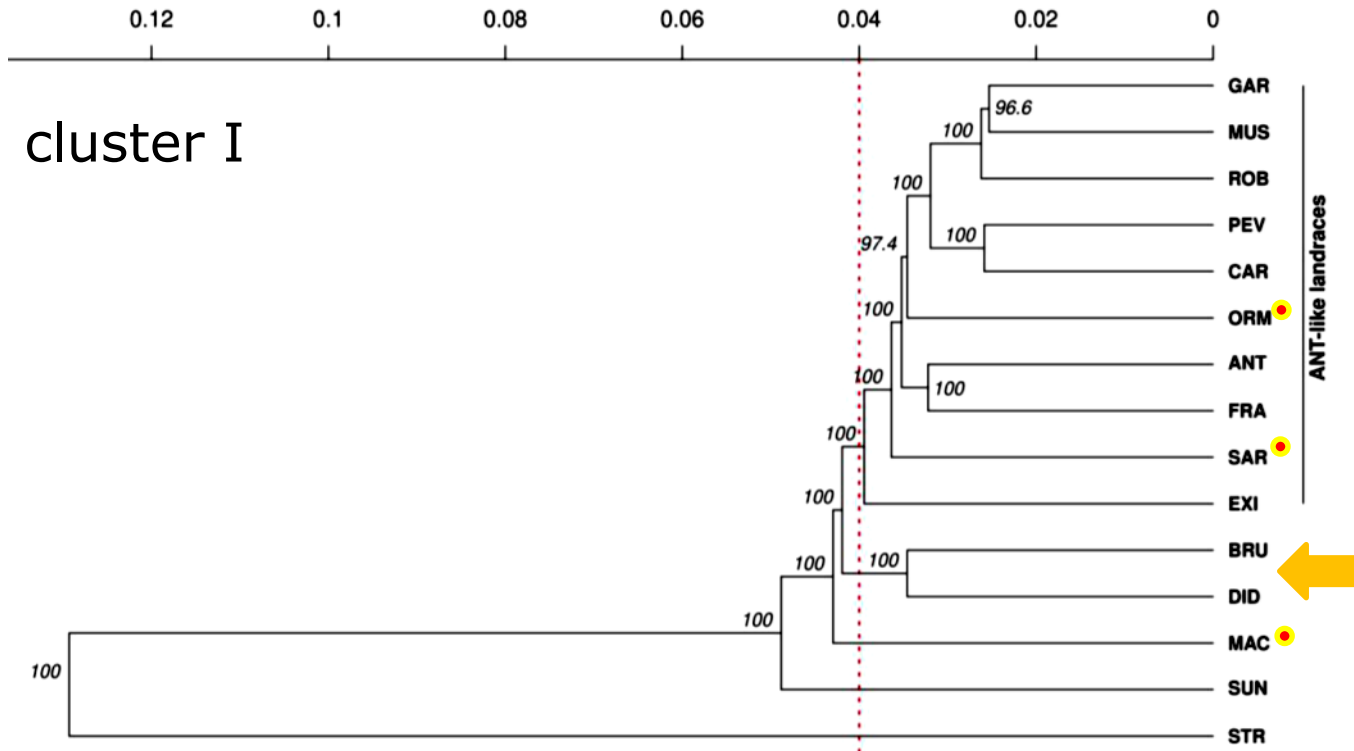
DID e BRU

MAC e ORM



Ecotipi sulla base delle distanze genetiche

ci sono conferme rispetto a variabilità e struttura genetica osservate prima?



Si, L'analisi conferma alcuni fondamenti delle analisi precedenti sulle relazioni genetiche esistenti tra i diversi ecotipi.

Slide conclusiva

- Le analisi genetiche discriminano bene tra accessioni diverse
- alcune sono riconducibili a varietà moderne:
 - ibridazione?
 - rinforzo delle sementi?
- poche sono geneticamente isolate
 - varietà riconducibili a morfologie "da paglia" (**MIN** e **MAR**)
 - varietà da granella (**DID** e **BRU**), MAC, ORM, **SAR**
- Le sequenze delle rimanenti accessioni sono in corso di analisi:
 - R1139 Bruzolo (2022!)
 - R1138 Bruzolo (2022!)
 - R1140 San Didero (2022!)
 - Champorcher
 - Morgex
 - Rhêmes

Ringraziamenti

Paola

Sandra

Massimiliano

Mauro

Martino Adamo

Valeria Fochi