



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PALERMO

SCUOLA DELLE SCIENZE DI BASE E APPLICATE

*CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN
BIOLOGIA ED ECOLOGIA VEGETALE*

Marcatori molecolari ISSR in *Vitis vinifera* L.

Relatore:
Prof. Franco Palla

Correlatore:
Dott.ssa Giovanna Lombardo

Tesi di laurea di:
Laura Liprino

Anno accademico 2013-2014

Riassunto

La lunga storia di domesticazione e l'ampia distribuzione di *Vitis vinifera* L., una delle colture più antiche, hanno dato origine a un numero elevato di cultivar (oltre 10.000) tutt'ora in aumento con la selezione clonale e l'incrocio.

La Sicilia, uno dei più importanti centri di diffusione della vite nel Bacino del Mediterraneo, è la regione italiana con il più consistente patrimonio viticolo, pari al 17.7% circa della produzione totale italiana. La viticoltura siciliana è caratterizzata da una complessità di cultivar autoctone, alcune delle quali diffuse in tutto il territorio regionale, altre in ambienti territoriali limitati. La complessità delle cultivar locali siciliane può essere attribuita alle diverse condizioni ambientali dell'isola, alla coltivazione di nuovi genotipi, all'impollinazione incrociata tra popolazioni selvatiche e alla domesticazione di specie.

Nel presente lavoro di tesi i marcatori molecolari ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat* o Inter-microsatelliti) sono stati utilizzati in cinque cultivar autoctone siciliane tra le più antiche ('Grillo', 'Inzolia', 'Nero d'Avola', 'Perricone' e 'Zibibbo') al fine di discriminarle e determinarne i rapporti di diversità/similarità genetica.

I cinque primer utilizzati [(CA)₈RG, (GA)₈YC, (AG)₈YT, (AC)₈YA, (GA)₈A] nelle reazioni di amplificazioni *in vitro* (ISSR-PCR) hanno prodotto 47 *loci*, di cui 19 monomorfici e 28 polimorfici, con una percentuale di bande polimorfiche (PPB) del 59.57%. Alcuni *loci* sono risultati unici per 'Nero d'Avola' e 'Perricone'.

Inoltre, tra le cultivar è stata calcolata la diversità genetica DA, come descritta da Nei *et al.* (1983). Il dendrogramma di similarità genetica, basato sull'analisi UPGMA, mostra che 'Grillo' e 'Zibibbo' sono le cultivar geneticamente più vicine (0.95), mentre da esse si allontanano 'Inzolia' (0.90) e 'Perricone' (0.82); la cultivar 'Nero d'Avola' è la più distante (0.72). Le distanze genetiche sono state confermate dagli alti valori di bootstrap.

I risultati di questo studio confermano che l'analisi mediante i marcatori molecolari ISSR ha un valore altamente informativo per le cultivar autoctone siciliane; alcuni pattern sono stati peculiari e discriminanti, fornendo la conferma della loro preziosa utilità nell'ambito di indagini molecolari.

Parole chiave: analisi genetica, cultivar autoctone, ISSR, *Vitis vinifera*

Abstract

The history of domestication and wide distribution of *Vitis vinifera* L., one of the oldest crops, have produced a large quantity of grapevine cultivars (more than 10.000), which are still increasing by clonal selection and breeding.

Sicily (one of the most important centre of viticulture diffusion in the Mediterranean Basin) is the Italian region with the greatest wine heritage, representing 17.7% of Italian production. Sicilian viticulture is characterized by a great quantity of autochthonous cultivars, some of which are spread throughout the region, other are limited in small areas. The complexity of local cultivars in Sicily may be ascribed to environmental conditions of the island, cultivation of new genotypes, cross-pollination with wild populations and domestication of the species.

In the present work, ISSR (Inter Simple Sequence Repeat or Inter-microsatellites) molecular markers were used in five oldest autochthonous Sicilian cultivars ('Grillo', 'Inzolia', 'Nero d'Avola', 'Perricone' and 'Zibibbo') in order to discriminate the cultivars and determine the genetic relationship among them.

The five primers used [(CA)₈RG, (GA)₈YC, (AG)₈YT, (AC)₈YA, (GA)₈A] in the *in vitro* amplification reactions (ISSR-PCR) have produced 47 *loci*, 19 of which were monomorphic and 28 polymorphic, with a percentage of polymorphic bands (PPB) of 59.57%. Some *loci* were unique to 'Nero d'Avola' and 'Perricone'.

Moreover, the genetic diversity D_A , as described by Nei *et al.* (1983), was calculated among the cultivars. The dendrogram of genetic similarity, based on UPGMA analysis, shows that 'Grillo' and 'Zibibbo' are genetically closer (0.95), while they are less related with 'Inzolia' (0.90) and 'Perricone' (0.82); 'Nero d'Avola' is the most distant (0.72). Genetic distances were established by high bootstrap values.

The results of this study confirmed that the analysis by ISSR molecular markers is highly informative for autochthonous Sicilian cultivars; some patterns were peculiar and discriminating, demonstrating their valuable applications in molecular investigations.

Keywords: autochthonous cultivars, genetic analysis, ISSR, *Vitis vinifera*