



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PALERMO

SCUOLA di Scienze e Tecnologie Biologiche Chimiche e Farmaceutiche

corso di Laurea Magistrale in Biologia ed ecologia vegetale.

**Sviluppo di un protocollo di amplificazione multiplex di marcatori
microsatelliti di *Vitis vinifera* L. in campioni coltivati e selvatici siciliani**

TESI DI LAUREA DI

Maria Alotta

RELATORE

Dott.ssa **Elisabetta Oddo**

CO-RELATORI

Dott. **Roberto De Michele**

Dott.ssa **Francesca La Bella**

ANNO ACCADEMICO 2016/2017

MAGISTRALE



ABSTRACT

La vite è la coltura arborea più diffusa ed economicamente importante del pianeta. *Vitis vinifera* L., fra tutte le specie del genere *Vitis* è quella che mostra maggiore interesse economico-produttivo. La standardizzazione del processo produttivo e le esigenze del mercato hanno determinato la dominanza di poche varietà internazionali e la perdita progressiva delle varietà locali.

Nel tentativo di recuperare e valorizzare varietà locali a rischio di estinzione sono state intraprese azioni di conservazione e caratterizzazione del germoplasma. Durante un progetto regionale PSR 214 l'Istituto CNR IBBR di Palermo ha raccolto e conservato nel campo di germoplasma 356 varietà di vite coltivata e 224 accessioni di vite selvatica, che devono quindi essere caratterizzate a livello molecolare.

In questo lavoro di tesi sperimentale è stato messo a punto il protocollo di genotipizzazione della vite coltivata e selvatica siciliana attraverso l'amplificazione tramite PCR di marcatori molecolari di tipo SSR o microsatelliti in multiplex da 4 per un totale di 12 SSR per campione.

Il confronto fra protocolli che differivano per temperature di annealing o kit di amplificazione ha permesso di stabilire che la combinazione più efficiente ed economicamente più vantaggiosa era quella con temperatura variabile decrescente e kit Bioline.

ABSTRACT

Grapevine is the most widespread and economically important tree crop on the planet. *Vitis vinifera* L., among all species of the genus *Vitis* is the one that shows greatest economic-productive interest.

The standardization of the production process and market needs resulted in the dominance of few international varieties and the gradual loss of local varieties.

In the attempt to recover and enhance local varieties at risk of extinction, conservation and characterization of germplasm have been undertaken.

During a regional project PSR 214, CNR IBBR Institute in Palermo collected and preserved in the germplasm field 356 cultivated grapevine varieties and 224 wild-type accessions, which must then be characterized at a molecular level.

In this experimental thesis work, a genotyping protocol of the cultivated and wild Sicilian grapevines was developed through PCR amplification of 4-multiplex microsatellite markers for a total of 12 SSRs per sample.

Comparison among protocols that differed from annealing temperatures or amplification kits allowed us to find that the most efficient and cheapest combination was that with decreasing variable temperature and Bioline kits.