



ALMA MATER STUDIORUM  
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA



OPENDISTAL  
20 SETTEMBRE

**Utilizzo di metodi avanzati di fingerprinting molecolare per le esigenze della filiera frutticola**

**Dondini L., Alessandri S., Venturi S.  
(DISTAL)**

**Marzio Zaccarini (CIV)**

**Luca Dondini**

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-ambientali

## **Fingerprinting e Genotipizzazione: dalla ricerca all'attività di servizio**

L' applicazione delle tecniche di genotipizzazione nelle colture frutticole è una storia ormai trentennale che ha sempre cercato di implementare la propria attività di servizio attingendo alle conoscenze prodotte dall'attività di ricerca

### **Ricerca:**

**Analisi di diversità genetica**

**Sviluppo di marcatori molecolari per il MG**

**Analisi di loci specifici (es. Locus S)**

### **Servizio:**

**fingerprinting per la certificazione varietale**

**Analisi conto terzi per breeder per determinare la**

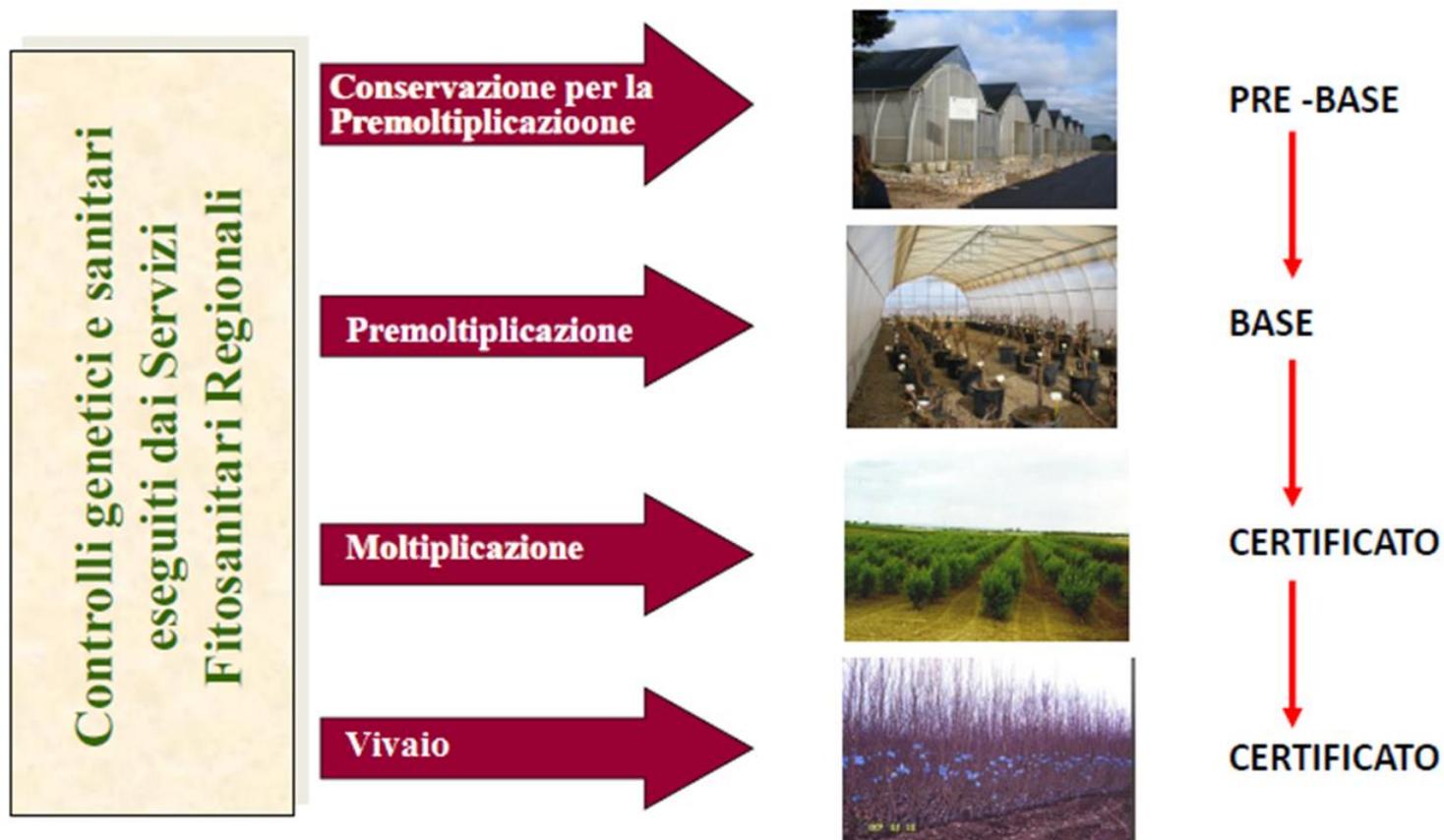
**presenza di geni di resistenza a patogeni o la**

**composizione allelica al locus S**



## Analisi molecolari per la certificazione varietale a supporto della filiera vivaistica

Il servizio Fingerprinting del DiSTAL collabora attivamente da oltre 25 anni con la Regione Emilia-Romagna per effettuare controlli di corrispondenza varietale a supporto della filiera vivaistica regionale



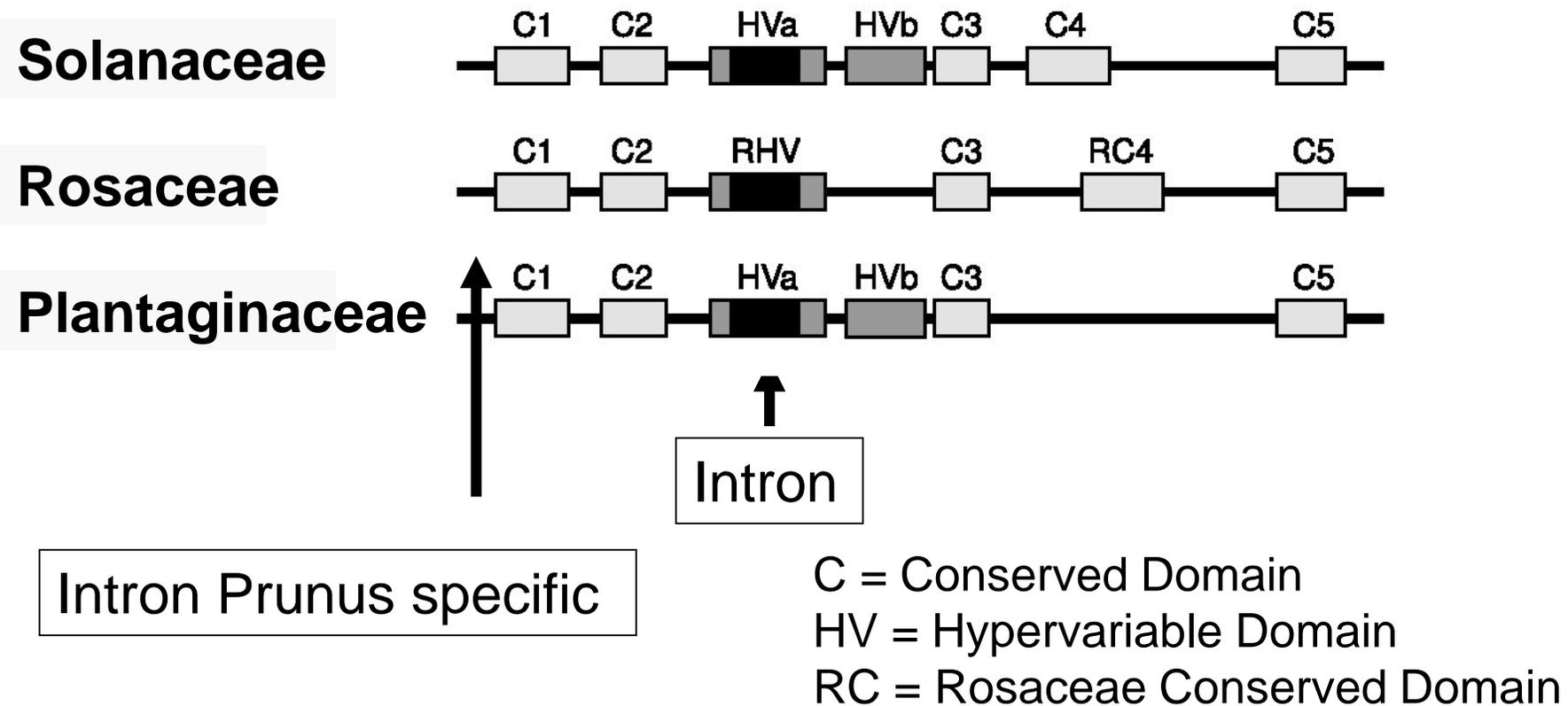
# Analisi fingerprinting su una vastissima gamma di specie



# Il locus S e la determinazione dei gruppi di interfertilità nelle specie da frutto

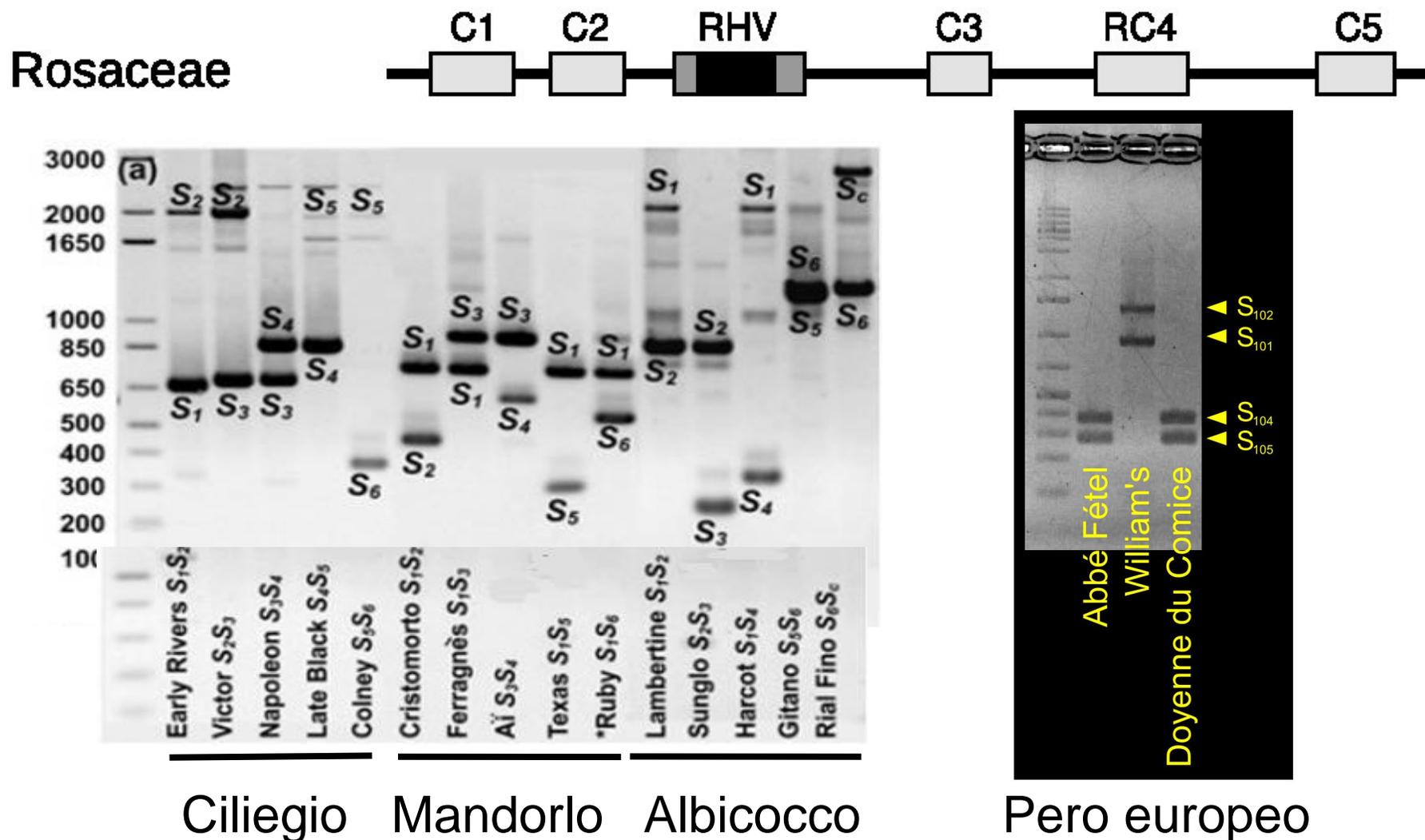
L'evoluzione ha favorito lo sviluppo di barriere genetiche per prevenire l'autofecondazione o la fecondazione tra individui strettamente correlati all'interno di numerose famiglie

Nelle Rosaceae la specificità stilare è controllata da una  
**S locus-encoded ribonuclease (S-RNase)**



## Identificazione genotipo 'S' mediante PCR e sequenziamento

Saggi molecolari per la determinazione degli alleli S con primer consensus e allele specifici e verifica finale con sequenziamento degli alleli



# Sviluppo di marcatori molecolari e collaborazione con piattaforme di analisi

Marcatori molecolari sviluppati in melo per resistenze a patogeni e qualità del frutto sono stati messi a disposizione di una piattaforma di servizi genetici per permettere ai breeder privati di utilizzarli

Seed soowing



Leaf discs are collected and transferred to a microtiter taking care to maintain the sample order



	A	B	C	D	E	F	G	H
1	Haploview	others	SNP1	SNP3	SNP6	SNP7	SNP9	SNP10
2	Affect status	SampleID	538	1401	2340	3230	4119	5093
3	1	Sample1	GG	GG	GT	TT	GG	GT
4	1	Sample2	GG	GG	GT	TT	GT	GG
5	1	Sample3	GG	GG	GG	TT	GG	TT
6	1	Sample4	GG	GG	GG	TT	GG	GG
7	1	Sample5	GG	GG	GT	TT	GT	GG
8	1	Sample6	GG	GG	GT	TT	GT	GG
9	1	Sample7	GG	GG	GG	TT	GG	TT
10	1	Sample8	GG	GG	GT	TT	GT	GT
11	1	Sample9	GG	GG	GT	TT	GT	GT
12	1	Sample10	GG	GG	GT	TT	GT	GG
13	1	Sample11	GG	GG	GG	TT	TT	GG
14	1	Sample12	GG	GG	GT	TT	TT	GG
15	1	Sample13	GG	GG	GT	TT	GT	GG
16	1	Sample14	GG	GG	TT	TT	GG	GT

The company will send results to the breeders for plant selection

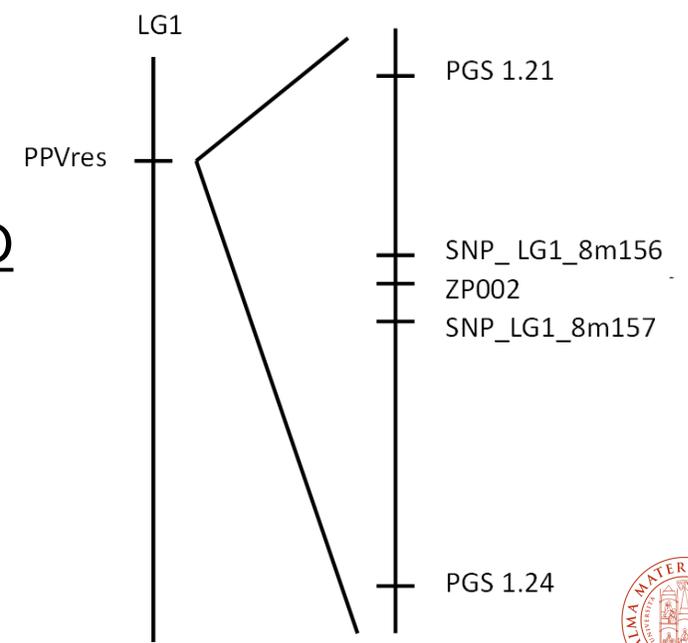
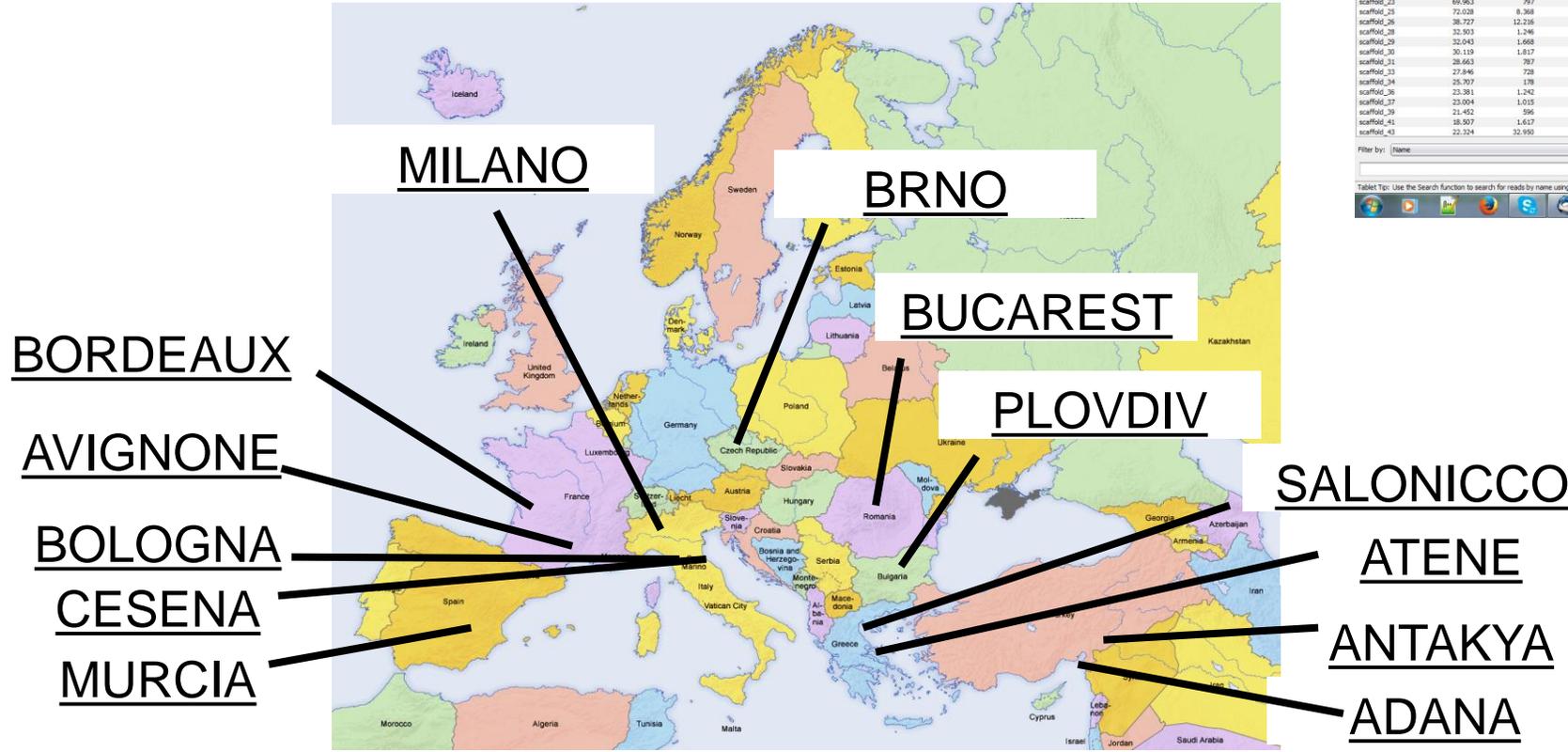
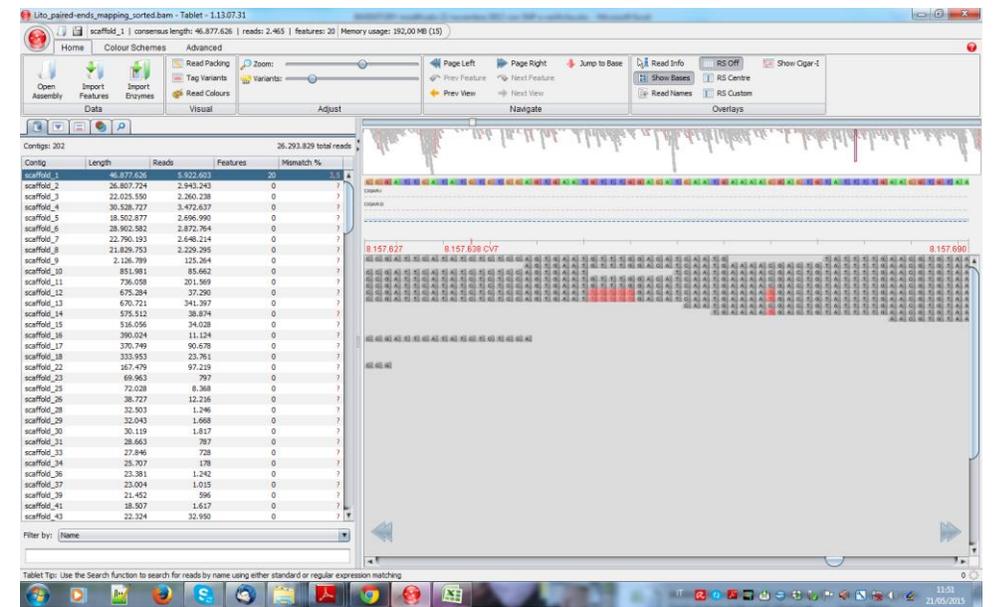
Plants are grown in arrays with the format with 8 rows and 12 columns (as the microtiters)



Leaf discs are sent to a company for genotyping



# Il caso della resistenza a Sharka in albicocco



8 MAS per la resistenza a Sharka in albicocco su oltre 20000 semenzali a livello europeo



# Caratterizzare la variabilità genetica nei programmi di breeding con il CIV

DIVERSITA' GENETICA dei CAMPIONI ANALIZZATI CON TECNICA di DARTseq in MELO

La tecnica del DARTseq si basa sul sequenziamento di una frazione di DNA genomico che corrisponde in maniera preponderante a geni.

Questa tecnica non ha extra costi dovuti alla protezione da brevetto previsto per altre tecnologie NGS disponibili sul mercato.

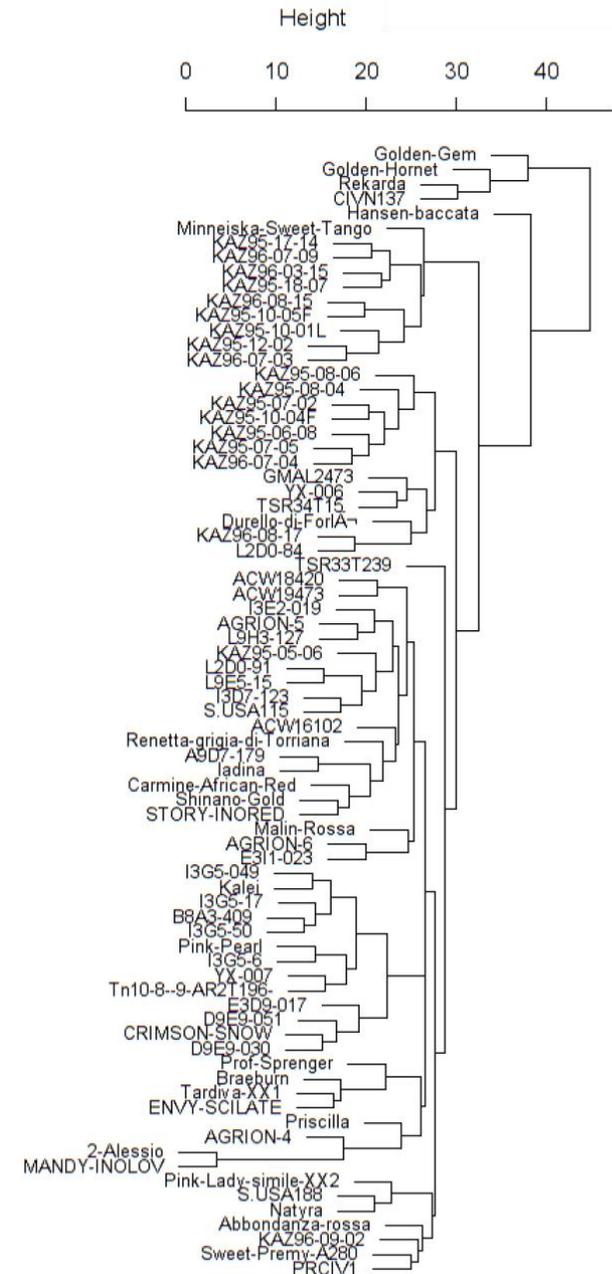
Lo scopo dell'analisi è quello di studiare la diversità genetica presente nel programma di miglioramento genetico del CIV



# 13000 marcatori SNP per l'analisi di 87 accessioni di melo

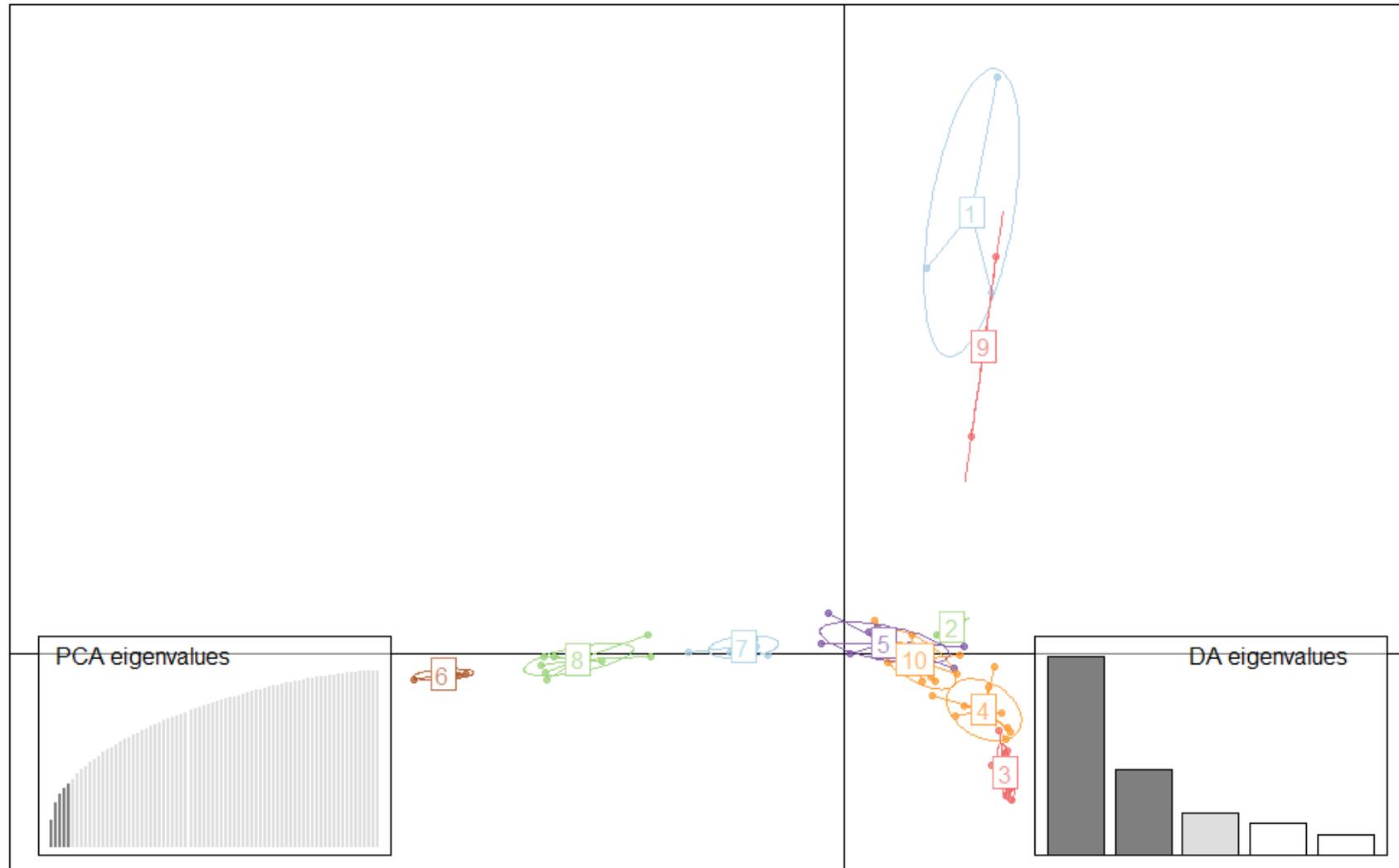
## Elenco dei genotipi unici di partenza.

"YX-007"	"YX-006"	"TSR34T15"
"TSR33T239"	"Tn10-8-9-AR2T196-"	"Tardiva-XX1"
"Sweet-Premy-A280"	"S.USA188"	"Shinano-Gold"
"ROCKIT"	"Renetta-grigia-di-Torriana"	"Rekarda"
"Prof-Sprenger"	"Pink-Pearl"	"Pf-Ari"
"I3D7-123"	"E3D9-017"	"AGRION-6"
"I3G5-6"	"Golden-Gem"	"Durello-di-Forlì"
"KAZ95-10-01L"	"D9E9-051"	"S.USA115"
"Opa1"	"AGRION-5"	"Dulmen-rosen"
"Braeburn"	"Priscilla"	"GMAL2473"
"A9D7-179"	"E3I1-023"	"KAZ96-08-15"
"ACW18420"	"Hansen-baccata"	"Carmine-African-Red"
"Pink-Lady-simile-XX2"	"Golden-Hornet"	"2-Alessio"
"H5D0-51"	"ENVY-SCILATE"	"Geneva"
"KAZ95-07-02"	"Malin-Rossa"	"PRCIV1"
"ACW19473"	"Mela-rossa-Salvi"	"B8A3-409"
"AGRION-4"	"Abbondanza-rossa"	"CIVN137"
"CRIMSON-SNOW"	"GEMINI"	"I3E2-019"
"KAZ96-03-15"	"I3E2-330"	"I3G5-049"
"ACW16102"	"KAZ96-09-02"	"I3G5-17"
"Kalei"	"KAZ95-05-06"	"Natyra"
"KAZ95-08-04"	"D9E9-030"	"KAZ95-07-05"
"KAZ95-08-06"	"KAZ96-08-17"	"KAZ95-10-04F"
"KAZ95-10-05F"	"STORY-INORED"	"KAZ95-06-08"
"KAZ95-12-02"	"KAZ95-17-14"	"LIBERTY"
"KAZ95-18-07"	"KAZ96-07-09"	"KAZ96-07-04"
"L2D0-84"	"L2D0-91"	"I3G5-50"
"KAZ96-07-03"	"L9E5-15"	"Minneiska-Sweet-Tango"
"L9H3-127"	"ladina"	"MANDY-INOLOV"

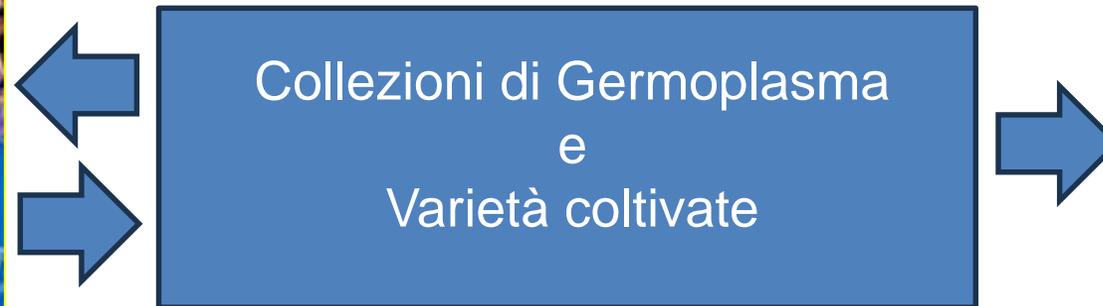
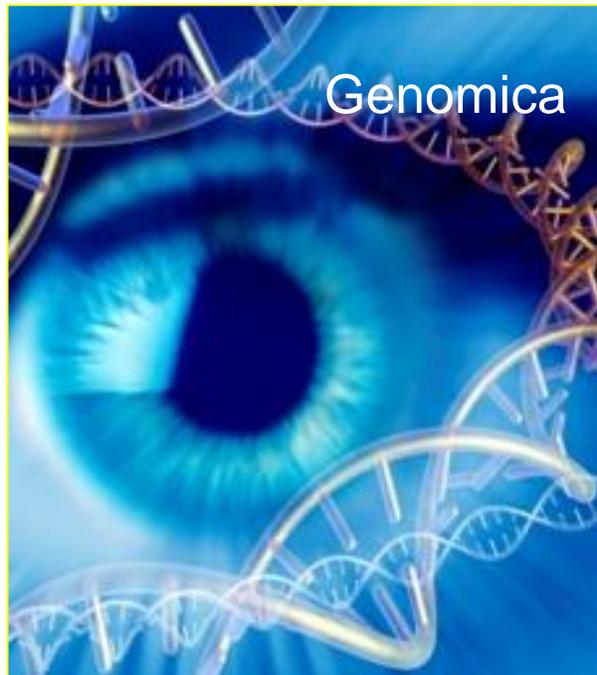


Identificazione di 10 clusters

# distribuzione dei campioni in 10 gruppi con analisi PCA



# Il fingerprinting applica i risultati della ricerca e diventa vettore di applicazioni



# Applicazioni



ALMA MATER STUDIORUM  
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

**Credits:**

**Luca Dondini**

luca.dondini@unibo.it



[www.unibo.it](http://www.unibo.it)