

Titolo Assegno: Applicazione di marcatori molecolari per analisi di diversità genetica e selezione assistita in piante da frutto

I programmi di miglioramento genetico delle piante da frutto sono notoriamente complessi a causa degli elevati livelli di eterozigosi e del lungo periodo giovanile delle piante derivate da seme. Inoltre, in un contesto di cambiamento climatico, il miglioramento genetico si trova davanti a nuove sfide legate alle avversità biotiche, la cui interazione con le piante ospiti è in continua evoluzione. Il miglioramento genetico nelle specie da frutto ha portato ad una grande disponibilità di nuove varietà negli ultimi anni, varietà che sono caratterizzate da altissimi livelli standard di qualità del frutto ma resta l'esigenza di creare nuove varietà più idonee alle nuove esigenze. Inoltre, negli anni si è assistito ad un progressivo restringimento della base genetica dei programmi di miglioramento genetico per le specie appartenenti alla famiglia delle Rosacee quali il melo, il pero e il ciliegio. La conoscenza della diversità genetica all'interno di una specie è alla base delle future attività di miglioramento genetico e di conservazione del germoplasma stesso.

Nell'ambito del progetto AGRITECH Spoke 1 sono previste diverse attività di ricerca relative alla genotipizzazione di popolazioni di incrocio di melo e di collezioni varietali di pero e ciliegio che si propongono di rendere più efficienti le strategie di conservazione e l'utilizzo delle collezioni di germoplasma. Nei campi sperimentali del DISTAL è presente un'ampia variabilità genetica per quanto riguarda le specie melo e pero mentre per il ciliegio dolce si è provveduto a stabilire una collaborazione con il CREA di Roma che mantiene la collezione nazionale di questa specie. In entrambi i casi si dispone di dati fenotipici già raccolti nel corso degli anni per lo studio delle basi genetiche di importanti caratteri fenotipici.

Piano dell'attività 2024-2025

Attività A1) Ottimizzazione di protocolli di selezione assistita precoce a servizio dei programmi di miglioramento genetico del melo

Popolazioni di semenzali derivate da incroci controllati eseguiti nell'ambito del programma di miglioramento genetico del DISTAL verranno sottoposte ad analisi molecolari per la verifica dell'efficacia della selezione con un panel di marcatori associati a caratteri di resistenza ad avversità biotiche e qualità del frutto.

- Si preleverà materiale fogliare per le analisi genetiche dai semenzali oggetto di studio
- Si testerà un set di marcatori molecolari disegnati su sequenze target di cui è nota l'associazione con caratteri di interesse
- I marcatori scelti verranno utilizzati per la selezione assistita per valutarne l'efficacia sulle popolazioni di melo disponibili

Attività A2) Genotipizzazione di accessioni del germoplasma di pero

I genotipi unici della collezione varietale del DISTAL verranno genotipizzati con marcatori SNP (70k SNP array della Affymetrics) per caratterizzare la diversità genetica al loro interno mediante una analisi di struttura. Inoltre, si valuterà la possibilità di sviluppare marcatori con un approccio GWAS con i dati fenotipici già disponibili (i.e. epoca di fioritura e di raccolta) o che verranno raccolti nella prossima stagione (i.e. prove di resistenza/suscettibilità a maculatura bruna)

- Si preleverà materiale fogliare per le analisi genetiche
- Le analisi molecolari verranno svolte presso una piattaforma di analisi genomiche
- I dati molecolari e fenotipici verranno utilizzati per le analisi di associazione

Attività A3) Genotipizzazione di accessioni del germoplasma di ciliegio

I campioni della collezione del CREA verranno genotipizzati con marcatori SNP (con una tecnica basata sul GBS) per caratterizzare la diversità genetica al loro interno mediante una analisi di struttura. Inoltre, anche in questo caso si utilizzeranno i dati fenotipici disponibili per sviluppare marcatori con un approccio GWAS.

- Si preleverà materiale fogliare per le analisi genetiche
- Le analisi molecolari verranno svolte presso una piattaforma di analisi genomiche
- I dati molecolari e fenotipici verranno utilizzati per analisi di associazione

Le azioni A2 ed A3 permetteranno quindi di realizzare carte di identità molecolari delle accessioni oggetto di studio che potranno integrare le schede pomologiche già disponibili. Inoltre, questi risultati potranno essere utilizzati in futuro per fare analisi genetiche più approfondite integrando questo dataset con i dati raccolti in collezioni varietali mantenute in altri paesi.

Application of molecular markers for analysis of genetic diversity and assisted selection in fruit tree species

Fruit tree breeding programs are notoriously complex due to the high levels of heterozygosity and long juvenile period of seed-derived plants. Furthermore, in a context of climate change, genetic improvement is facing with new challenges related to biotic stresses whose interaction with host plants is constantly evolving. In recent years, genetic improvement in fruit species has led to a large availability of new varieties, varieties characterized by very high fruit quality traits but the need to create new varieties more suitable to new challenges remains. Furthermore, over the years there has been a progressive narrowing of the genetic basis of breeding programs in various species belonging to the Rosaceae family such as apple, pear and sweet cherry. Knowledge of the genetic

diversity within a species is the basis of future breeding programs and for the development of efficient germplasm conservation strategies.

As part of the AGRITECH Spoke 1 project, various research activities related to the genotyping of apple cross populations and pear and sweet cherry germplasm collections are planned, with the aim to let germplasm collection strategies more efficient. In the DISTAL experimental farm a wide genetic variability for apple and pear species is available while for sweet cherry a collaboration has been established with the CREA of Rome which maintains the national collection of this species. In both case, phenotypic data collected over the years are already available in order to study the genetic basis of some important breeding traits.

Activity plan 2024-2025

Activity A1) Optimization of early assisted selection protocols to support apple breeding.

Populations of seedlings derived from controlled crosses, carried out as part of the DISTAL breeding program, will be subjected to molecular analyzes to verify the effectiveness of the selection with a panel of markers associated with resistance to biotic stresses and fruit quality traits.

- Leaf material will be collected for genetic analyzes from the seedlings under study
- A set of molecular markers designed on target sequences known to be associated with the traits of interest will be tested
- The selected markers will be applied for assisted selection to evaluate their effectiveness on available apple breeding populations.

Activity A2) Genotyping of pear germplasm accessions

The unique genotypes of the DISTAL germplasm collection will be genotyped with SNP markers (70k SNP array from Affymetrics) to characterize the related genetic diversity through a structure analysis. Furthermore, the possibility of developing markers with a GWAS approach will be evaluated with phenotypic data already available (i.e. flowering and harvest time) or that will be collected in the next season (i.e. resistance/susceptibility tests to brown spot).

- Leaf material will be collected for genetic analyses
- Molecular analyzes will be carried out at a genomic analysis platform
- Molecular and phenotypic data will be used for association analyses

Activity A3) Genotyping of cherry germplasm accessions

The samples from the CREA varietal collection will be genotyped with SNP markers (GBS-based technique) to characterize the genetic diversity through a structure analysis. Furthermore, also in this case the available phenotypic data will be used to develop markers by a GWAS approach.

- Leaf material will be collected for genetic analyses

- Molecular analyzes will be carried out by a genomic analysis platform
- Molecular and phenotypic data will be used for association analyses

Actions A2 and A3 will therefore allow the creation of molecular identity cards of the accessions under study which will be able to integrate the already available pomological descriptors. Furthermore, these results can be used in the future to do more in-depth genetic analyzes by integrating this dataset with data collected in germplasm collections maintained in other countries.