

Caratterizzazione e valorizzazione di cultivar locali di mais a libera impollinazione

Giorgio Barbiani, Michele Fabro

Servizio fitosanitario e chimico, ricerca, sperimentazione e assistenza tecnica

Luca Poggetti, Paolo Ermacora, Pietro Zandigiacomo, Massimo Vischi

Dipartimento di Scienze Agroalimentari, Ambientali ed Animali, Università di Udine

Nel biennio 2016-2017 è stato condotto uno studio per la caratterizzazione genetica e fenotipica di un gruppo di varietà locali di mais a libera impollinazione, promosso tramite una Convenzione di ricerca stipulata tra l'Agenzia regionale per lo sviluppo rurale (ERSA) e il Dipartimento di Scienze Agroalimentari, Ambientali ed Animali (DI4A) dell'Università di Udine.

L'attuale panorama varietale del mais è caratterizzato da innumerevoli varietà ibride. I mais sul mercato appartengono a diverse classi FAO (dalla classe 200 di ibridi precocissimi, alla classe 800 di ibridi molto tardivi), principalmente da granella e silomais. Fino alla metà del Novecento la situazione era nettamente diversa: venivano coltivate diverse varietà solo a libera impollinazione derivanti da selezione massale. Anche allora erano presenti varietà precoci (a ciclo breve), denominate ad esempio 'quarantino' ('quaranta giorni') e 'cinquantino' o 'brigantino' ('cinquanta giorni'), adatte come secondo raccolto dopo un cereale autunno-vernino, e varietà più tardive da primo raccolto, denominate ad esempio 'maggengo' (varietà tardiva adatta per la semina in aprile-maggio), 'agostano' (varietà medio-tardiva, raccoglibile ad agosto-settembre). È interessante rilevare che nel 1950 in Provincia di Udine "resistevano" ancora 3.000

ettari coltivati a "Biancoperla" e 1.500 ettari a "Marano" (Montanari, 1954).

A partire dagli anni '50 le varietà ibride americane (prima ibridi a quattro vie, poi ibridi a tre vie, per arrivare a quelli a due vie) hanno preso progressivamente il posto delle varietà a libera impollinazione, in quanto queste ultime erano meno produttive, sebbene bisognose di minori input chimici e talvolta con granella di elevata qualità, in particolare per la produzione di farina da polenta.

Molte di queste varietà locali a libera impollinazione si sono tuttavia "salvate" grazie all'opera di tenaci agricoltori e di Enti di ricerca e sperimentazione che hanno raccolto e conservato questa importante sorgente di agrobiodiversità (AA.VV., 1987; Zandigiacomo *et al.*, 2015). Fra le varietà a libera impollinazione, ancora coltivate su limitate superfici, ricordiamo ad esempio diversi biotipi di "Biancoperla Friulano" (a seme bianco, a frattura vitrea) e del tipo "Marano" (a seme rosso, a frattura vitrea), utilizzati per farine di polenta di elevata qualità, nonché alcuni 'cinquantini' utilizzati ad esempio in prodotti tradizionali da forno. In Friuli Venezia Giulia diverse decine di accessioni di mais a libera impollinazione sono conservate presso le strutture dell'ERSA a Pozzuolo del Friuli (UD) e della Banca del Germoplasma Autoctono Vegetale (BaGAV) affidata all'Università degli Studi di Udine, ma anche presso agricoltori che le custodiscono per passione.

Scopo generale del progetto

Scopo del Progetto di ricerca era la caratterizzazione genetica e fenotipica di alcune della va-

rietà a libera impollinazione con caratteristiche di pregio per l'utilizzo nell'alimentazione umana, gettando le basi per una loro migliore conservazione ed una loro potenziale valorizzazione mediante iscrizione nel "Registro nazionale delle varietà da conservazione" (D.Lgs. 149 dd. 29.10.2009) o nell' "Anagrafe nazionale della biodiversità di interesse agricolo e alimentare" (L. 194/2015). La caratterizzazione ha avuto lo scopo di rendere distinguibile questo materiale rispetto ad altre varietà storiche presenti nel territorio friulano ed in altre Regioni italiane.

Attività di laboratorio

Varietà a libera impollinazione oggetto di studio

Le popolazioni di mais oggetto di studio sono raggruppabili in tre gruppi varietali: tipo Marano, tipo Biancoperla e tipi a granella Rossa. Per ognuno di questi gruppi sono state sottoposte ad indagine le seguenti varietà locali, o presunte tali, a fianco di varietà omonime provenienti da località fuori regione.

Gruppo Rossi - Rosso di San Daniele (rs), Rosso della Carnia (rc), Rosso di Aquileia (ra), Rosso del Piave (rp), Rosso di Storo (ms);

Gruppo Marano - Marano di Buja (mb), Marano di Aquileia (ma), Marano di Varmo (mv), Marano del Piemonte (mp), Marano di Vicenza (mvi), Marano di Padova (mpd);

Gruppo Biancoperla - Biancoperla Precoce (bpr), Biancoperla di Mortegliano (bpm), Biancoperla di Torviscosa (bpto), Biancoperla di Treviso (bpt), Biancoperla del Lazio (bpl);

Controlli per testare i primer - Lo863 (parentale 1), FVG 03 (parentale 2), Julian (ibrido).

Analisi genetiche

Le varietà di mais a libera impollinazione di norma sono più variabili degli ibridi dal punto di vista genetico, ma è comunque possibile dimostrare che sono distinguibili, uniformi e stabili. La metodologia di analisi adottata è stata quella della "bulk analysis", una strategia per il *finger-printing* molecolare con marcatori SSR (*Simple Sequence Repeat*) che permette di analizzare un elevato numero di individui e marcatori. La *bulk analysis* è particolarmente efficace nel caso in cui si lavori con popolazioni di piante annuali a libera impollinazione, per le quali non è

opportuno procedere con un'analisi individuale. Il DNA viene estratto dalle foglioline di almeno 30 piante scelte in maniera casuale. Per ogni varietà vengono quindi costituiti due *bulk* (gruppi di individui) combinando per ciascuno uguali quantità di DNA provenienti da almeno 15 individui. Si procede quindi con l'analisi dei due *bulk* con marcatori SSR.

Primer utilizzati

Il numero di primer da utilizzare dipende dal livello di accuratezza che si intende ottenere con la *bulk analysis*. Un numero accettabile per un'analisi sufficientemente robusta può essere determinato nell'ordine della decina, ma può arrivare anche a 45 nel caso in cui le popolazioni siano particolarmente simili. Dei 48 primer testati (cfr. Cömertpay *et al.*, 2012; Dubreuil *et al.*, 2006; Oppong *et al.*, 2014), 13 sono risultati idonei per svolgere le analisi descritte.

Analisi statistiche

Per l'analisi dei dati ottenuti sono stati utilizzati specifici software per la *fragment analysis*. L'adeguatezza dei marcatori individuati in bibliografia è stata testata utilizzando due linee *inbred* e l'ibrido da esse ottenute.

Risultati delle analisi genetiche

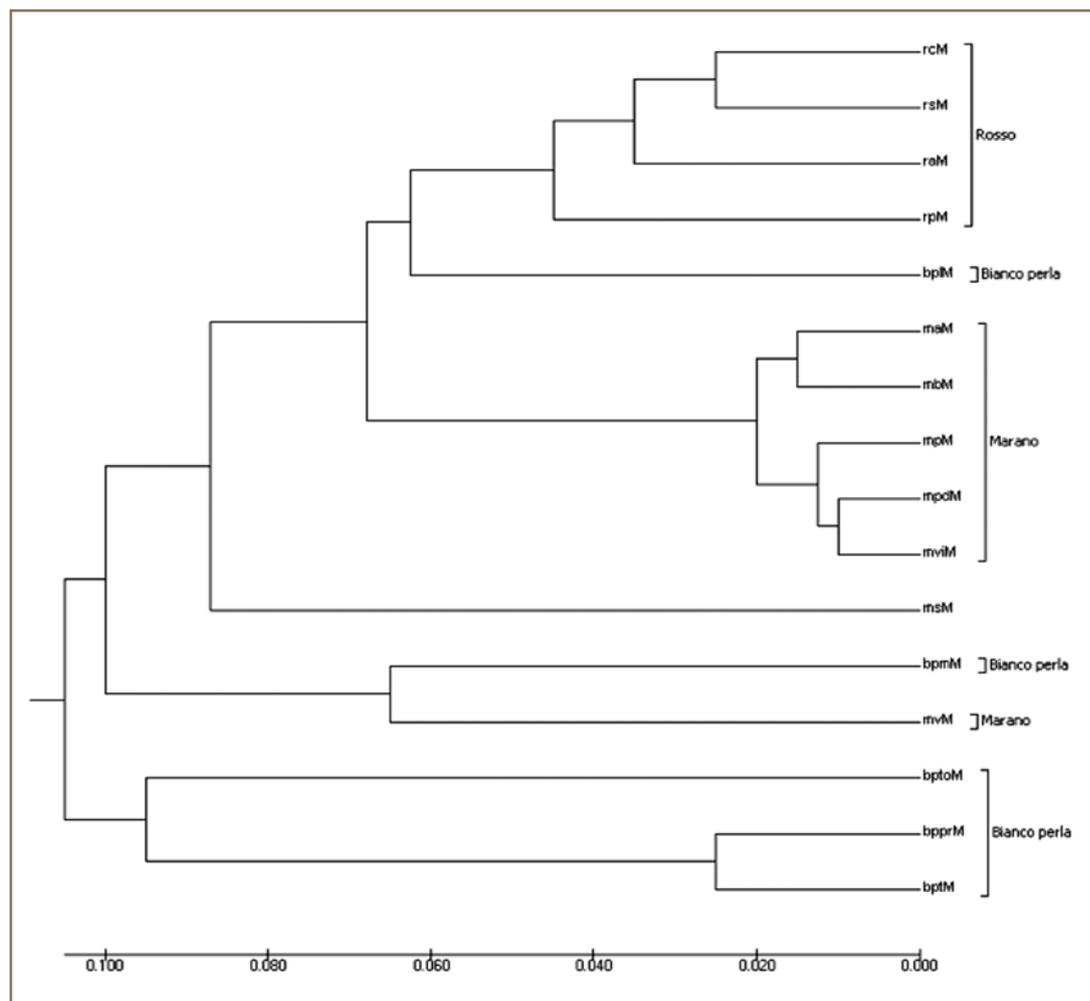
L'analisi basata su presenza/assenza di alleli ha dimostrato che i profili allelici delle 16 varietà di mais a libera impollinazione sottoposte ad analisi sono tutti diversi.

Ne consegue che ogni popolazione è totalmente distinguibile rispetto a ogni altra presente nel proprio "gruppo varietale".

L'analisi basata sulle frequenze alleliche ha permesso di costruire un albero di similarità dove sono evidenziati i vari gradi di distanza genetica tra le 16 varietà analizzate (Fig. 1).

- A) Per il gruppo dei "Rossi" è possibile notare che esiste una certa prossimità tra le tre varietà provenienti dal Friuli, mentre il "Rosso del Piave" risulta geneticamente più lontano. Il "Rosso di Storo" si colloca invece molto lontano rispetto al gruppo dei Rossi.
- B) Per il gruppo dei "Marano", l'albero appare più compatto rispetto a quello dei Rossi e dei Biancoperla e rispecchia in parte anche la maggiore similarità fenotipica tra le varietà ad esso appartenenti. Risulta evidente la vi-

Figura 1: Alberi di similarità genetica relativo a 16 varietà locali di mais a libera impollinazione ottenuto con la *bulk analysis* (UPGMA based on Rogers' Genetic Distances).



cinanza tra "Marano di Buja" e "Marano di Aquileia", ma anche la loro distanza rispetto ai "Marano" extra-regionali. Nota a parte merita la popolazione "Marano di Varmo", geneticamente più vicino al "Biancoperla di Mortegliano" rispetto al resto del gruppo "Marano".

- C) Il gruppo dei "Biancoperla" rappresenta invece il gruppo più eterogeneo, che a seconda delle popolazioni prese in considerazione presenta tratti riconducibili a volte ai "Rossi", altre ai "Marano". Da notare la vicinanza della popolazione friulana di "Biancoperla precoce" con "Biancoperla di Treviso". Queste, assieme al "Biancoperla di Torviscosa", costituiscono un gruppo che si discosta nettamente dalle restanti varietà analizzate, indipendentemente dai gruppi di appartenenza.

Attività di campo - studio fenotipico

Le varietà in studio sono state seminate in un appezzamento sperimentale a Castions di Strada

(UD). La conduzione agronomica è stata quella generalmente in uso nelle aziende friulane. Sulle 16 varietà locali di mais oggetto di studio e su una linea pura di riferimento sono state portate a termine osservazioni fenotipiche e fenologiche secondo quanto indicato nei descrittori UPOV (*International Union for the Protection of New Varieties of Plants*). Le osservazioni sono state effettuate con cadenza settimanale su un campione di 40 piante appartenenti a ciascuna varietà. I dati raccolti hanno consentito la creazione di un data-base e la determinazione, per ciascuna varietà, della percentuale di individui "fuori tipo" per ogni carattere osservato.

Conclusioni

I dati derivanti dagli studi di caratterizzazione genetica e fenotipica sono stati quindi tra loro integrati ed è stato possibile individuare cinque varietà che, per livello di "distinguibilità molecolare" ed elevato grado di uniformità, sono candidabili all'iscrizione al Registro nazionale delle



Figura 2:
A - Biancoperla,
Verzegnig 2017;
B - Marano di Buja
(cinquantin).

varietà da conservazione. Esse sono "Marano di Buia" e "Marano di Aquileia", "Biancoperla Precoce", "Rosso di Aquileia" e "Rosso Carnia". Sicuramente le rese ad ettaro di queste varietà faranno sorridere i maicoltori specializzati, che puntano a produzioni sempre più elevate. Ma una loro potenziale iscrizione al registro varietale e la conseguente possibilità di commercializzarne la semente ed estenderne "legalmente" la coltivazione fa sorridere, invece, coloro i quali le hanno caparbiamente conservate e che nel presente studio non possono che vedere il coronamento dei loro sforzi. Va notato, poi, che le rese poco entusiasmanti sono però accompagnate da un minor fabbisogno di input produttivi, da cicli di coltivazione brevi che permettono a queste colture di sfuggire il più delle volte a parassiti e patogeni. Il loro impiego nell'alimentazione umana, giustificato anche da un maggiore contenuto in grassi, proteine e soprattutto polifenoli rispetto agli ibridi commerciali (dati ERSA), non può che aumentarne il valore aggiunto. Ovviamente non è pensabile che le varietà tradizionali oggetto di questo studio possano prendere il posto degli ibridi nella maicoltura specializzata; alle prime può però essere riservata una "nicchia" nel comparto del mais destinato all'alimentazione umana, accanto alle altre specialità enogastronomiche regionali, creando economie locali anche importanti come è già successo in altre realtà italiane.

Bibliografia

- AA.VV., 1987. Polenta di qualità in Friuli. C.C.I.A.A. Udine e C.R.S.A. Pozzuolo del Friuli; Chiandetti editore: 158 pp.
- Cömertpay G., Baloch F.S., Kilian B., Ülger A.C., Özkan H., 2012. Diversity assessment of Turkish maize landraces based on fluorescent labelled SSR markers. *Plant Molecular Biology Reporter*, 30 (2): 261-274.
- Dubreuil P., Warburton M., Chastanet M., Hoi-sington D., Charcosset A., 2006. More on the introduction of temperate maize into Europe: large-scale bulk SSR genotyping and new historical elements. *Maydica*, 51 (2): 281-291.
- Montanari V., 1954. I mais ibridi nelle Venezie: diffusione attuale e prospettive d'incrementi futuri. *Atti del 1° congresso nazionale dei mais ibridi*, Vicenza 21 febbraio 1954, Istituto di tecnica agraria "Nazareno Strampelli", Tipografia del Libro: 31-72.
- Oppong A., Bedoya C.A., Ewool M.B., Asante M.D., Thomson R.N., Adu-Dapaah H., Lamptey J.N.L., Ofori K., Offei S.K., Warburton M.L., 2014. Bulk genetic characterization of Ghanaian maize landraces using microsatellite markers. *Maydica*, 59 (1): 1-8.
- Zandigiacomo P., Ermacora P., Miceli F., 2015. La Banca del Germoplasma Autoctono Vegetale del Friuli Venezia Giulia. In: Guida alla mostra "Il Grano. Storia di una pianta rivoluzionaria". Edizioni del Museo Friulano di Storia Naturale, Udine (Cataloghi delle Mostre n. 23): 59-62.