

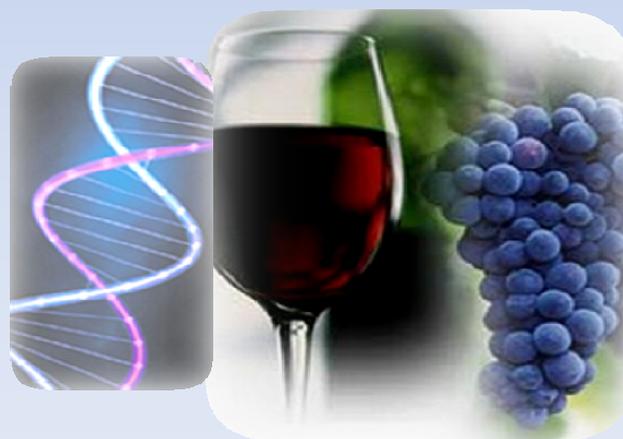


Consorzio di Ricerca  
sul Rischio Biologico in Agricoltura



# SICILIA...un'isola di salute!

## La vite, l'uva, il vino.



Verona - Vinitaly 11 Aprile 2010

# IDENTIFICAZIONE VARIETALE DEI VITIGNI

## LA CARATTERIZZAZIONE DELLA VARIETA' DI VITE CON MARCATORI DEL DNA OFFRE LA POSSIBILITA' DI:

- valutare l'effettiva diversita' del germoplasma viticolo
- di stabilire il profilo molecolare riconoscitivo delle singole varieta'.

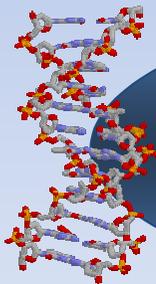
## Microsatelliti

- marcatori molecolari
- distribuiti casualmente nel genoma degli eucarioti
- regioni del DNA costituite da brevi sequenze nucleotidiche elementari (es. ATATAT) ripetute in tandem

Tali sequenze sono variabili sia nel numero di volte che vengono ripetute sia nel tipo di basi nucleotidiche che le costituiscono (**polimorfismo**)

# VITIGNI AUTOCTONI E MICROSATELLITI

- 383 CAMPIONI DI VITE (Campo Biesina di Marsala e vigneti siciliani) DI VARIETA' BIANCHE E NERE DI INTERESSE REGIONALE E LOCALE
- 69 CAMPIONI: VARIETA' DI PIANTE MADRI PORTINNESTO (Campo di omologazione dell'Az. Bifarera Vivaio "Federico Paulsen")



L'obiettivo del Co.Ri.Bi.A. è stato quello di caratterizzare a livello molecolare tutti i vitigni siciliani e di creare una banca dati di riferimento per la tracciabilità su base genetica dei materiali di produzione vivaistica.

Le accessioni di vite, sono state esaminate ai 6 loci del genoma di vite corrispondenti ai marcatori microsatelliti più usati dalla comunità scientifica (Progetto EU GenRes 081): MARCATORI MOLECOLARI DI ELEZIONE PER LA DEFINIZIONE DELLE IDENTITÀ E LE RELAZIONI GENETICHE DELLE VARIETÀ DI *Vitis vinifera*.

## ESTRAZIONE DEL DNA

Materiale utilizzato: giovani foglioline e legno dei principali vitigni autoctoni di interesse regionale e locale

## ANALISI MICROSATELLITE

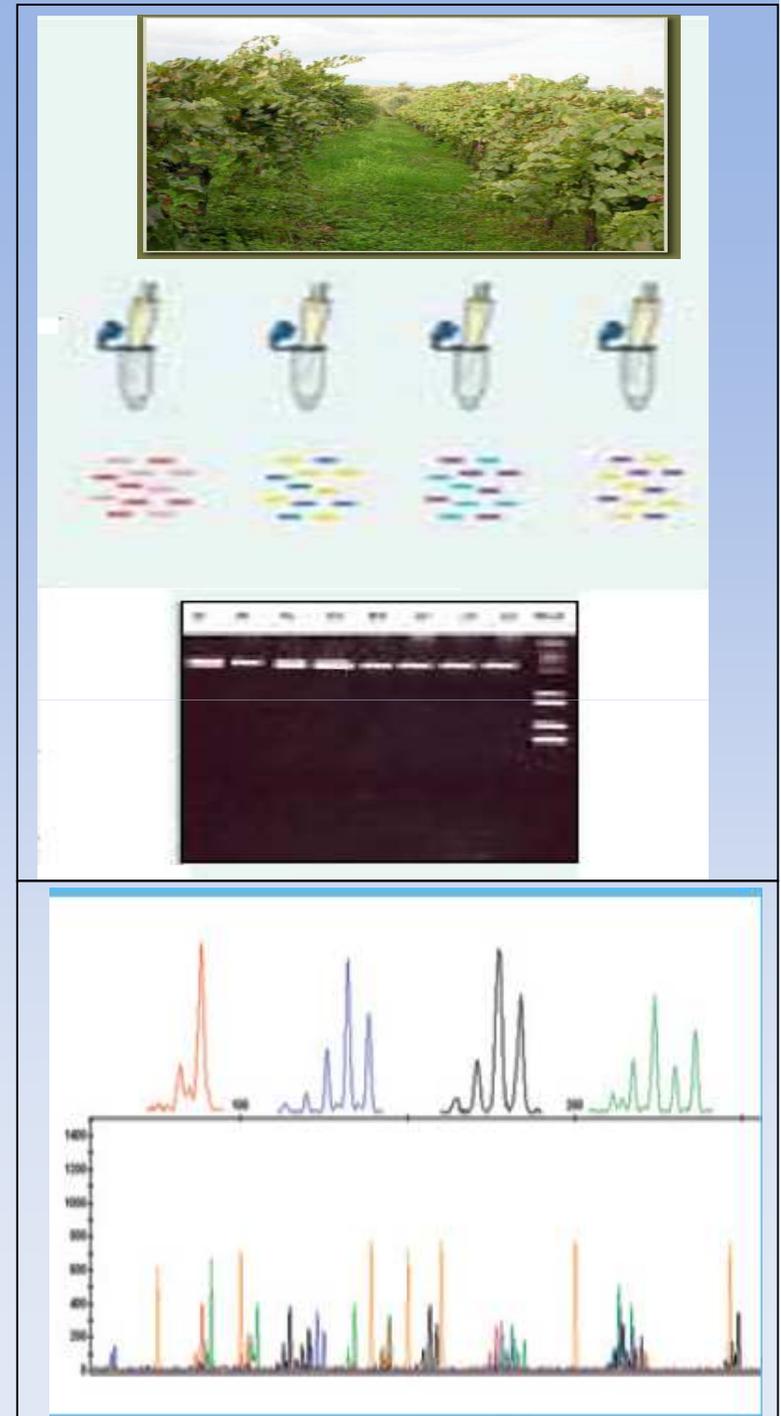
### ❖ AMPLIFICAZIONE - PCR



MARCATORI MICROSATELLITI	
<b>VVS2</b>	(Thomas, Scott, 1993)
<b>VVMD5</b>	(Bowers <i>et al.</i> , 1996)
<b>VVMD7</b>	(Bowers <i>et al.</i> , 1996)
<b>VVMD27</b>	(Bowers <i>et al.</i> , 1999)
<b>ZAG62</b>	(Sefc <i>et al.</i> , 1999)
<b>ZAG 79</b>	(Sefc <i>et al.</i> , 1999)

❖ ELETTOFORESI CAPILLARE - ABI 3130 XL  
(Applied Biosystems) ED ANALISI DEI DATI CON IL  
SOFTWARE GENEMAPPER (Applied Biosystems)

## IDENTIFICAZIONE VARIETALE



# PROFILI MOLECOLARI DI ALCUNI VITIGNI AUTOCTONI

	VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD27		VrZag62		VrZag79	
	Peak1	Peak2	Peak1	Peak2	Peak1	Peak2	Peak1	Peak2	Peak1	Peak2	Peak1	Peak2
<b>Frappato</b>	128	138	224	224	239	239	175	181	192	194	243	249
<b>Nerello mascalese</b>	128	138	224	234	239	249	175	175	194	200	251	259
<b>Nero D'avola</b>	138	146	224	238	239	249	177	177	184	200	251	251
<b>Catarrato</b>	138	146	224	224	239	249	175	175	198	200	251	251
<b>Grecanico</b>	128	138	224	230	249	253	175	189	198	198	251	251
<b>Grillo</b>	138	144	224	226	249	249	175	189	184	200	247	251
<b>Inzolia</b>	130	138	224	238	239	247	175	179	186	200	247	251

## VITIGNI AUTOCTONI DI INTERESSE REGIONALE

<b>VARIETA' BIANCHE</b>	<b>VARIETA' NERE</b>
GRILLO	FRAPPATO
INZOLIA	NERO D'AVOLA
CATARRATTO	NERELLO MASCALESE
GRECANICO	



## VITIGNI AUTOCTONI DI INTERESSE LOCALE

<b>VARIETA' BIANCHE</b>	<b>VARIETA' NERE</b>
CARRICANTE	ALICANTE
MINNELLA BIANCA	NERELLO CAPPUCCIO
ALBANELLO	PERRICONE
DAMASCHINO	NOCERA
MOSCATO	MINNELLA NERA
ZIBIBBO	
MALVASIA DI LIPARI	
MUSCATINNUNI	



### PORTINNESTI

779 PAULSEN
1103 PAULSEN
775 PAULSEN
41B
17.37
225 RUGGERI
1447
161.49C
34 EM
140 RU
161.49
1045P
Rupestris du lot



Il lavoro di identificazione e caratterizzazione varietale che il CONSORZIO sta conducendo in questo settore da diversi anni, ha portato a chiarimento di casi di omonimia, sinonimia e all'identificazione dei vecchi vitigni definiti : "RELIQUIE"

**RELIQUIE - Campo Biesina - *Centro per l'innovazione della filiera vitivinicola, Marsala - Assessorato Agricoltura e Foreste della Regione Sicilia***

Albanello, Alzano, Barbarossa, Barbera, Barbera (paternò), Barbera (scala), Bottone gallo, Bracaù, Canina, Carnuffino, Catanese Bianca, Catanese nera, Coda di volpe, Cori di palummo, Corinto nero, Cornicchiola\corniola, Cutrera, Dolcetta, Dunnuni, Fiore d'Arancio, Giacche, Grosso nero, Inzolia nera, Lucignola, Maiulina, Mantellato.

Moscato nero, Nivureddu, Muscatedda, Nizzucca, Oriddru, Oriddu, Orisi, Palermitano, Precoce, Preventivo, Prunella, Prunesta, Prunestra, Racina di vento, Racinedda, Recunu, Recunu(di raim.), Regina, Rosata, Rosato, Rucignola, Scassa butti, Tallone, Tintorè o Ibisu, Tremal, Visparola, Vitrarolo, Vutraruolo, Zù Matteo, Zuccaratu.



# IDENTIFICAZIONE VARIETALE SU MOSTI

- Si è effettuata l'autenticazione varietale di mosti di *Vitis Vinifera* usando l'analisi dei microsatelliti (SSR)
- La tecnica di estrazione del DNA da foglie è stata applicata ai mosti prevedendo alcune modifiche al protocollo di estrazione per la natura diversa del campione di partenza.
- L'utilizzo di SSR su mosto ha permesso di determinare non solo la presenza/assenza di certe varietà ma anche l'identificazione di altre che potrebbero essere presenti nel mosto.

# Qualità dell'uva e del mosto: identificazione di *A. carbonarius*

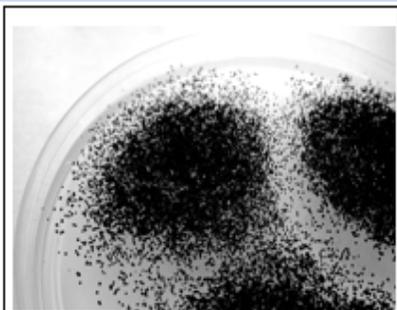
**Aspergilli**



I funghi associati all'uva in grado di produrre OTA (Tossina ad attività cancerogena, nefrotossica, mutagena, immunosoppressiva, teratogena, genotossica) **sono risultati essere** appartenenti ai generi *Aspergillus* e/o *Penicillium*.

## ANALISI MICROBIOLOGICA

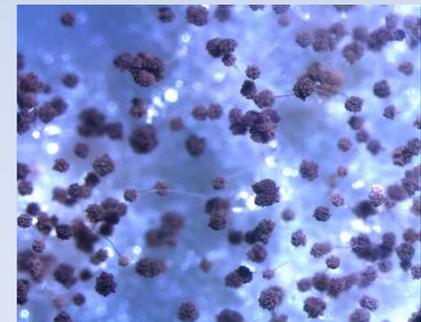
Isolamento di miceti da campioni di acini e mosto (vendemmia 2008) su



- MEA (Malt Extract Agar)
- MEA-B (Malt Extract Boscalid Agar)

**Gli Aspergilli sono risultati dominanti:  
(7 campioni su 140)**

**isolati positivi per l'OTA - *Funghi produttori:*  
in particolare della sezione *Nigri:*  
*A. carbonarius.***



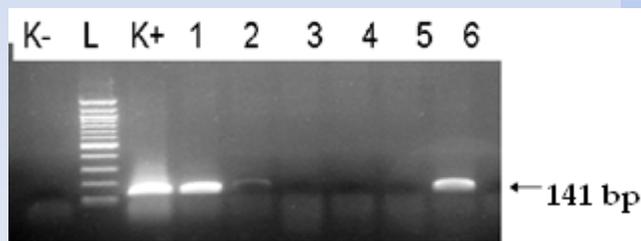
# ANALISI MOLECOLARE

**“Early Detection”  
di *Aspergillus carbonarius*  
attraverso lo studio di marker  
molecolari idonei**



**Rilevamento tempestivo  
di *A.carbonarius*  
direttamente da bacche  
d’uva e mosto**

**Selezione tra i marker potenzialmente idonei  
all’ early detection di *A. carbonarius*: gene *Pks***



Analisi **P.C.R.**(Polymerase chain reaction)specie-specifica su DNA estratto da acini e mosto e per conferma da isolati su piastra

## AREA BIOTECNOLOGIE:

- IDENTIFICAZIONE VARIETALE DI CHARDONNAY, PINOT NERO, NERELLO MASCALESE, CATARRATTO, CARRICANTE, MOSCATO DI NOTO, NOCERA.
- DETERMINAZIONE MOLEOLARE DEL CEPPO FUNGINEO ASPERGILLUS CARBONARIUS

## AREA CHIMICA:

- RICERCA DI METALLI NEL VINO: PB, Cu, Zn (OIV MA –E-AS322); Li (vino e mosto DM12/03/1986 GU n.161 14/07/1986)
- RICERCA DI Ocratossina A
- Determinazione dell'indice di Folin-Ciocalteu (Reg.CEE 2676/90 del 17/09/1990 )

**ACCREDIA**

**CERTIFICATO DI ACCREDITAMENTO**  
*Accreditation Certificate*

Accreditamento n° **0987** Rev. **0**

Il titolare (che ha richiesto) **CO.RI.BI.A. Consorzio di Ricerca sul Rischio Biologico in Agricoltura**  
Sede: Via Gino Mannazi, 3 - 90129 - Palermo (PA)

Il campo di attività (della norma) **UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2005. Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e taratura**

Il campo di attività (dei standard) **EN ISO/IEC 17025:2005. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories' standard**

Il tipo **Laboratorio di Prova**  
or **Testing Laboratory**

L'accertamento attesta la competenza tecnica del Laboratorio relativamente allo scopo riportato nelle schede allegate al presente certificato. Le schede possono variare nel tempo. I requisiti gestionali della ISO/IEC 17025:2005 (paragrafo 4) sono scritti in un linguaggio idoneo all'attività del laboratorio di Prova, sono conformi ai principi della ISO 9001:2008 ed allineati con i suoi requisiti applicativi. Il presente certificato non è di ritenuto valido se non accompagnato dalle schede allegate e può essere sospeso o revocato in qualsiasi momento nel caso di inadempienza accertata da parte di ACCREDIA. La validità dell'accertamento può essere verificata sul sito WEB ([www.accredia.it](http://www.accredia.it)) o richiesta direttamente ai singoli Dipartimenti.

*The accreditation certifies the technical competence of the laboratory limited to the scope detailed in the attached Enclosure. The scope may vary in the time. The management system requirements in ISO/IEC 17025:2005 (Section 4) are written in a language suitable for testing laboratories operations and meet the principles of ISO 9001:2008 and are aligned with its pertinent requirements. The present certificate is valid only if associated to the annexed schedule, and can be suspend or withdrawn at any time in the event of non fulfillment as ascertained by ACCREDIA. The in force status of the accreditation may be checked in the WEB site ([www.accredia.it](http://www.accredia.it)) or on direct request to appointed Departments.*

Data di 1° emissione Issuance date <b>2009-10-14</b>	Data di modifica Modification date <b>2009-10-14</b>	Data di scadenza Expiry date <b>2013-10-13</b>
------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------

Il Direttore Generale  
The General Director  
(Dr. Filippo Tilletti)

Il Direttore di Dipartimento  
Department Director  
(Dr. Paolo Bianco)

Il Presidente  
The President  
(Car. del Lav. Federico Guzzò)

ACCREDIA s.p.a.  
00187/015 - Dipartimento Laboratorio di Prova

Piazza Marconi, 2 | 00198 Roma - Italy - Tel. +39 06 84889011 - Fax +39 06 84881199  
certificazioni@accredia.it | www.accredia.it | Pagine Gialle - Laboratorio 1564-363910

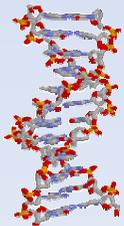
# PROSPETTIVE FUTURE

...IDENTITA' GENETICA IN  
BOTTIGLIA...?!



## STATO DELL'ARTE

PRIME PROVE  
SPERIMENTALI SU VINO  
MONOVARIETALE:  
NERO D'AVOLA  
(VENDEMMIA 2009)



Difficoltà tecniche riconducibili a:

- 1) presenza di inibitori
- 2) DNA fortemente degradato

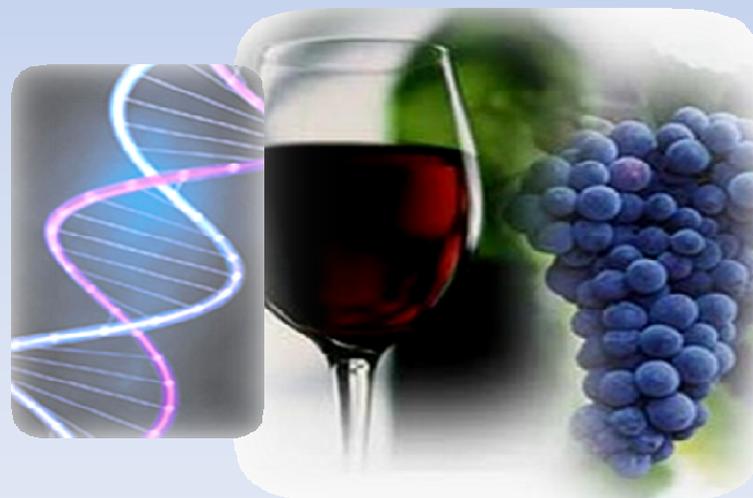
**Primo innovativo controllo genetico sul vino.**

# Fingerprinting genetico: filiera vitivinicola

Perché è importante la tracciabilità genetica:

- per offrire una maggiore **garanzia e trasparenza** al consumatore
  - veridicità delle indicazioni presenti sulle etichette
  - autenticità delle uve e quindi dei vini
- per valorizzare e tutelare le **produzioni tipiche**
- per dare un **valore aggiunto** al prodotto.

# Grazie per l'attenzione!



Verona - Vinitaly 11 Aprile 2010

*Dr.ssa Francesca Oliveri*