

## Miglioramento genetico per la costituzione varietale di carciofo e definizione di un itinerario tecnico di coltivazione

Mario A. Pagnotta<sup>1\*</sup>, Paola Crinò<sup>2</sup>, Rusty Jordan<sup>3</sup>, Fabio Micozzi<sup>1</sup>, Olindo Temperini<sup>1</sup>, Andrea Temperini<sup>1</sup>, Nestor Alonso Rey<sup>1</sup>, Luigi Cardarelli<sup>1</sup>, Roberto Mariotti<sup>4</sup> e Francesco Saccardo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento DAFNE, Università della Tuscia, Viterbo

<sup>2</sup> ENEA C.R. Casaccia, Unità Sviluppo sostenibile ed innovazione del sistema agro-industriale, Roma

<sup>3</sup> Big Hearth Seed Company, Brawley, USA

<sup>4</sup> ARSIAL, Centro Dimostrativo, Tarquinia (VT)

### Globe artichoke breeding for variety release and propagation systems

**Abstract.** The present paper summarizes all activities, carried out by the University of Tuscia, in collaboration with ENEA, within the CAR-VARVI project funded by MiPAAF, on the following four main themes: (i) selection and plant breeding from clones agamically propagated and obtained from indigenous landraces, (ii) production of seed propagated materials (F1 hybrids), (iii) production of a molecular fingerprint that uniquely identifies the different clones/lines/hybrids and protects them from frauds, (iv) identification of technical agronomical techniques (plant time and density) suitable for cultivation of F1 hybrids. With regard to the first issue, three Romanesco clones have been approved for inclusion into Italian National Register of Plant Varieties with the names of Donatello, Raffaello and Michelangelo. For the production of seed propagated materials, the development of F1 hybrids is an important goal in the modernization of globe artichoke crop. During the last thirteen years, a program of genetic improvement was carried out in order to obtain new F1 hybrids stable and interesting for Italian market. A strategy for the development of F1 hybrids must firstly based on the use of stable male and female parental lines. Some male sterile clones were selected and individuated as good female parents; some stable male fertile genotypes were also selected either for morpho-physiological traits or for molecular profiles. Different cross-combinations were developed both in Italy and in USA, in order to compare in both environments the different hybrids obtained and to individuate the most homogeneous ones. Some F1 hybrid obtained was homogeneous and will be soon ready for the commercialization. This is the case of the F1 hybrid named Romolo. Selected materials were also characterized molecularly obtaining unique amplification profiles.

Finally, suitable cultivation protocols have been developed in particular for F1 hybrid Romolo; the agronomical protocols were aimed at obtaining high yields of heads and seeds as well as high quantities of oil.

**Key words:** F1 hybrids, male sterility, Romanesco clones, ISSR, AFLP, agamic propagation, gametic propagation, seed.

### Introduzione

Il carciofo (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* L.,  $2n = 2x = 34$ ) è una delle più importanti colture ortive in Italia, primo Paese produttore a livello mondiale con 50.321 ha coltivati e 480.112 t di capolini raccolti (dati FAO 2010). I maggiori paesi produttori sono anche la Spagna, il Perù, l'Argentina, la Cina e l'Egitto; quest'ultimo ha registrato un progressivo aumento di esportazione di prodotto (8.303 t nel 2010 con un corrispondente valore di 9.925.000 \$, dati FAO, 2010) che arriva sui mercati in concomitanza con le produzioni siciliane e pugliesi. Questo causa una negativa influenza sul prezzo del mercato comunitario, non avendo l'Unione Europea adottato misure efficaci per regolamentare l'ingresso dei prodotti extra-europei (Agostinucci e Loseby, 2007).

La propagazione e la costituzione di nuove varietà sono ancora oggi affidate all'utilizzo della tecnica agamica (carducci ed ovoli) che però comporta alti costi di impianto della carciofaia e problemi tipici di una coltura poliennale quali scarsa densità di piante e contemporaneità di maturazione, ampia eterogeneità del materiale genetico e condizioni fitosanitarie spesso incerte. L'impiego quasi esclusivo di varietà tradizionali locali e la moltiplicazione per via agamica sono un ostacolo per lo sviluppo vivaistico del carciofo e per la gestione agronomica della coltura; quest'ultima risulta difficoltosa in quanto le varietà tradizionali sono caratterizzate da un'elevata variabilità

\* pagnotta@unitus.it

dovuta al fatto che, in genere, sono costituite da popolazioni eterogenee. Molte problematiche possono essere superate, sebbene a costi elevati e con strutture altamente specializzate, ricorrendo alla micropropagazione per il risanamento da virus e l'ottenimento di carciofaie omogenee. La disponibilità di popolazioni autoctone eterogenee rappresenta comunque una fonte di variabilità genetica da cui attingere, attraverso selezione, per nuove costituzioni varietali.

Esistono comunque concrete prospettive di ripresa. Oltre ad un'auspicabile riforma delle organizzazioni comuni di mercato (OCM) del settore ortofrutticolo, nuove potenzialità produttive sono rappresentate dal miglioramento genetico e dalla selezione di nuove cultivar che meglio rispondono alle esigenze di produzione (uniformità, attitudine alla raccolta meccanica) e di mercato (precocità, caratteristiche merceologiche), dall'utilizzo di sistemi razionali di gestione dei tradizionali materiali di propagazione e dall'impiego di nuove tecniche di propagazione. Inoltre, la normativa fitosanitaria e sementiera è cambiata e, con il recepimento della direttiva 2006/124/CE, viene introdotto l'obbligo di registrazione varietale anche per la commercializzazione delle sementi di varietà di carciofo.

Negli ultimi anni, l'impegno profuso nella costituzione di varietà di carciofo da seme è stato sempre più importante, sia da parte di ditte sementiere (Nunhems, Topseed, Lamboseed, Agriseeds, ecc.) che di Enti pubblici (Università della Tuscia, ARSIAL, ENEA, ecc.). Nello stesso tempo è cresciuto, da parte dei cinaricoltori, l'interesse all'impiego di varietà di carciofo riproducibili via seme, in quanto, garantiscono indubbi vantaggi rispetto al metodo tradizionale di propagazione (carducci, ovuli e piante micropropagate) quali, ad esempio, minor costo delle piante, facilità di programmazione dell'epoca d'impianto, riduzione del ciclo colturale (da poliennale ad annuale). Oltre alla produzione di capolini da destinare al mercato del fresco, è interessante anche la produzione di acheni sia per l'industria di trasformazione (farmacologica, olearia, ecc.) nonché per le ditte sementiere.

Nell'ambito del progetto CAR-VARVI finanziato dal MiPAAF, l'Università della Tuscia in stretta collaborazione con ENEA, Big Heart Seed Company e ARSIAL, ha svolto attività di ricerca finalizzate a quattro obiettivi principali:

- selezione e costituzione di varietà propagate agamicamente da cloni ottenuti da popolazioni autoctone;
- realizzazione di materiali propagati via seme (ibridi F1);
- produzione di un *fingerprinting* molecolare che identifichi in modo univoco i diversi cloni / linee /

ibridi proteggendoli da eventuali frodi;

- identificazione di tecniche agronomiche (epoca e densità di semina) idonee alla coltivazione degli ibridi F1.

Riguardo a quest'ultimo obiettivo, poiché la maggior parte degli studi di tecnica agronomica (densità colturale, epoca d'impianto, ecc.) sin qui condotti si riferiscono a carciofaie impiantate con tecniche tradizionali, si è ritenuto interessante impostare delle prove agronomiche al fine di contribuire a definire un itinerario tecnico adeguato alla coltivazione del carciofo propagato via seme.

## Materiali e metodi

### *Selezione e costituzione di varietà propagate agamicamente da cloni provenienti da popolazioni autoctone*

Il materiale proviene da piantine raccolte in aziende che ancora coltivano popolazioni locali quali Castellammare e Campagnano, per quanto riguarda la tipologia Romanesco, e altre tipiche della Regione Marche, Campania e Toscana. Da ogni singolo carduccio collezionato sono state ottenute popolazioni clonali mediante la micropropagazione in vitro effettuata presso l'ENEA C.R. Casaccia. I cloni sono stati allevati in campo, a Cerveteri (Roma), secondo uno schema a blocchi randomizzati di 60 piante/clone, suddivise in quattro repliche e caratterizzate con i descrittori morfo-fisiologici riportati da Crinò *et al.* (2008) e da Ciancolini *et al.* (2012). Il DNA, estratto dagli stessi cloni secondo protocollo CTAB (*hexadecyltrimethylammonium bromide*) modificato, è stato valutato utilizzando marcatori molecolari di tipo AFLP, ISSR e SSR. Inoltre, limitatamente ai cloni selezionati, sono state applicate tecniche in vitro per il risanamento da virus basate sulla termoterapia e sulla coltura d'apice dal gruppo del CRA- Centro di Ricerca per la Patologia Vegetale, secondo le metodologie sviluppate da Babes *et al.* (2004).

### *Realizzazione di germoplasma propagato per via gamica (linee parentali di ibridi F1)*

I cloni maschio sterili MS 6 e MS 16, attualmente disponibili e selezionati, applicando la tecnica di colorazione del polline con il carminio acetico, da popolazioni segreganti (Stamigna *et al.*, 2004), sono stati studiati per caratterizzare geneticamente il carattere (Lo Bianco *et al.*, 2012 a). Questi sono stati usati come parentali femminili per costituire ibridi F1 sia in Italia che in USA. Dalla loro segregazione sono stati isolati altri 20 nuovi maschio sterili appartenenti alle diverse tipologie (violetto, spinoso, romanesco, ecc.). Analogamente, da selezioni su popolazioni segre-

ti, sono state individuate e ottenute linee maschio fertili (MF) piuttosto stabili quali i genotipi AM 1 e AM 2, S. Erasmo, Brindisino, Terom assieme ad altre ottenute in California (es.: F 19 17/1, 9BDG, OMAHA, BN 22-2), tutti utilizzati come parentali maschili.

Le linee ibred MF, da utilizzare come parentali nelle ibridazioni, sono state rese omogenee mediante autofecondazioni alternate con sib-crosses, propagazione vegetativa e micropropagazione. Le autofecondazioni ripetute devono essere limitate per evitare fenomeni di depressione da inbreeding con effetti negativi sul vigore della pianta, sul numero e dimensioni dei capolini, sulla qualità e quantità del polline e sul numero di semi vitali. Per la moltiplicazione dei parentali maschio sterili è stata applicata soprattutto la micropropagazione oltre alla tradizionale propagazione vegetativa via carduccio.

La complementarità delle analisi morfologiche e molecolari può contribuire ad identificare e classificare le risorse genetiche vegetali utili nello sviluppo degli ibridi F1 (Crinò *et al.*, 2008; Mondini *et al.*, 2009; Lo Bianco *et al.*, 2011; Boury *et al.*, 2012). La caratterizzazione morfologica, pre-requisito fondamentale per ottenere linee omogenee (Crinò *et al.*, 2008; Ciancolini *et al.*, 2012), è stata applicata sul germoplasma MF e MS sia in Italia che in California. Sono stati applicati marcatori molecolari AFLP, ISSR e SSR che hanno dimostrato di essere strumenti utili e completi per la determinazione delle distanze genetiche tra i genitori.

#### *Sviluppo di ibridi F1*

In base alle selezioni condotte nell'ambito di una collaborazione tra l'Università della Tuscia, ENEA e Big Hearth Seed Company (Brawley, California) per identificare le linee maschio sterili (MS) e maschio fertili (MF) valide e caratterizzate sia da stabilità genetica sia da buona attitudine combinatoria, sono state effettuate circa 200 combinazioni di incrocio. Queste sono state caratterizzate da un punto di vista morfologico e agronomico e selezionate a Tarquinia (Viterbo) e a Brawley (California). Anche in questo caso, sono stati utilizzati i descrittori morfologici riportati da Ciancolini *et al.* (2012) e sono stati sviluppati i fingerprinting molecolari per gli ibridi di maggiore interesse. Per la valutazione agronomica degli ibridi, a Tarquinia sono stati messi in confronto gli ibridi commerciali con i migliori selezionati in California. Per la prova in campo a Tarquinia, è stato applicato lo schema a blocchi randomizzati con 3 ripetizioni/genotipo e 20 piante/replica. A Brawley, ogni ibrido è stato disposto in parcelloni di 50 piante ciascuna ripetute due volte. In entrambi i casi, le ana-

lisi morfologiche sono state effettuate su tre piante centrali per parcella.

#### *Produzione di fingerprinting molecolare su cloni / linee / ibridi*

Utilizzando kit d'estrazione Invitrogen ed EURx (Pagnotta *et al.*, 2012), è stato estratto il DNA da campioni fogliari delle accessioni di carciofo Romanesco provenienti dalla Regione Lazio, dal gemoplasma (linee parentali e progenie) allevato presso la Big Heart Seed Company (California) e dai cloni forniti dall'Università degli Studi di Pisa per un totale di 241 genotipi. Il DNA, dopo quantificazione e purificazione, è stato utilizzato nell'analisi molecolare con marcatori di tipo AFLP, ISSR e SSR (Ciancolini *et al.*, 2012) che, seguendo le procedure descritte da Boury *et al.* (2012) e Ciancolini *et al.* (2012), sono stati amplificati, fatti correre su sequenziatore ABI 3130 xl e letti mediante il software Gene Map.

#### *Identificazione di tecniche agronomiche (epoca e densità di semina) per la coltivazione di ibridi F1*

##### *Produzione di capolini (annate agrarie 2009/10 e 2010/11)*

È stata effettuata una prova sperimentale per studiare l'effetto dell'epoca e densità di trapianto sull'ibrido F1 Romolo afferente alla tipologia romanesco. L'attività di ricerca è stata interamente svolta all'interno delle strutture dell'Azienda Agraria sperimentale ARSIAL sita in Tarquinia (VT). La sperimentazione è stata impostata secondo uno schema a blocchi randomizzati con tre ripetizioni di 25 piante ciascuna (5 file di 5 piante); l'area di saggio era costituita da 9 piante centrali.

La semina è stata effettuata a distanza di 40 giorni dal trapianto, disponendo i semi in contenitori alveolati con 64 fori all'interno di una serra climatizzata. Come terriccio, è stato impiegato il substrato "Huminsubstrat" (Neuhaus Italia). Il fabbisogno irriguo è stato soddisfatto attraverso l'irrigazione localizzata a goccia. L'apporto dei fertilizzanti è avvenuto in parte attraverso la concimazione d'impianto e in parte (azoto in particolare) in fertirrigazione.

L'attività è stata articolata in due prove:

- confronto tra tre epoche di trapianto quali 15 luglio, 30 luglio e 16 agosto (0,77 piante·m<sup>-2</sup> con 1,3 m tra le file e 1 m sulla fila);
- confronto tra quattro densità colturali quali 0,48, 0,64, 0,96 e 1,92 piante m<sup>-2</sup> (1,3 m tra le file e 1,6 m, 1,2 m, 0,8 m e 0,4 m lungo la fila).

La data di trapianto del 16 agosto è stata scelta come controllo in quanto coincidente con il periodo utilizzato dai cinaricoltori locali per l'impianto delle

carciofaie. Relativamente alla pianta, è stata rilevata l'altezza (dal colletto alla base del cimaro) e la larghezza (proiezione media della chioma sul terreno). Per i capolini destinati al mercato del fresco (cimaro, capolini di I e II ordine), sono stati considerati la data di raccolta, il diametro dello stelo (a 10 centimetri dalla base del capolino), l'altezza (dalla base all'apice), la larghezza (nel punto più largo), e il peso (escluso lo stelo). Per i capolini di ordine superiore al secondo, destinati solitamente all'industria di trasformazione (carciofina), sono stati considerati il peso medio e il numero di capolini per pianta.

#### *Produzione di semi (annata agraria 2011/12)*

In collaborazione con ARSIAL e nell'ambito di un dottorato di Ricerca finanziato dal MiPAAF, è stata condotta una sperimentazione volta a valutare il comportamento vegeto-produttivo del carciofo propagato via seme nell'agro di Cerveteri. La prova, impostata secondo lo schema sperimentale a parcelle suddivise, prevedeva il confronto di due ibridi di carciofo (Istar e Romolo) seminati in due epoche (24 agosto e 15 settembre) e a quattro densità colturali (0,83-1,39-1,85 e 2,78 piante m<sup>-2</sup>).

L'impianto è stato effettuato mediante semina diretta, disponendo 5 semi per postarella. A distanza di circa 20 giorni è stato effettuato un primo diradamento delle piantine lasciando 2 piantine per postarella. Dopo ulteriori 20 giorni, è stato effettuato un ulteriore diradamento delle piante lasciando una sola pianta per postarella e garantendo così la densità colturale programmata. L'approvvigionamento idrico della coltura è stato effettuato mediante impianto di irrigazione localizzato a goccia mentre, per far fronte al fabbisogno nutrizionale, sono stati distribuiti 500 kg di concime ternario NPK (11-22-16) e, in copertura, 100 kg di urea in fertirrigazione in tre interventi.

I rilievi hanno riguardato il numero di capolini e il numero di semi prodotti da ciascuna delle sei piante dell'area di saggio. La raccolta dei capolini è avvenuta quando i capolini erano completamente essiccati e cioè nella seconda quindicina di luglio per entrambe le cultivar.

I risultati sperimentali delle prove sono stati sottoposti ad analisi della varianza secondo lo schema sperimentale a parcelle suddivise e la differenza tra le medie è stata valutata mediante il test di Duncan.

## **Risultati e discussione**

### *Selezione e costituzione di varietà propagate agamicamente da cloni ottenuti da popolazioni autoctone*

Su un totale di 19 cloni analizzati (Tavazza *et al.*,

in questo volume), 3 di questi appartenenti rispettivamente alle tipologie Castellammare e Campagnano sono stati selezionati e approvati per l'iscrizione al Registro Nazionale delle Varietà Ortive con i nomi di Michelangelo, Raffaello e Donatello (riunione 1 dicembre 2012 della Commissione Sementi MiPAAF). Questi cloni si differenziano tra loro per precocità, dimensione e peso del capolino, produzione, spessore del ricettacolo e patterns molecolari (tab. 1 e fig. 1). In particolare, Michelangelo e Raffaello sono rappresentate da piante compatte e produttive, mentre Donatello è caratterizzato da piante alte con capolini inermi e di media dimensione. Queste rappresentano le prime varietà di carciofo a propagazione vegetativa iscritte al Registro Nazionale delle Varietà Ortive (<http://www.sementi.it/articoli/164/registro-nazionale-varietà-specie-ortaggi>), quale risultato del progetto CAR-VARVI finanziato dal MiPAAF.

### *Realizzazione di germoplasma propagato per via gamica*

Le attività di ricerca sul miglioramento genetico del carciofo da seme, inizialmente intraprese in Italia (Stamigna *et al.*, 2004), dal 2006 sono in corso anche in California nell'ambito di una co-operazione tra Università della Tuscia, ENEA e Big Heart Seed Company. In California esistono, infatti, condizioni pedoclimatiche ideali e facilities strutturali per l'ottenimento a basso costo di grandi quantitativi di seme ibrido sano. Al fine di ridurre i costi di produzione e il rischio di diffusione di malattie, è stata messa a punto una strategia impostata (a) sullo studio della biologia fiorale (Lo Bianco *et al.*, 2011) e (b) lo sviluppo della

Tab. 1 - Caratteristiche principali delle varietà di carciofo in via di iscrizione al registro Nazionale MiPAAF delle Varietà.

*Tab. 1 - Main characteristics of the Romanesco globe artichoke approved for the inscription to Italian National Variety Register.*

Caratteristiche principali	V a r i e t à		
	Michelangelo	Raffaello	Donatello
Pianta	piccola	media	alta
N° germogli	medio	piccolo	medio
Lunghezza stelo principale	breve	breve	lungo
Diametro stelo principale	medio	medio	medio
Lunghezza capolino	corto	medio	lungo
Diametro capolino	grande	grande	grande
Precocità	precoce	medio	tardivo
Colore brattee capolino	verde-viola	verde-viola	prevalentemente viola
Spinescenza	assente	assente	assente



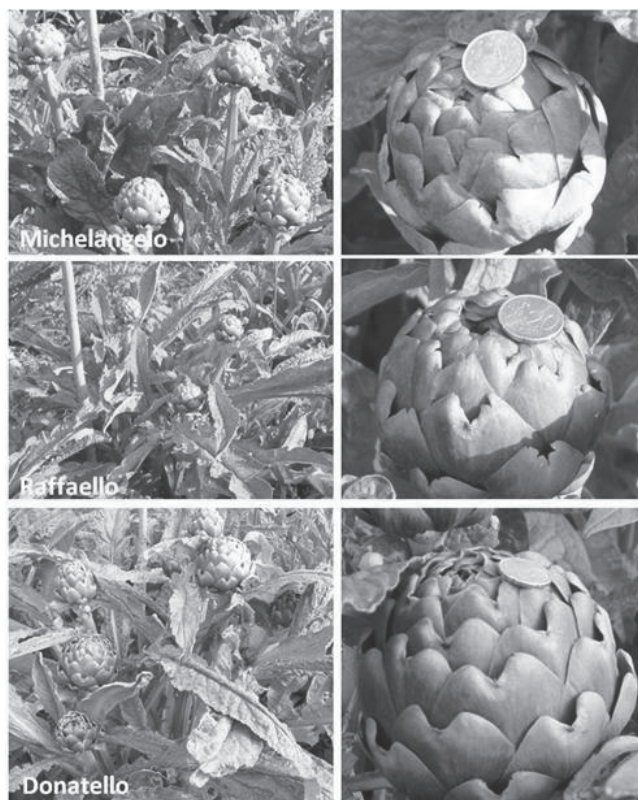


Fig. 1 - Varietà di carciofo della tipologia Romanesco approvate per l'iscrizione al Registro Varietale MiPAAF.

Fig. 1 - Romanesco globe artichoke varieties approved for the inscription to Italian Varietal Register.

tecnica di impollinazione (Saccardo *et al.*, in stampa), (c) sulla selezione e mantenimento di parentali MS e MF geneticamente stabili, (d) sulla costituzione di ibridi F1, in particolare della tipologia Romanesco, idonei agli ambienti pedoclimatici italiani e californiani (Lo Bianco *et al.*, 2011).

Il primo passo verso la costituzione di nuovi ibridi F1 è stato rappresentato dallo sviluppo di linee parentali stabili. Sono stati analizzati circa 20 cloni MS, caratterizzando morfologicamente e moltiplicando quelli risultati più stabili soprattutto in California. Sulla base dei risultati analizzati con l'analisi discriminante, è stato possibile stabilire l'omogeneità dei parentali scegliendo i migliori per la produzione degli ibridi F1 (Lo Bianco *et al.*, 2011). Tra le linee MS utilizzate anche in Italia (MS 6, MS 16) e selezionate da Stamigna *et al.* (2004), è stato dimostrato che MS 6 è al momento un clone maschio sterile che dà stabilità alle discendenze F1; in tale genotipo, la maschio sterilità, di tipo nucleare, sembra controllata da uno o al massimo 2 geni recessivi (Lo Bianco *et al.*, 2011; Temperini, com. pers.). Sono state ottenute linee MF appartenenti a diverse tipologie, partendo da risorse genetiche californiane, italiane e spagnole selezionate per produzione elevata, colore e pezzatura del capolino richieste dal mercato sia italiano che americano. I

materiali ottenuti da sib-crosses sono risultati più produttivi rispetto a quelli provenienti da autofecondazione, questo sia per superamento dell'effetto da inbreeding (tab. 1) sia per l'elevata efficienza di impollinazione da parte di api utilizzate sotto isolatore. A riguardo, tale tecnica è stata la migliore in termini di resa produttiva rispetto all'impollinazione manuale (Lo Bianco *et al.*, 2011; Saccardo *et al.*, 2013).

### Sviluppo di ibridi F1

Da un totale di circa 200 combinazioni ibride, caratterizzate da diverso colore, dimensione e tipologia del capolino, sono stati valutati e selezionati per caratteri agronomici e stabilità genetica i migliori ibridi F1 validi in entrambi gli ambienti, italiano e californiano. In particolare, l'ibrido inizialmente chiamato Big Red è stato proposto per l'iscrizione al Registro Varietale Italiano con il nome di Romolo. Si tratta di un ibrido della tipologia Romanesco originato dalla combinazione MS6 x 9BDG (figg. 2 e 3). In Italia, messo in confronto con altri ibridi commerciali Nunhems (Concerto, Symphony, Opal, Madrigal), Semiorto (Istar, Imperial Star) e Agriseeds (Rinaldo, Amos, Napoleone, Romano, asr 1910) ha mostrato la sua superiorità a livello produttivo (tab. 2); rispondendo bene alle esigenze del consumatore italiano e quindi della grande distribuzione. Da più di due anni sono in corso prove di coltivazione di questo ibrido in diverse regioni del centro Sud vocate alla coltivazione del carciofo (Lazio, Campania, Puglia), dove ha mostrato un'ottima produzione (12-13 capolini/pianta) ed omogeneità del prodotto. Pur essendo di tipologia primaverile, in quanto Romanesco, produce già a gennaio-febbraio, se trattato con acido gibberellico (Calabrese, com. pers.).

Da analisi condotte presso il CNR di Bari (Calabrese, com. pers.), Romolo è inoltre risultato idoneo alla frigoconservazione e all'utilizzo per la quarta

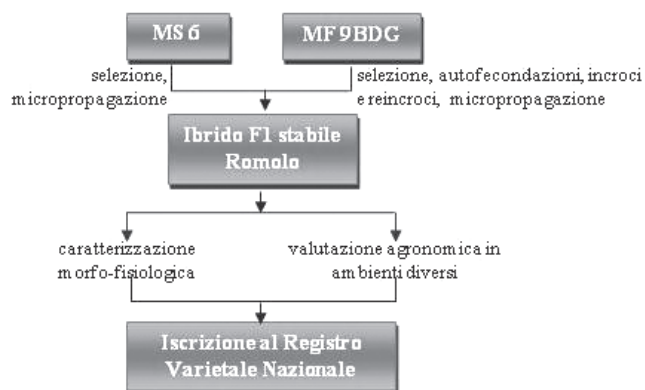


Fig. 2 - Processo di costituzione dell'ibrido F1 Romolo.  
Fig. 2 - Realization process of the F1 hybrid Romolo.



Fig. 3 - Caratteristiche morfo-fisiologiche dell'ibrido F1 di carciofo Romolo.  
Fig. 3 - Morpho-physiologic traits of the F1 hybrid Romolo.

Pianta	Capolino							
	Altezza (cm)	Diametro (cm)	Diametro stelo (mm)	Altezza (cm)	Diametro (cm)	Forma	Peso capolino principale (g)	Totale capolini (n.)
Romolo	103,0 fg	179,9 d	31,8 ac	8,8 a	10,2 a	2,3 cd	403,9 ac	6,8 de
9	108,9 g	177,1 d	28,7 a	10,9 ef	10,1 a	3,0 de	451,3 ce	7,0 e
Istar	79,3 bd	138,9 ab	30,6 ac	101 be	11,4 a	1,0 a	527,2 ef	4,4 a
Imperial Star	75,8 bc	136,3 a	29,8 ab	10,0 be	10,9 a	1,4 ab	538,8 f	5,3 ad
Concerto	74,4 ab	156,9 c	29,1 ab	10,9 ef	8,7 a	3,0 de	360,6 ab	4,8 ac
Madrigal	88,44 de	173,0 d	28,2 a	9,6 ad	9,2 a	3,0 de	326,1 a	6,4 ce
Symphony	81,3 bd	150,7 bc	29,9 ab	11,9 f	11,0 a	3,0 de	446,1 cd	5,7 ae
Rinaldo	85,7 bd	139,0 ab	29,5 ab	8,8 a	9,9 a	3,2 e	391,8 ac	4,7 ab
Amos	95,6 ef	142,9 ab	33,2 bc	10,6 de	11,1 a	2,0 bc	491,7 df	4,7 ab
Romano	87,7 ce	137,2 a	30,9 ac	8,7 a	10,2 a	1,5 ab	435,0 bd	6,3 be
Napoleone	74,7 ab	151,6 bc	34,3 c	9,3 ab	10,3 a	2,0 bc	465,2 cf	4,8 ac
ASR 1910	79,0 bd	141,0 ab	28,1 a	10,3 ce	26,3 b	3,0 de	448,0 cd	5,8 ae
Opal	64,0 a	169,0 d	28,9 a	9,5 ac	9,6 a	3,2 e	360,0 ab	4,5 a

gamma. Tra gli ibridi valutati, anche quello denominato 9, sempre costituito nell'ambito della collaborazione Italia-California, ha dato buoni risultati produttivi ed è quindi proponibile per l'iscrizione varietale.

#### *Produzione di fingerprinting molecolare su cloni / linee / ibridi*

I cloni della tipologia Romanesco analizzati hanno mostrato avere un'ampia variabilità genetica con un valore di polimorfismo del 61% ed una eterozigosità attesa paria a 0,17. Molti di questi cloni possiedono 230 "alleli privati" cioè ampliconi presenti specifica-

tamente in singoli cloni e quindi utilizzabili per identificare in maniera univoca i relativi cloni. La distanza genetica Nei fra i cloni di tipologia Romanesco varia dai 0,04 ai 0,17 e il dendrogramma relativo è riportato in figura 4. Analoga magnitudine si ha includendo anche altre accessioni di tipologia tardiva ma, in questo caso, le accessioni Romanesco non si raggruppano nettamente essendocene alcune geneticamente vicine a quelle marchigiane e toscane. Il clone S20, da cui si è ottenuta la varietà Donatello, iscritta al registro varietale, è l'accessione geneticamente più distante dalle altre due accessioni registrate al registro varia-

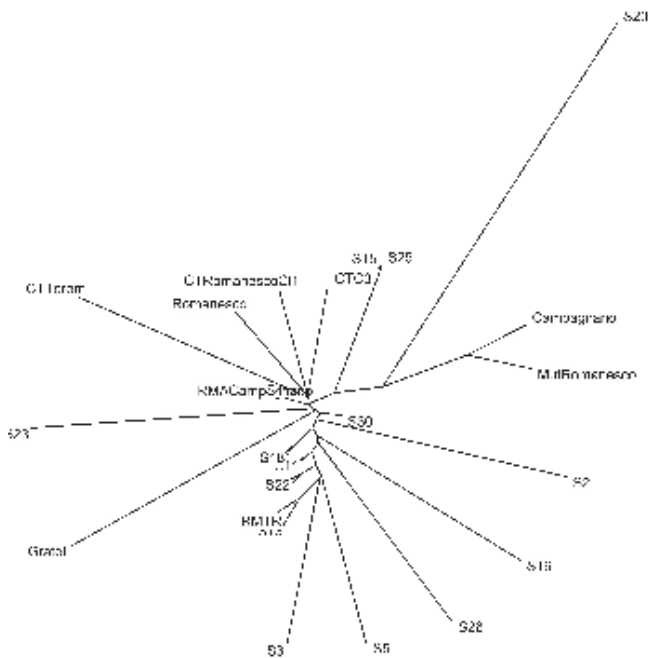


Fig. 4 - Distanza genetica fra cloni della tipologia Romanesco.  
Fig. 4 - Genetic distance between Romanesco clones.

le (S17 come Michelangelo e S22 come Raffaello) che si collocano in punti differenti del dendrogramma sottolineando come le tre linee registrate siano differenti fra di loro e vadano a rappresentare bene la situazione della tipologia Romanesco presente in Italia centrale.

*Distanza genetica fra accessioni tardive di carciofo*

Per quanto riguarda l'analisi delle linee ibride e delle loro progenie, la figura 5 riporta i valori di eterozigotità, attesa (He) e osservata (Ho), varianza genica entro linea (Sg), polimorfismo (P) e alleli polimorfici per locus (Ap); le linee femminili hanno il suffisso MS, quelle maschili MF, mentre gli ibridi sono contrassegnati da H. Per ciascun gruppo è riportata la varianza genica fra linee entro gruppo (Sp). Il gruppo con più alte differenze fra le linee è il gruppo dei parentali femminili, questo sottolinea l'ampia diversità fra le linee maschio sterili selezionate che possono quindi soddisfare le necessità di un'ampia gamma di caratteristiche. Il gruppo degli ibridi chiaramente ha una eterozigotità più alta degli altri due gruppi, ma le linee hanno un differente grado di variabilità genica al loro interno, corrispondente ad un differente livello di uniformità dell'ibrido ottenuto. Chiaramente i dati riportati sono molecolari con marcatori non associati a caratteristiche d'interesse, ciò non di meno l'analisi molecolare può essere usata come analisi previsionale del valore di uniformità dell'ibrido ottenuto.

*Identificazione di tecniche agronomiche (epoca e densità di semina) per la coltivazione di ibridi  
Produzione di capolini (annate agrarie 2009/10 e 2010/11)*

L'epoca di trapianto dell'ibrido Romolo ha

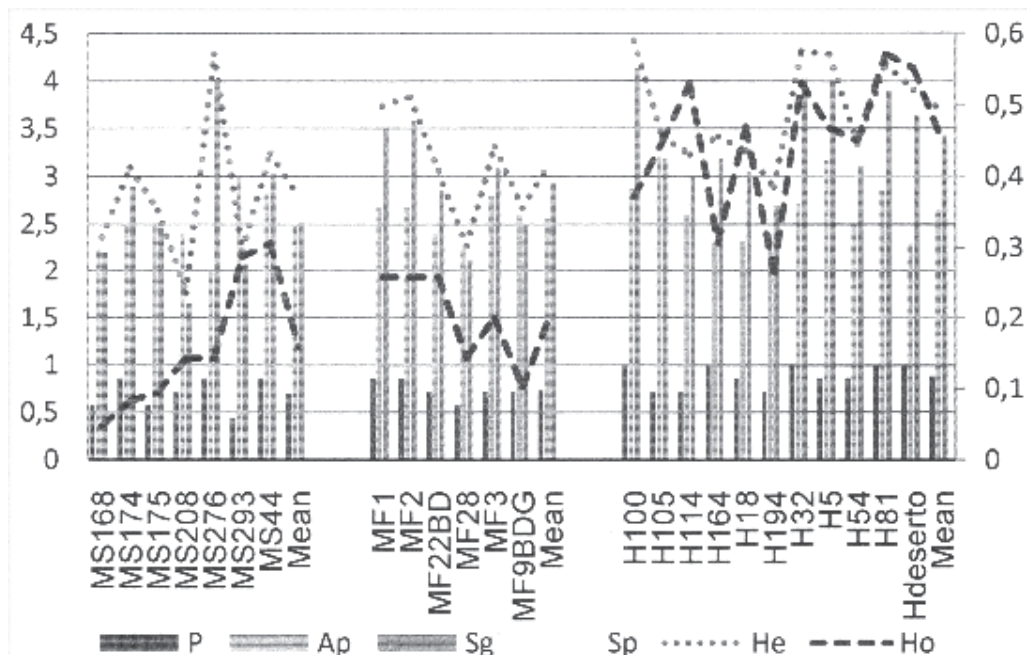


Fig. 5 - Analisi genetica per i parentali femminili (MS), maschili (MF) e le loro progenie (H). P: polimorfismo, Ap: Alleli polimorfici, Sg: varianza entro gruppo, Sp: varianza fra gruppi, He: eterozigotità attesa, Ho: eterozigotità osservata. Asse y per gli istogrammi sulla sinistra per le curve sulla destra.

Fig. 5 - Genetic analysis of the female (MS), male (MF) parents and their progenies (H). P: polymorphysm, Ap: polymorphic Alleles, Sg: variance within group, Sp: variance between groups, He: expected heterozygosity, Ho: observed heterozygosity. Y axes for histograms on the right for curves on the right.



influenzato significativamente la risposta delle piante sia in termini di larghezza che di altezza; in particolare, le piante delle parcelle allestite più precocemente sono risultate di dimensioni maggiori. Relativamente ai parametri produttivi, le piante della prima epoca hanno evidenziato una maggiore dimensione del diametro dello stelo (2,05 cm) sia nei confronti della seconda (1,81 cm) che della terza epoca (1,76 cm). In termini di peso medio del cimaroio, la prima epoca ha invece determinato un maggior peso dello stesso (203,71 g) rispetto alla terza epoca (146,73 g) mentre, per la seconda epoca, si è osservato un peso medio del capolino (161,39 g) intermedio rispetto alle altre due epoche. Per la carciofina è stato invece registrato un maggior peso medio nella seconda (42,18 g) e terza epoca (42,01 g) rispetto alla prima epoca (36,97 g).

La prima e la seconda epoca d'impianto sono risultate, a pari merito, più produttive nei confronti della terza epoca (fig. 6), distinguendosi infatti per il maggior numero di capolini prodotti per pianta per tutte le categorie, fatta eccezione per il numero di cimaroio in quanto tutte le piante, indipendentemente dall'epoca di trapianto, hanno prodotto regolarmente il capolino principale. Non sono emerse differenze significative per quanto riguarda la precocità di raccolta dei capolini in funzione dell'epoca di impianto. Differenze significative sono state invece riscontrate per quanto riguarda l'andamento produttivo. In particolare, la maggior produzione di capolini (71%) del tipo più apprezzato dal mercato (cimaroio) è avvenuta nei primi 20 giorni di aprile 2011.

La densità colturale ha influenzato in modo significativo sia l'altezza che la larghezza delle piante. In particolare, si sono avuti i valori minimi con la massima densità colturale saggiata (19.231 piante ha<sup>-1</sup>) mentre, tra le densità inferiori, non sono state riscontrate differenze statisticamente significative per entrambi i parametri considerati. In particolare, è stato

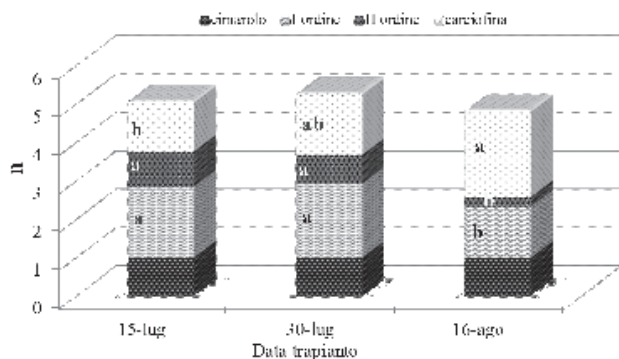


Fig. 6 - Effetto della data d'impianto sul numero di capolini/pianta.  
Fig. 6 - Effect of the transplanting date on the number of heads/plant.

riscontrato un minor numero di capolini per pianta ed un minor peso medio degli stessi con la densità di semina superiore; il risultato massimo dei capolini è stato ottenuto a pari merito con le due densità maggiori per cui, tenendo conto della pezzatura del capolino e del numero di capolini prodotti per ettaro, la migliore produzione si è avuta con un impianto di circa 9.600 piante per ettaro (tab. 3). La produzione di carciofini è risultata assente a tutte le densità saggiate.

#### Produzione di semi (annata agraria 2011/12)

La produzione di semi nei capolini cimaroio e di primo ordine è stata influenzata sia dalla cultivar che dall'epoca di semina mentre la densità ha influenzato soltanto la quantità di acheni (semi) prodotti dai capolini di primo ordine. La produzione di semi nei capolini di II ordine non è stata invece condizionata da nessun trattamento.

Dall'analisi dei risultati ottenuti in termini di seme prodotto (fig. 7) emerge che l'ibrido Romolo ha prodotto, in generale, più della cv Istar. I livelli produttivi maggiori si sono verificati con densità 3 e 4 nella prima epoca di semina e con la densità 4 per la seconda epoca di semina. In tali condizioni, Romolo è risultato nettamente superiore alla cv Istar, producendo circa 2 tonnellate ad ettaro.

In definitiva, Romolo essendo più vigoroso di Istar, a densità elevate (D1, D2) ha mostrato un calo produttivo probabilmente riconducibile ad una maggiore competizione tra le piante. Nessuna delle 2 varietà ha mostrato differenze significative tra le 2 epoche a confronto.

## Conclusioni

Le prove condotte nell'ambito del progetto nazionale CAR-VARVI hanno portato a (a) migliorare la produzione cinaricola, (b) aumentare l'efficienza di

Tab. 3 - Effetto della densità colturale sulla produzione di capolini (Tarquinia 2009 e 2010).

Tab. 3 - Effect of plant density on the head production (Tarquinia 2009 and 2010).

Densità (piante ha <sup>-1</sup> )	Capolini (numero)		Capolini peso medio (g)		
	Piante	Ha	Cimaroio	I ordine	II ordine
19.231	3,00 b	57.693 a	127,04 b	108,93 b	61,94 b
9.615	5,26 a	50.568 a	152,96 a	108,06 b	73,40 a
6.410	4,81 a	30.863 b	152,78 a	114,59 ab	78,39 a
4.808	4,26 a	20.479 c	149,44 a	117,23 a	78,82 a
<i>Signific.</i>	**	**	**	*	**

Valori con lettera diversa nelle colonne indicano differenze significative per P=0,05 (test di Duncan).

\*\* e \* = significativo per P=0,01 e 0,05; n.s. = non significativo



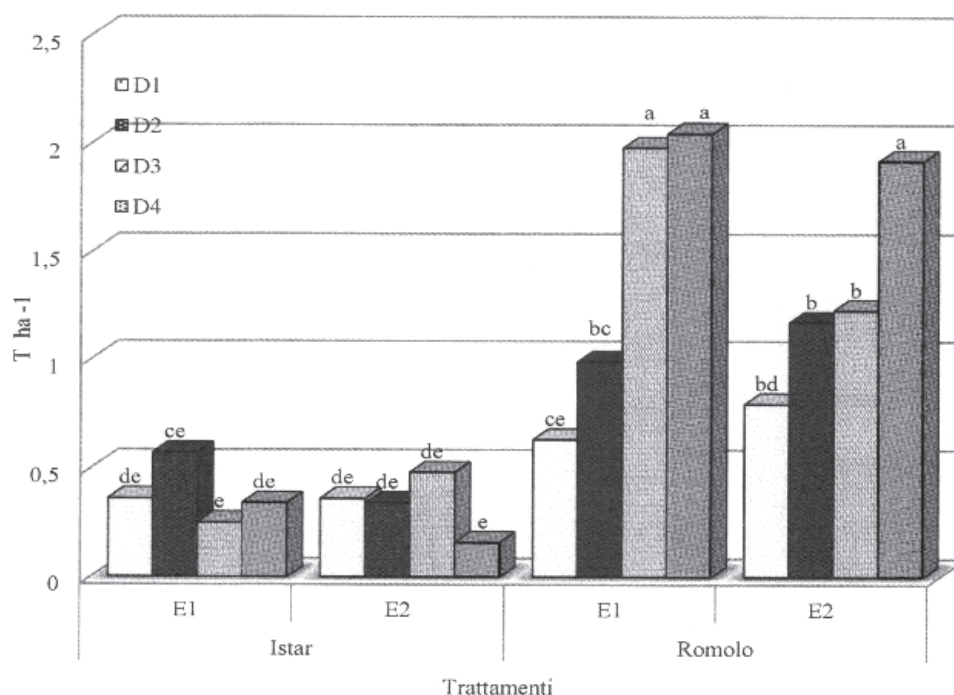


Fig. 7 - Influenza dell'epoca (E1, E2) e densità di semina (D1, D2, D3, D4) sulla produzione di acheni (interazione cultivar x epoca x densità) nei capolini dei due ibridi Istar e Romolo. Lettere differenti corrispondono valori statisticamente differenti.

*Fig. 7 - Influence of the plant time (E1, E2) and density (D1, D2, D3, D4) on the seed production (cultivar x sowing time x plant density interaction) in the heads of the hybrids Istar and Romolo. To different letter correspond values statistically different.*

caratterizzazione e protezione del materiale, (c) ottenere sia cloni che linee ibride che garantiscano una buona qualità di prodotto offrendo all'agricoltore un panorama varietale più ampio. Inoltre, l'uso innovativo del seme ibrido porta ad un vantaggio economico con un abbattimento di circa il 50% del costo delle piantine. Il seme non necessita infatti del risanamento da virus e il vivaista può quindi disporre di materiali certificati e sani che, in base alle normative europee, possono essere commercializzati in maniera più sicura e remunerativa.

Le analisi molecolari, oltre a fornire uno strumento di caratterizzazione del germoplasma e la possibilità di identificare e proteggere le linee sottoposte a registrazione, sono risultate essere utili per fornire indicazioni previsionali nella costituzione degli ibridi.

La messa a punto di tecniche agronomiche appropriate per il carciofo da seme favorisce una maggiore produttività delle piante, da utilizzare anche in regime biologico. La produzione di acheni di semi (circa 2 t ha<sup>-1</sup>) può essere ritenuta più che soddisfacente considerando che è stata ricavata da due cultivar ottenute per la produzione di capolini per il mercato del fresco e che non sono stati ancora avviati programmi di miglioramento genetico per la costituzione di ibridi e/o varietà di carciofo adatte alla produzione di semi. Il quantitativo di seme prodotto è stato inoltre particolarmente interessante anche in termini di resa in olio.

## Ringraziamenti

Gli autori ringraziano il Ministero delle Risorse Agricole, Alimentari e Forestali sia per i finanziamenti concessi per il progetto CAR-VARVI sia per il supporto dato all'avvio del progetto e alla diffusione dei risultati attraverso incontri finalizzati su aspetti diversi oggetto di studio.

## Riassunto

Nel presente articolo sono riportate le attività svolte dall'Università della Tuscia, in collaborazione con ENEA e Big Heart Seed Company, nell'ambito del progetto CAR-VARVI finanziato dal MiPAAF, relativamente alle seguenti quattro tematiche principali: (i) selezione e costituzione di varietà propagate agamicamente da cloni ottenuti da popolazioni autoctone; (ii) realizzazione di materiali propagati via seme (ibridi F1); (iii) produzione di un fingerprinting molecolare che identifichi in modo univoco i diversi cloni/linee/ibridi proteggendoli da eventuali frodi; (iv) identificazione di tecniche agronomiche (epoca e densità di semina) idonee alla coltivazione degli ibridi F1. Per quanto riguarda le prime due tematiche, sono state ottenute linee clonali e un ibrido F1 al momento in registrazione al Registro Italiano delle Varietà Vegetali. I materiali selezionati, come quelli valutati,

sono stati caratterizzati anche dal punto di vista molecolare ottenendo profili di amplificazione univoci. Infine sono stati sviluppati protocolli di coltivazione idonei per gli ibridi F1.

**Parole chiave:** ibridi F1, maschiosterilità, cloni Romanesco, ISSR, AFLP, propagazione agamica, propagazione gamica, seme.

## Bibliografia

- AGOSTINUCCI G., LOSEBY M., 2007. *Organizzazione e competitività - i problemi del settore*. Informatore Agrario 22: 35-38
- BABES, G., LUMIA V., PASQUINI G., DI LERNIA G., BARBA M., 2004. *Production of virus free artichoke germplasm*. Acta Hort. 660: 467-470
- BOURY S., JACOB A.-M.E., EGEEA-GILABERT C., FERNÁNDEZ J.A., SONNANTE G., PIGNONE D., REY N.A., PAGNOTTA M.A., 2012. *Assessment of Genetic Variation in an Artichoke European Collection by Means of Molecular Markers*. Acta Hort. (ISHS) 942: 81-87.
- CIANCOLINI A., REY NA, PAGNOTTA MA, CRINÒ P., 2012. *Characterization of Italian spring globe artichoke germplasm: morphological and molecular profiles*. Euphytica 186(2): 433-443.
- CRINÒ P., TAVAZZA R., REY MUNOZ N.A., TRIONFETTI NISINI P., SACCARDO F., ANCORA G., PAGNOTTA M.A., 2008. *Recovery, morphological and molecular characterization of globe artichoke 'Romanesco' landraces*. Genet Resour Crop Evol 55: 823-833.
- FAOSTAT 2010. <http://faostat.fao.org>
- LO BIANCO C., FERNÁNDEZ J.A., MIGLIARO D., CRINÒ P., EGEEA-GILABERT C., 2010. *Identification of F1 hybrids of artichoke by ISSR markers and morphological analysis*. Molecular Breeding: 1-14.
- PAGNOTTA M.A., SACCARDO F., TEMPERINI O., REY N.-A., NOORANI A., LO BIANCO C., CRINÒ P., TAVAZZA R., CUOZZO L., PAPACCHIOLI V., SONNANTE G., PIGNONE D., MORGESE A., SARLI G., DE LISI A., RACCUIA S., DI VENERE D., JACOB A.-M., BAZINET C., BOURY S., ARTES F., EGEEA-GILABERT C., FERNÁNDEZ J.-A., MACUA J.-I., LAHOZ I., JOUY C., ALERCIA A., 2012. *Characterization of the Cynara European Genetic Resources*. Acta Hort. (ISHS) 942: 89-93.
- SACCARDO F., JORDAN J.R., JORDAN A., CRINÒ P., MICOZZI F., LO BIANCO C., TEMPERINI A., REY N.A., PAGNOTTA M.A., 2013. *Innovative strategy to obtain F1 hybrids of globe artichoke*. Acta Hort. (in stampa).
- STAMIGNA C., MICOZZI F., PANDOZY G., CRINÒ P., SACCARDO F., 2004. *Produzione di ibridi F1 di carciofo mediante impiego di cloni maschiosterili*. Italus Hortus 11 (5): 29-33.
- TAVAZZA R., CRINÒ P., CIANCOLINI A., PAPACCHIOLI V., PAGNOTTA M.A., REY MUÑOZ N.A., MARIOTTI M., SACCARDO F., 2013. *Salvaguardia e conservazione di risorse genetiche di carciofo tardivo*. Italus Hortus (in stampa).