

AMPELOGRAFIA

Ampelografia, da ampelos (vite) e grafo (scrivo) rappresenta la “scienza” che si propone di descrivere specie, cultivar e cloni di vite.



AMPELOGRAFIA

- descrizione morfologica

- studio delle caratteristiche fenologiche (data di germogliamento, fioritura,..)

- studio delle attitudini colturali (tolleranza alle crittogame, produttività, ecc..)

- studio delle attitudini tecnologiche (composizione delle bacche, zuccheri, aromi, ecc..)

SCOPI DELL'AMPELOGRAFIA

- **Permettere il riconoscimento delle diverse accessioni evidenziando i caratteri per i quali cultivars o specie differiscono tra loro**
- **Raccogliere ed ordinare tutte le informazioni di tipo storico o geografico e sulle caratteristiche morfologiche, fenologiche ed agronomiche di una determinata cultivar—
Conservazione della diversità varietale e intra varietale.**
- **Permettere una classificazione delle diverse cultivars e specie secondo i loro rapporti reciproci**

Origini dell'ampelografia

- **Columella (I secolo)**

 - identifica gruppi di vitigni e individua sottogruppi
 - rileva l'esistenza di sinonimie

- **Plinio (I secolo)**

- **Pier de Crescenzi (XIV secolo)**

- **Cosimo Trinci (XVIII secolo)**

- **Acerbi (XIX)**

METODI AMPELOGRAFICI

METODI DESCRITTIVI si basano sulla **descrizione dell'habitus morfologico** della pianta evidenziando i caratteri che la differenziano da piante appartenenti ad un'altra cultivar o specie.

METODI AMPELOMETRICI (o biometrici) si basano sulla misurazione di parametri di alcuni organi della pianta per confrontare le misure registrate con quelle ottenute su altre cultivars o specie. Fillometria :misure relative alle foglie
Carpometria: misure relative ai frutti

METODI BIOCHIMICI si basano sulla **determinazione della presenza e della quantità di sostanze** contenute nella pianta e la cui biosintesi dipende più o meno direttamente dal genotipo (es. analisi dei sistemi enzimatici)

METODI GENETICI si basano **sull'analisi del genotipo** attraverso tecniche diverse (es. RFLP, RAPDs, Microsatelliti)

METODI AMPELOGRAFICI DESCRITTIVI

- obbiettività**
(ridurre al minimo la soggettività del rilevatore)
- concisione**
(scelta di caratteri stabili e con potere discriminante)
- completezza**
- facilità di rilevamento**

METODI AMPELOGRAFICI DESCRITTIVI

- prima Commissione ampelografica internazionale si riunì (Vienna, 1872) per concordare un metodo descrittivo efficace**
- pubblicazione delle prime schede ampelografiche nel 1951 (Registro Ampelografico Internazionale)**
- pubblicazione in Italia (1952) dei Cataloghi Ampelografici Nazionali con le descrizioni di 260 vitigni (MAF)**
- pubblicazione degli aggiornamenti delle schede ampelografiche internazionali nel 1983, nel 1990. Gli aggiornamenti sono ancora in corso.**

SCHEDA AMPELOGRAFICA

- **momento in cui effettuare il rilievo**
(fioritura, tra allegagione e invaiatura.)
- **numero di ceppi o di organi da descrivere**
- **posizione dell'organo**
(foglie inserite sul terzo mediano del germoglio.)
- **provenienza dell'organo**
(germogli originatisi sul legno dell'anno.)

SCHEDA AMPELOGRAFICA

-- organi da descrivere
(germogli, foglie..)

-- caratteri da osservare
(forma delle foglie, colore della buccia..)

--attributi da usare
(tipo di forma o di colorazione..)

--scala di valori da utilizzare
(dimensioni, intensità della colorazione..)

SCHEDA AMPELOGRAFICA MAF 1952

- descrizione di un determinato clone (o più cloni) di ciascun vitigno**
- adotta il metodo descrittivo**
- richiede materiale iconografico
(foglia adulta, grappolo, acino, fiore..)**
- caratteri obbligatori
(52 descrittivi, 2 fenologici, 7 sulle attitudini culturali..)**
- caratteri facoltativi**
- caratteri liberi**

SCHEDA AMPELOGRAFICA MAF 1952

I - denominazione

II - origine e storia

III - descrizione

IV - fenologia

V - caratteristiche e attitudini colturali

VI - utilizzazione

VII - importanza economica e distribuzione geografica

VIII - diversi

SCHEDA AMPELOGRAFICA MAF 1952

Limiti principali:

- Soggettività del metodo descrittivo**
- Descrizione di caratteri morfologici che sono influenzati da fattori “ambientali” non genetici (clima, tecniche colturali, infezioni di patogeni).**

Con le schede ampelografiche OIV 1983 si cerca di avere uno strumento che possa limitare la soggettività del rilevatore .

SCHEDA AMPELOGRAFICA OIV 1983 **con il patrocinio di OIV, UPOV e IBPGR**

- caratteri contraddistinti da numeri di codice**
(forma della bacca: OIV 223, UPOV 64, IBPGR 4.2.5.)
- livelli di espressione del carattere rappresentati da numeri**
(forma della bacca: 1-10)
- attribuzione del livello di espressione sulla base della varietà di riferimento**
(forma della bacca: 3 Chasselas, 9 Olivette..)

SCHEDA AMPELOGRAFICA OIV 1983

sotto il patrocinio di OIV, UPOV e IBPGR

-- caratteri qualitativi

**(livelli di espressione discreti e discontinui,
es. distribuzione viticci sul germoglio)**

-- caratteri quantitativi

**(livelli di espressione continui,
es. lunghezza nervatura mediana della foglia)**

-- caratteri alternativi

**(assenza o presenza,
es. grado di resistenza a Plasmopara viticola..)**

Es. SCHEDA

AMPELOGRAFICA

OIV 1983

Caractère: Feuille adulte: forme du sinus pétiolaire	Codes N ^{os} OIV 079
Merkmal: Ausgewachsenes Blatt: Stielbuchtform	UPOV 41*
Characteristics: Mature leaf: general shape of petiole sinus	IBPGR 4.1.9.
Carácter: Hoja adulta: forma del seno peciolar	

Notation / Bonitierung / Notes / Notación	Exemples de variétés / Beispielsorten / Example varieties / Ejemplos de variedades
1 très largement ouvert / sehr weit offen / very wide open / muy ampliamente abierto	Rupestris du Lot
2 très ouvert / weit offen / wide open / muy abierto	V. riparia Gloire de Montpellier
3 ouvert / offen / open / abierto	Aramon noir N
4 peu ouvert / wenig offen / slightly open / poco abierto	Sauvignon B
5 fermé / geschlossen / closed / cerrado	Chasselas blanc B
6 à lobes légèrement chevauchants / etwas überlappend / lobes slightly overlapping / con lóbulos ligeramente superpuestos	Aubun N
7 à lobes chevauchants / überlappend / lobes overlapping / con lóbulos superpuestos	Riesling B
8 à lobes très chevauchants / weit überlappend / lobes strongly overlapping / con lóbulos muy superpuestos	Clairette B

Définitions / Definitions / Definitionen / Indicaciones:

Observation à faire entre la nouaison et la véraison.

Moyenne de 10 feuilles adultes au-dessus des grappes sur le tiers médian du rameau.

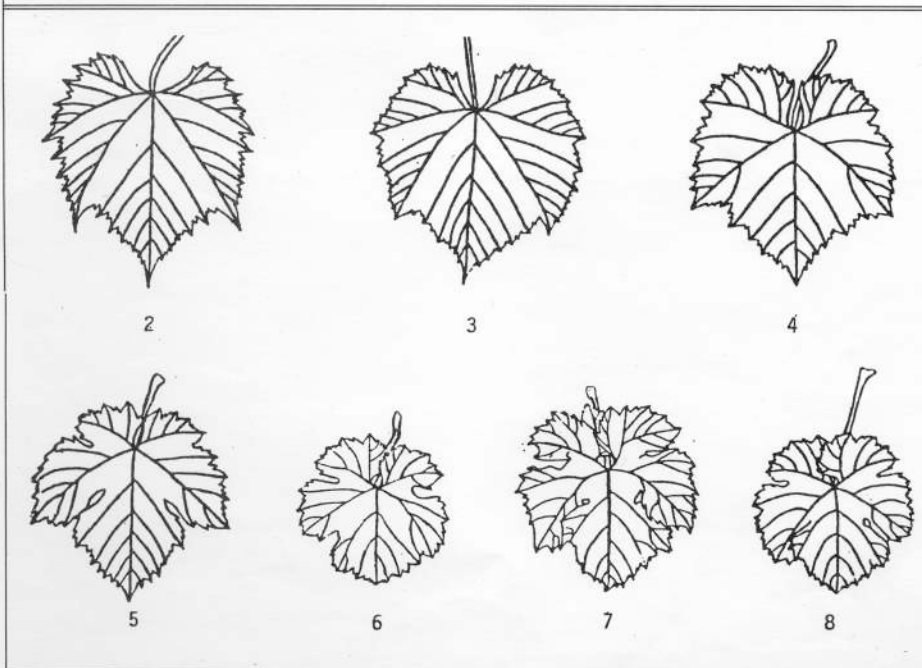
Feststellung vom Beerenansatz bis zum Weichwerden der Beeren.
Mittelwert von 10 ausgewachsenen Blättern oberhalb der Trauben am mittleren Drittel des Triebes.

Observation from berry set to veraison.

Mean value of 10 mature leaves above the cluster at the medium third of shoot.

Observación a realizar entre el cuajado y el envero.

Media de 10 hojas adultas por encima de los racimos sobre el tercio medio del pámpano.

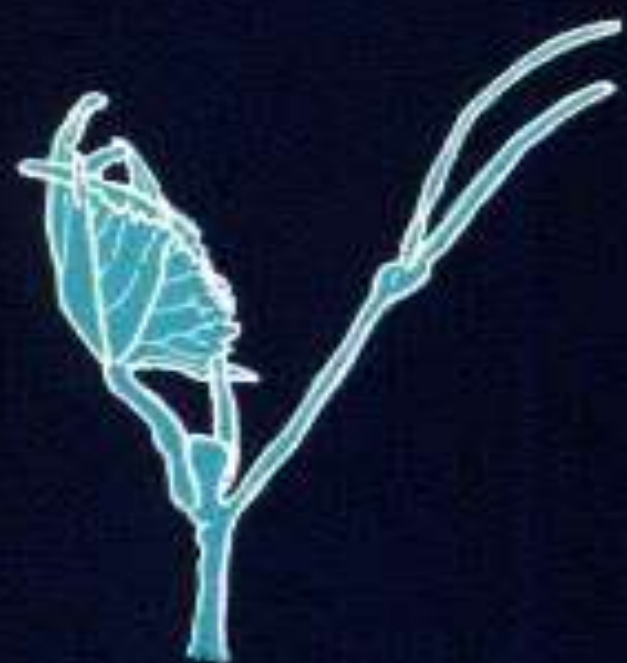


LISTA MINIMA DEI DESCRITTORI OIV 1990

caratteri n.

-- germoglio di 10-30 cm	1
-- germoglio e foglioline prima della fioritura	6
-- fiore	1
--foglia adulta	24
--acino	6
-- vinacciolo	3

Forma dell'apice del giovane germoglio (OIV 001)
(germogli di 10-30 cm prima della fioritura)



3 chiuso
V.riparia



5 semiaperto
K5BB



7 aperto
V.vinifera

Tomentosità dell'apice del giovane germoglio
(prima della fioritura su germogli di 10-30 cm)

Densità dei peli coricati (OIV 004)

Densità dei peli eretti (OIV 005)



peli eretti



peli coricati

1 nulla o
leggerissima

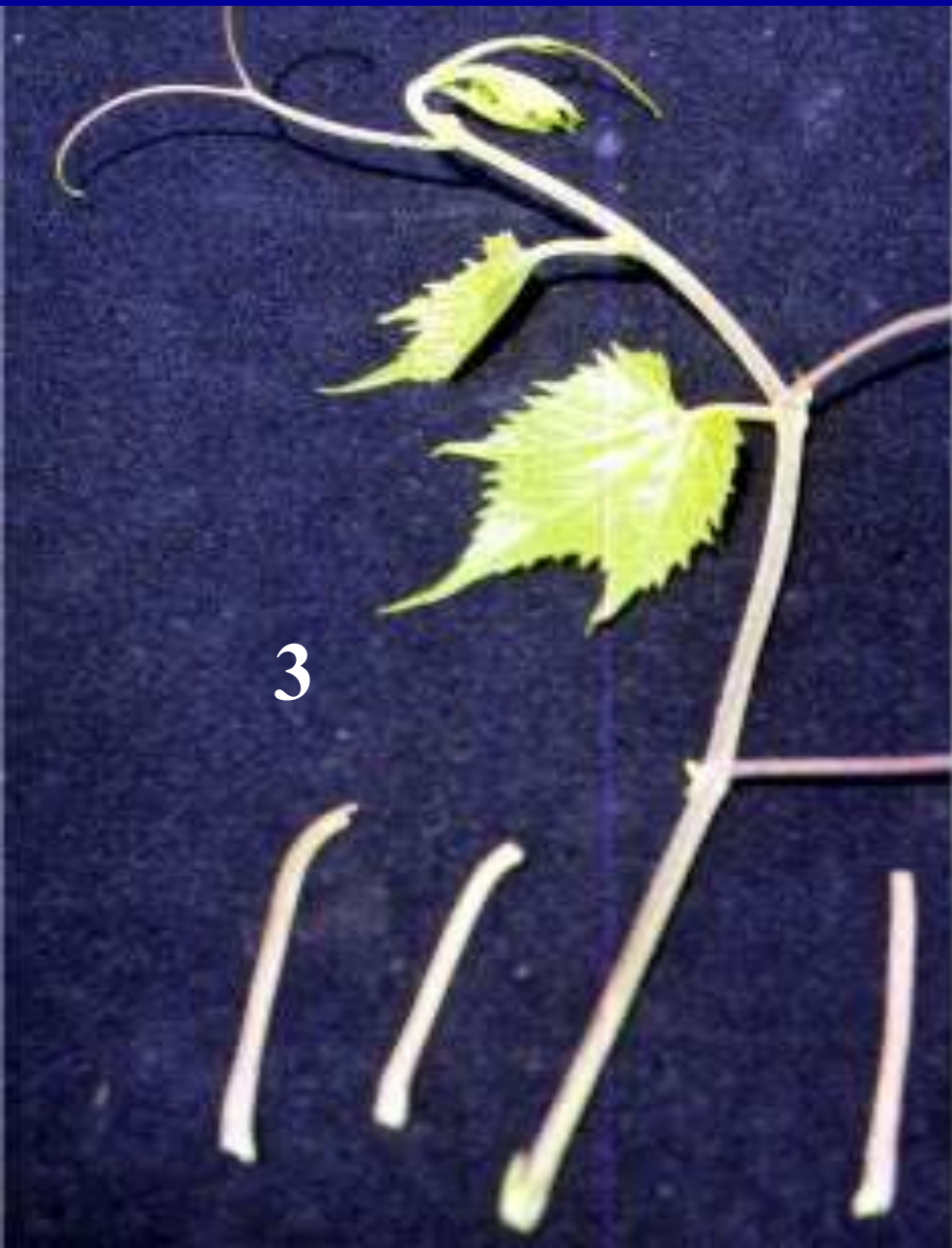
3 leggera

5 media

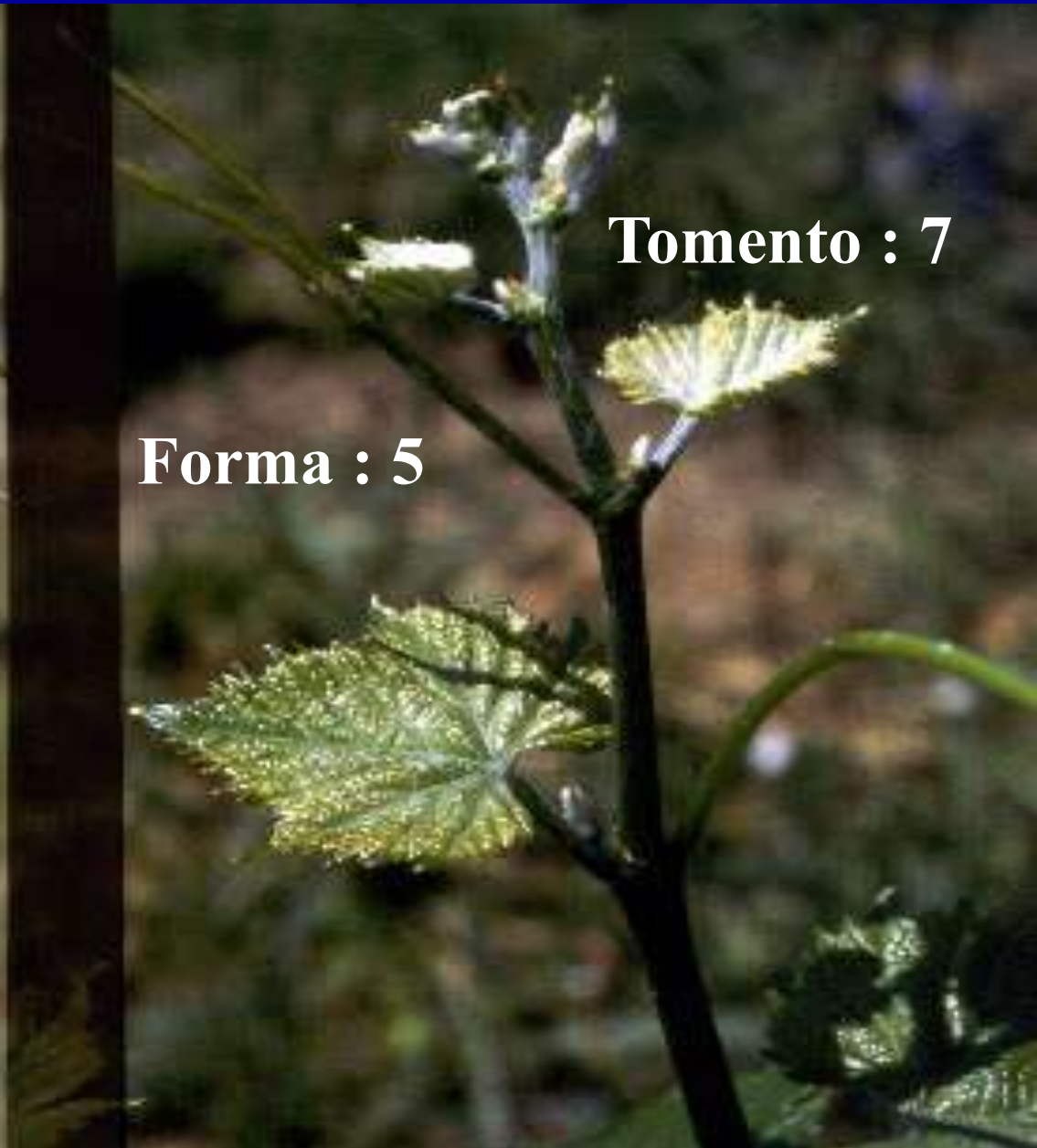
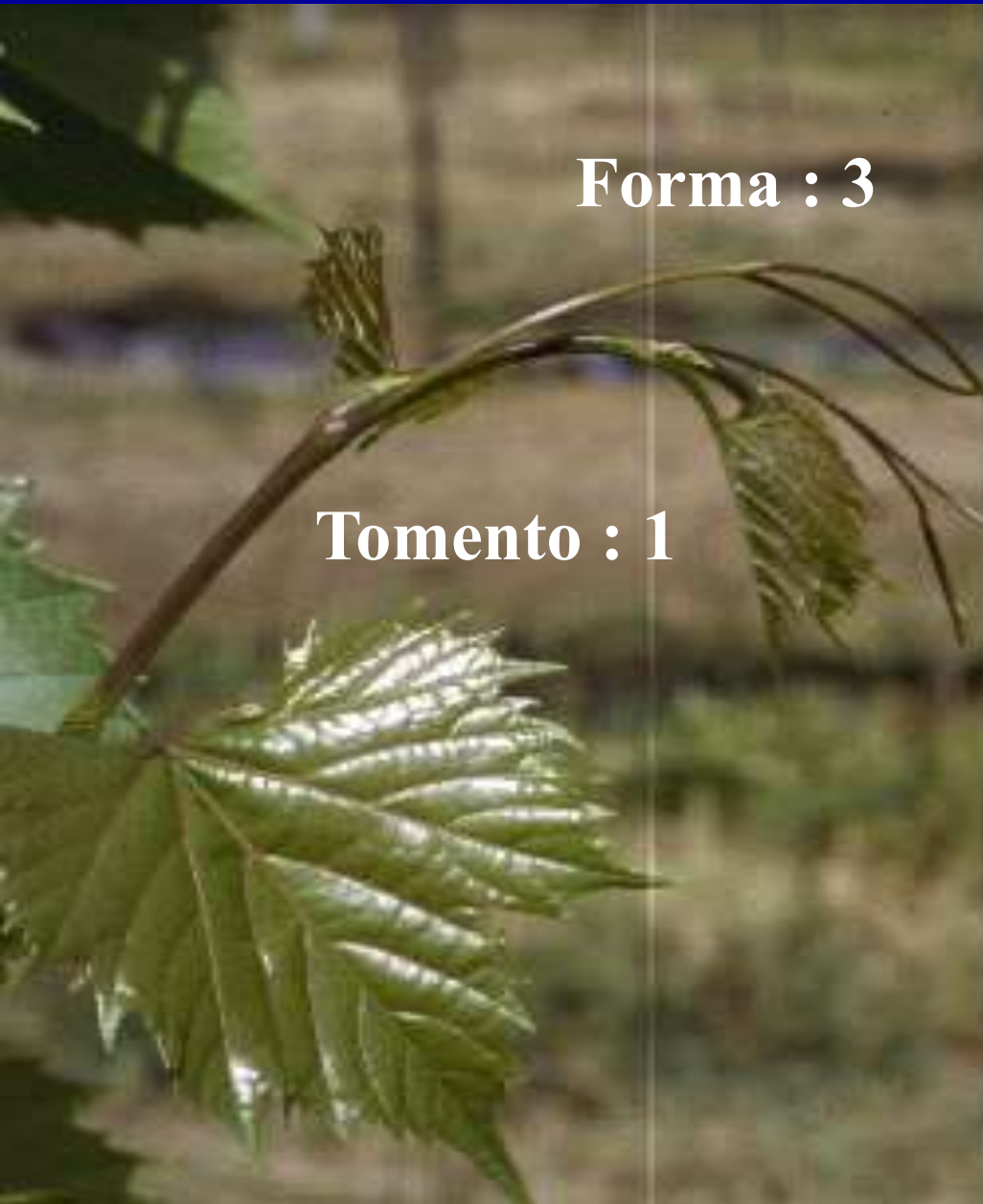
7 forte

9 fortissima

Forma dell'apice del giovane germoglio



Forma e tomento dell'apice del giovane germoglio



Tomentosità dell'apice del giovane germoglio

cv. Canaiolo

7



cv. Pinot menier

9



Forma e tomento dell'apice del giovane germoglio

Forma : 3

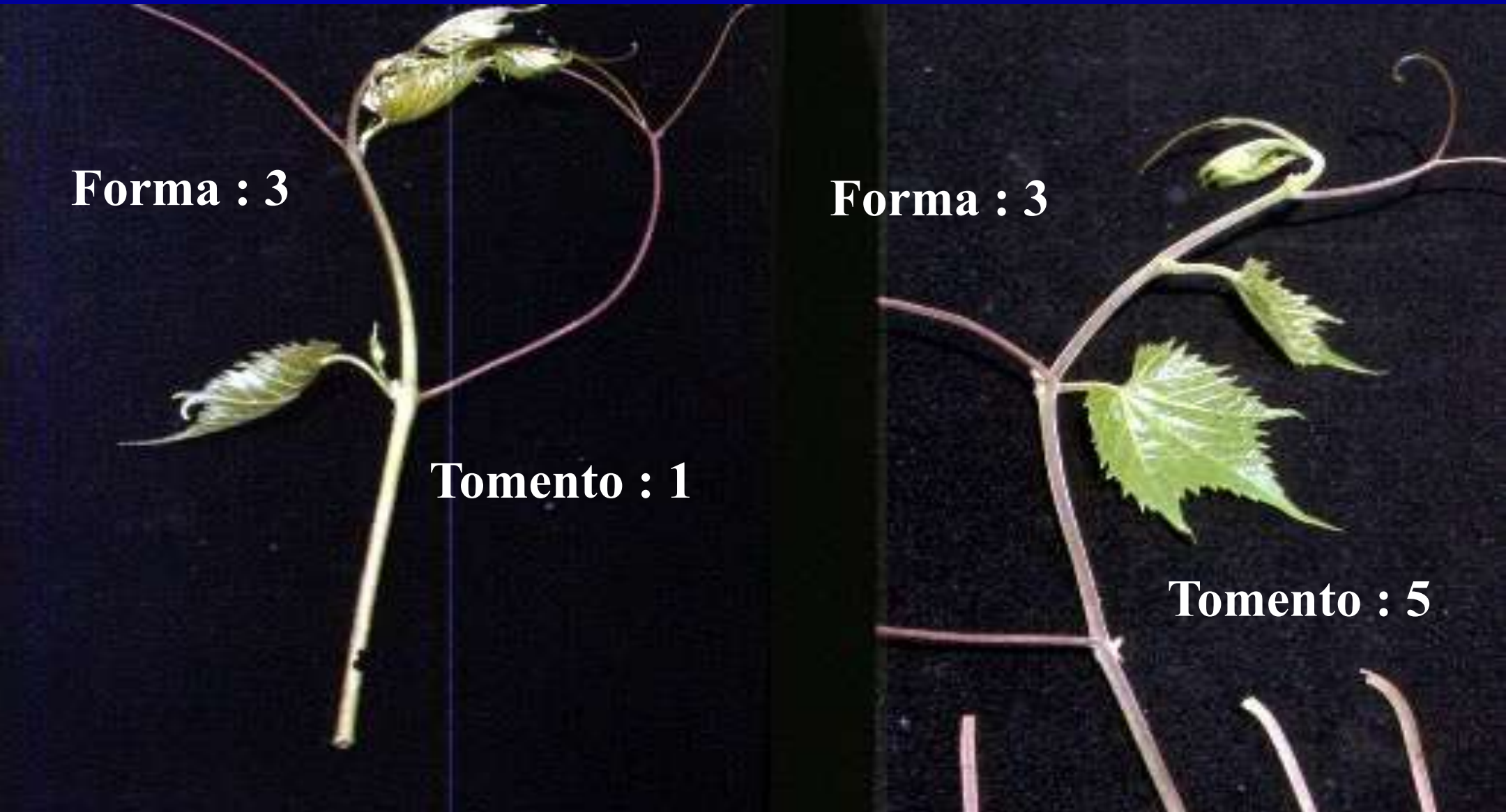
Tomento : 1

Vitis riparia

Forma : 3

Tomento : 5

Vitis riparia tomentosa



Distribuzione della pigmentazione antocianica
dell'apice del giovane germoglio (OIV 002)
(germogli di 10-30 cm prima della fioritura)



- 1 assenti (Meunier)
- 2 ai bordi (Chenin blanc)
- 3 diffusa (V. aestivalis)

Distribuzione della pigmentazione antocianica dell'apice del giovane germoglio

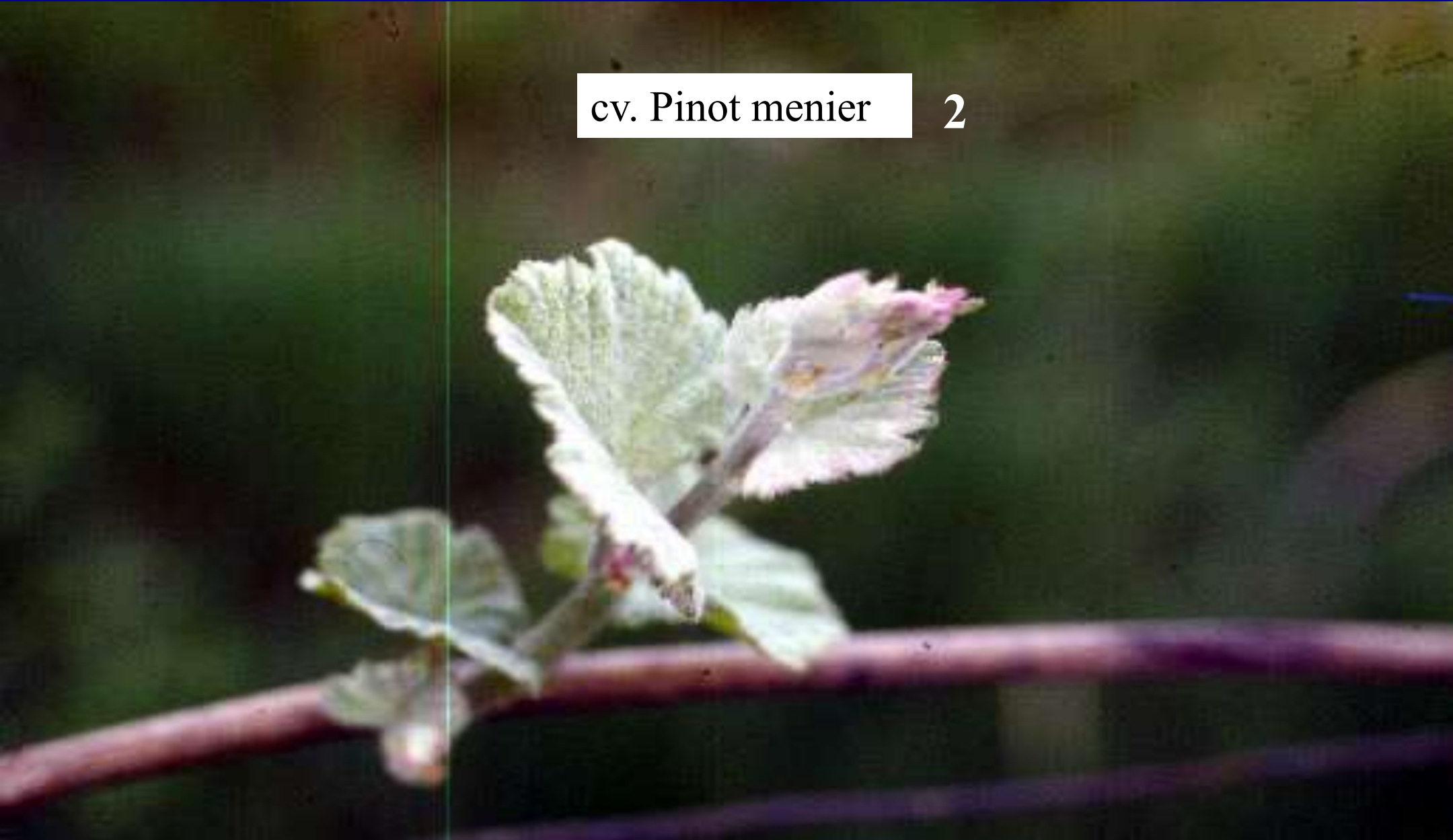
cv. Sangiovese

1

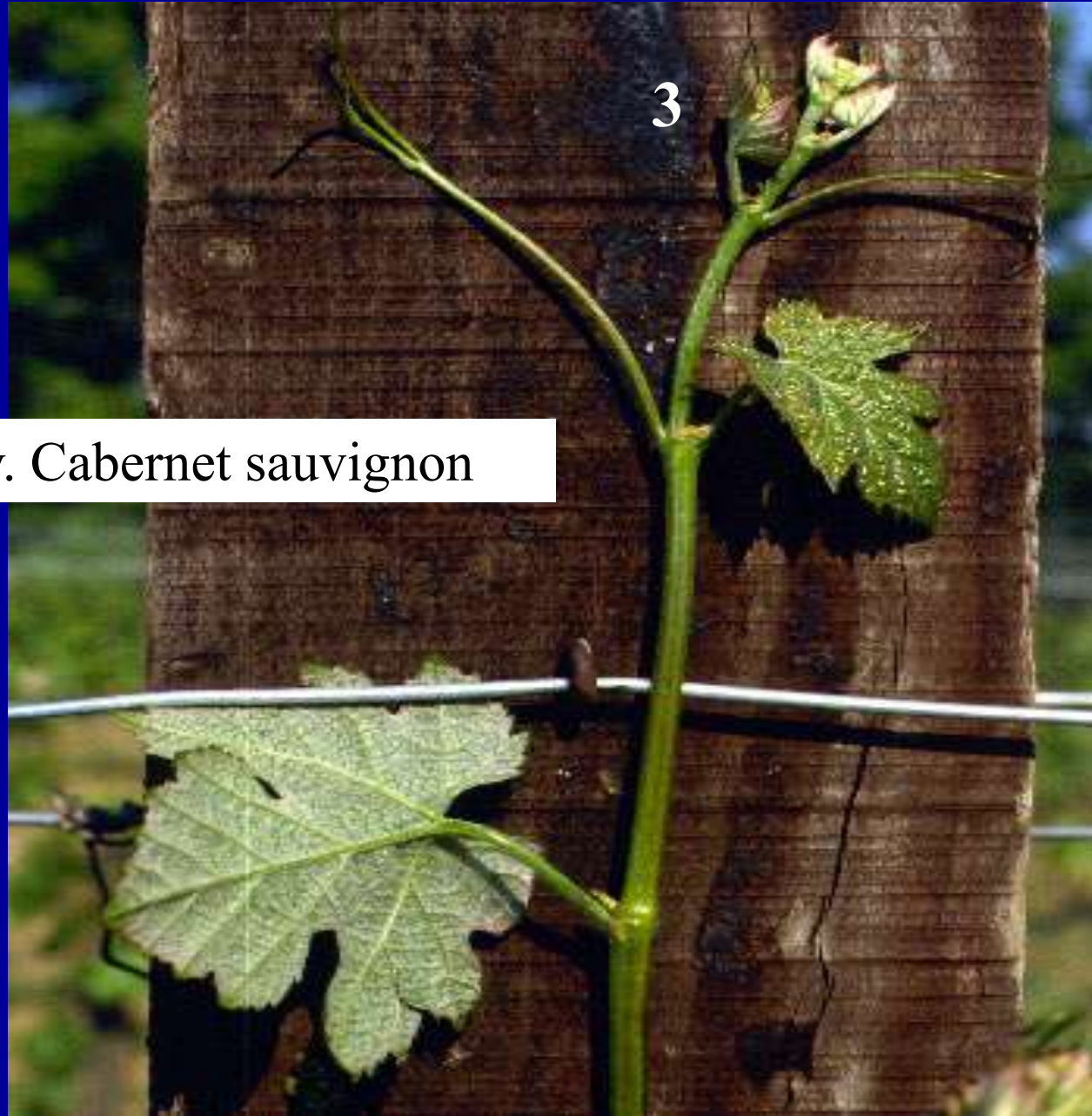


Distribuzione della pigmentazione antocianica dell'apice del giovane germoglio

cv. Pinot menier 2

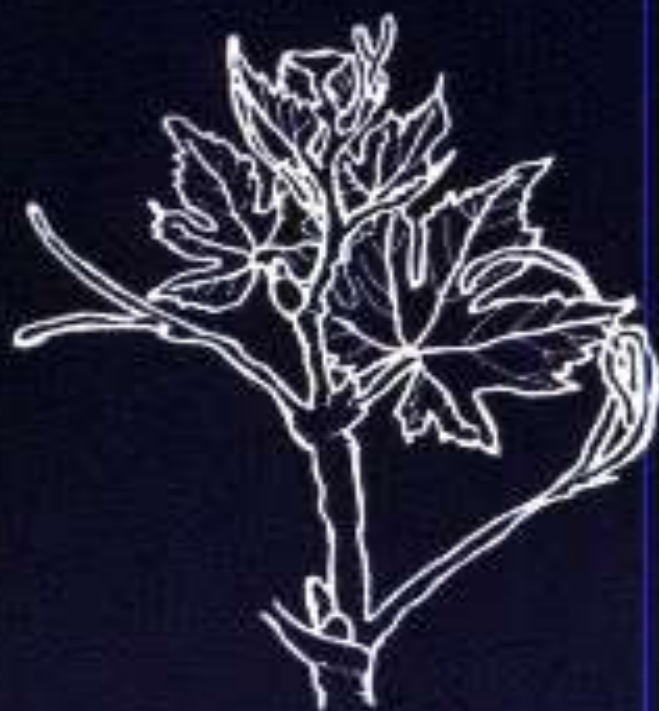


Distribuzione della pigmentazione antocianica dell'apice del giovane germoglio



cv. Cabernet sauvignon

Intensità della pigmentazione antocianica
dell'apice del giovane germoglio (OIV 003)
(germogli di 10-30 cm prima della fioritura)



- 1 nulla o
leggerissima
- 3 leggera
- 5 media
- 7 forte
- 9 fortissima

Intensità della pigmentazione antocianica dell'apice del giovane germoglio :

1

cv. Sangiovese



Intensità della pigmentazione antocianica dell'apice del giovane germoglio :

3

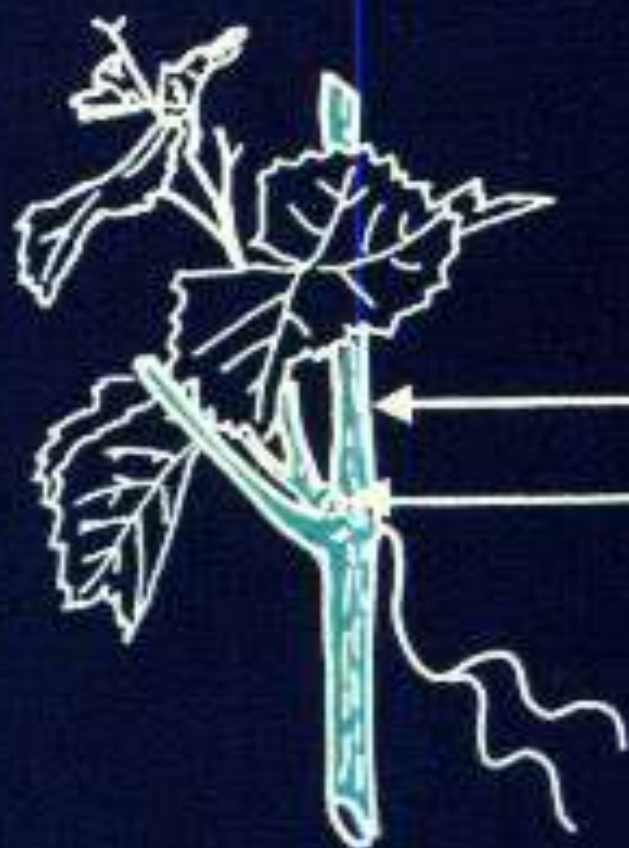


Intensità della pigmentazione antocianica dell'apice del giovane germoglio :

5



colore degli internodi del germoglio alla fioritura



faccia dorsale (OIV 007)

faccia ventrale (OIV 008)

1 verde

2 verde striato di rosso

3 rosso

Colore degli internodi del germoglio alla fioritura



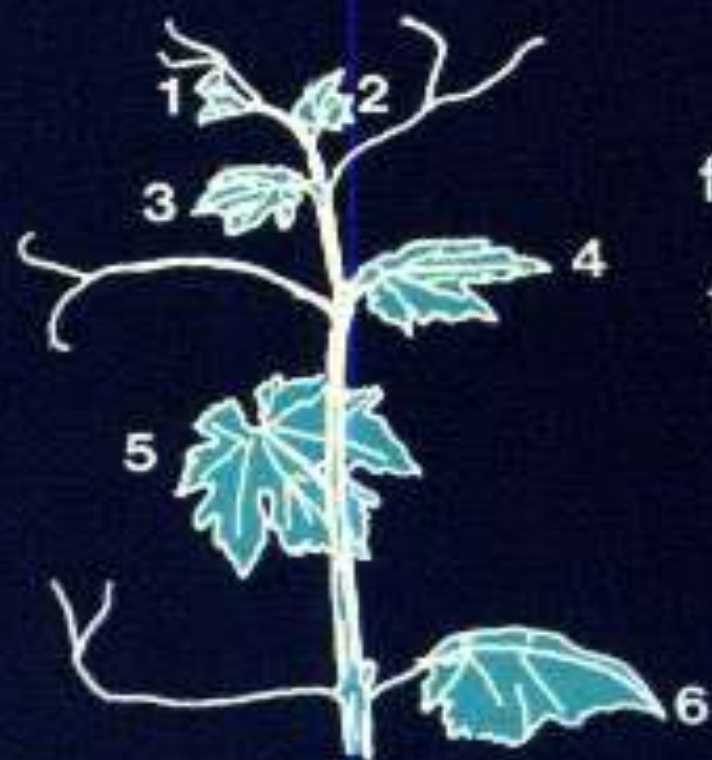
Colore degli internodi del germoglio alla fioritura



cv. Merlot

3

colore della pagina superiore delle giovani foglie
(da osservare prima della fioritura)



foglie 1-3 (OIV 051-1)

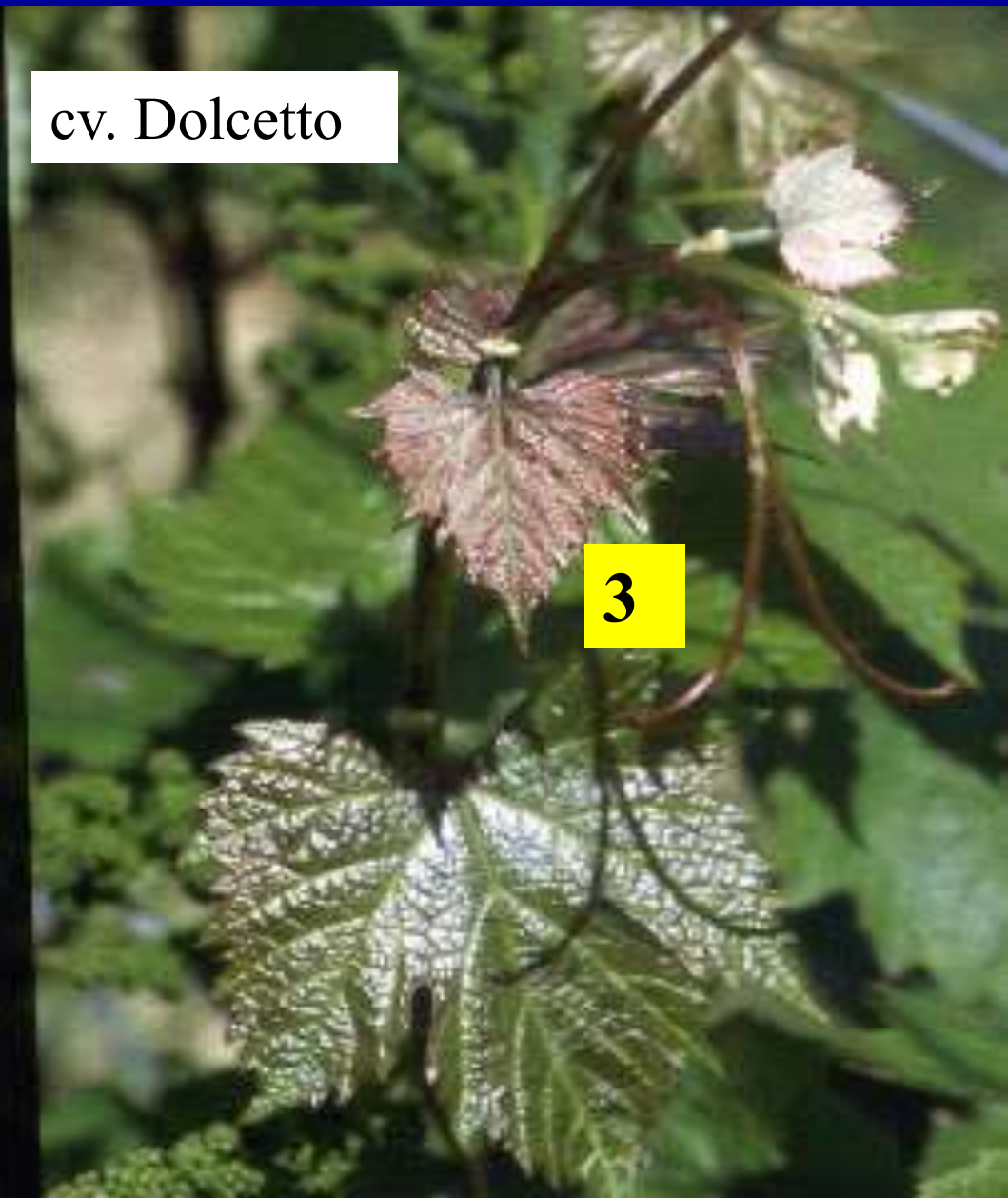
foglie 4-6 (OIV 051-2)

1 verde o giallo

2 aree bronzate

3 ramato o rossastro

Colore della pagina superiore delle giovani foglie



Colore della pagina superiore delle giovani foglie

cv. Verdicchio bianco

2

A close-up photograph of a young grapevine branch. The focus is on several emerging leaves. The upper surface of the leaves is a pale, yellowish-green color, while the lower surface is a darker green. The leaves are attached to a dark brown stem. The background is blurred, showing more of the vine and leaves.

Colore della pagina superiore delle giovani foglie

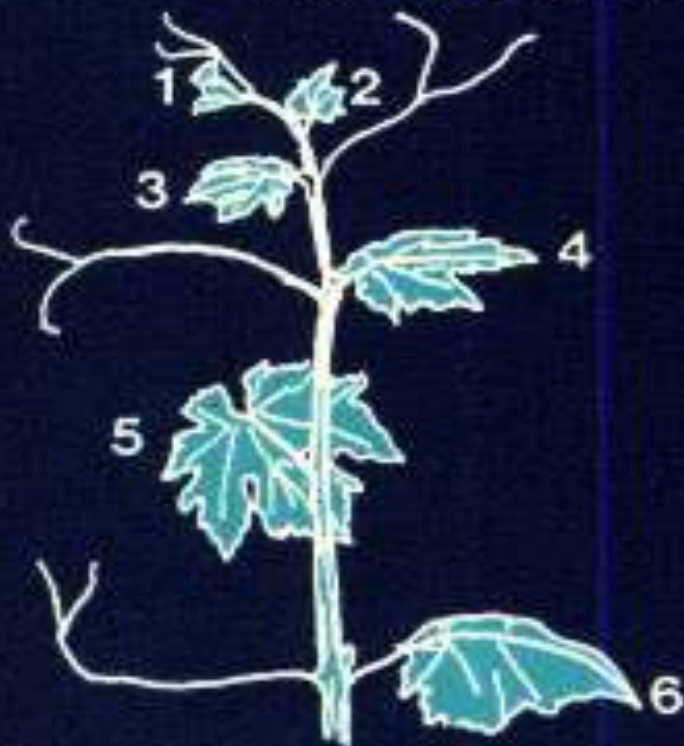


3

cv. Lacrima nera

Tomentosità della pagina inferiore delle giovani foglie

Tomentosità della pagina inferiore delle giovani foglie
(da osservare prima della fioritura)



densità dei peli coricati
della zona internervale
della foglia 4 (OIV 053)

1 nulla o molto rada

5 media

9 fitti

Tomentosità della pagina inferiore delle giovani foglie

cv. Sangiovese



1



3



cv. Malbo gentile



4



5

cv. Biancame



6

cv. Trebbiano
romagnolo



7



8

cv. Albana



cv. Concord



9

Sesso del fiore (OIV 151, IBPGR 4.2.1)



1 maschile



2 maschile
ermafrodita



3 ermafrodita

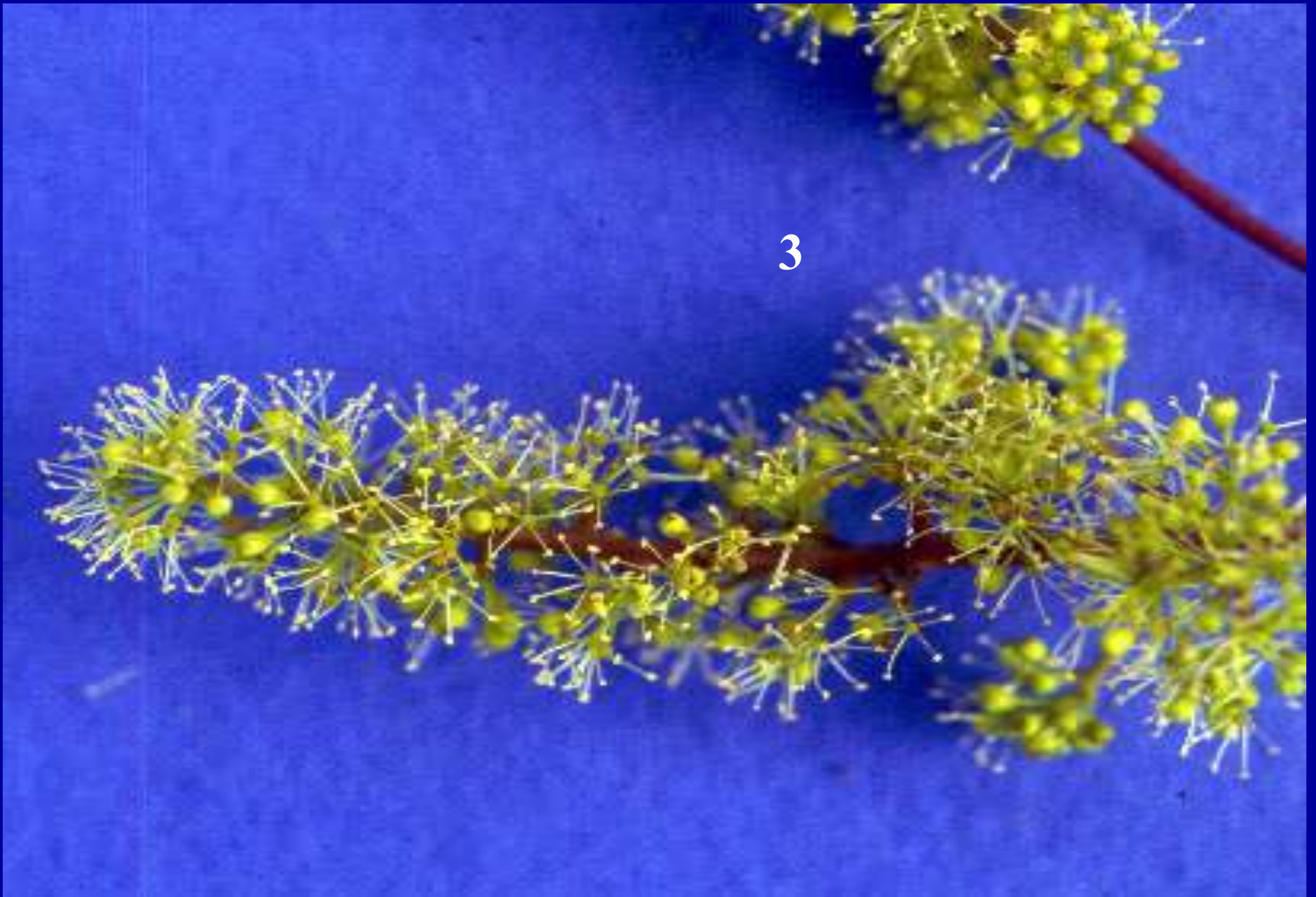


4 femminile
stami eretti



5 femminile
stami riflessi

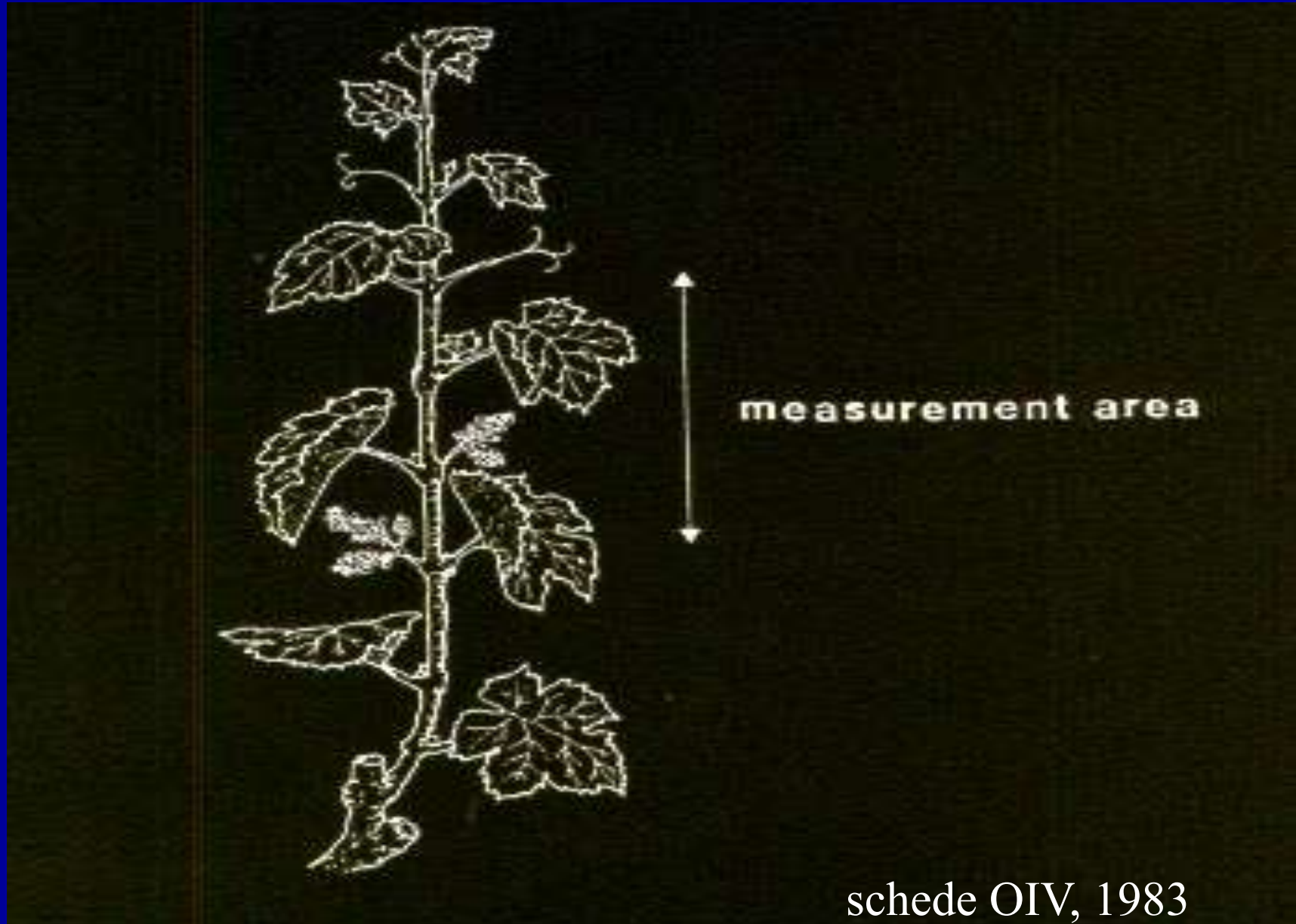
Sesso del fiore



Variabilità della morfologia fogliare



Zona di osservazione delle foglie adulte nel periodo compreso tra allegagione e invaiatura è il terzo mediano del germoglio.



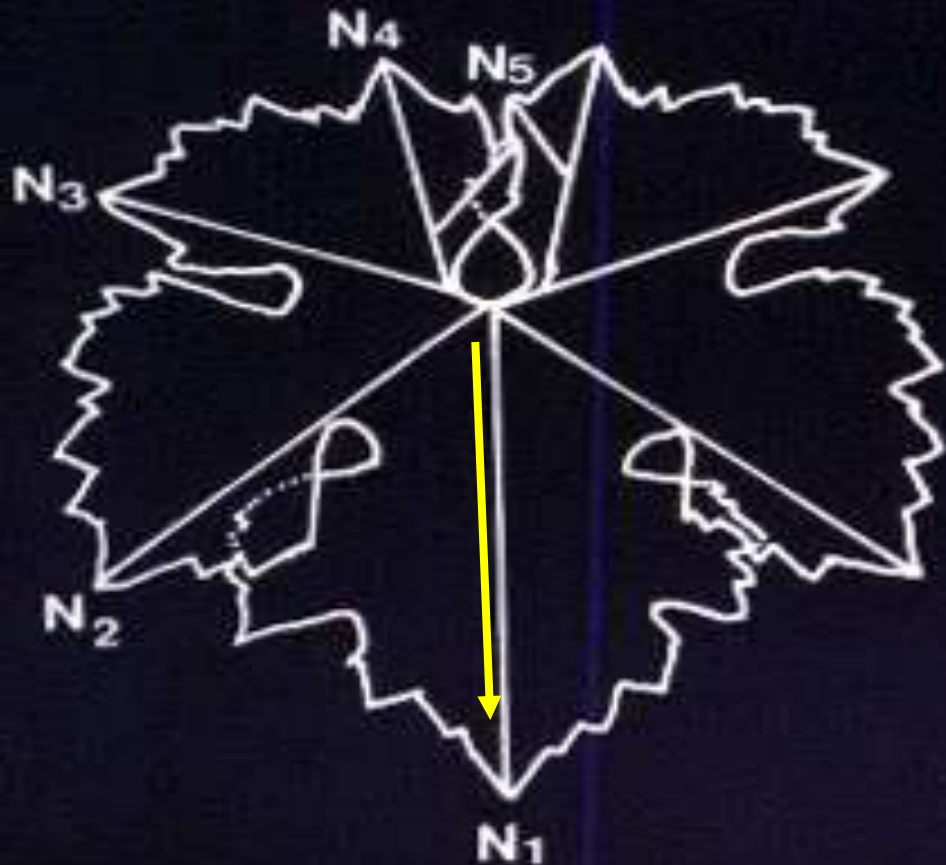
schede OIV, 1983





Lunghezza delle nervature fogliari

Lunghezza delle nervature N1, N2, N3, N5 della foglia adulta (OIV 066-1/ 066-4)



N1

< 9 cm	1 cortissima
12 cm	3 corta
15 cm	5 media
18 cm	7 lunga
> 21 cm	9 lunghissima

Forma del lembo della foglia adulta (OIV 067)

1 cuneiforme



2 cordiforme



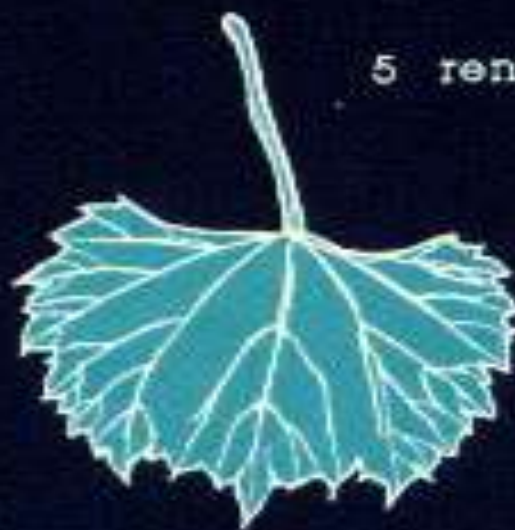
3 pentagonale



4 orbicolare



5 reniforme



Forma del seno peziolare della foglia adulta
(OIV 079, IBPGR 4.1.9.)

2 apertissimo



3 aperto



4 leggermente aperto



5 chiuso



6 lobi leggermente sovrapposti



7 lobi sovrapposti



8 lobi molto sovrapposti



Apertura del seno peziolare della foglia adulta (OIV 079-1)

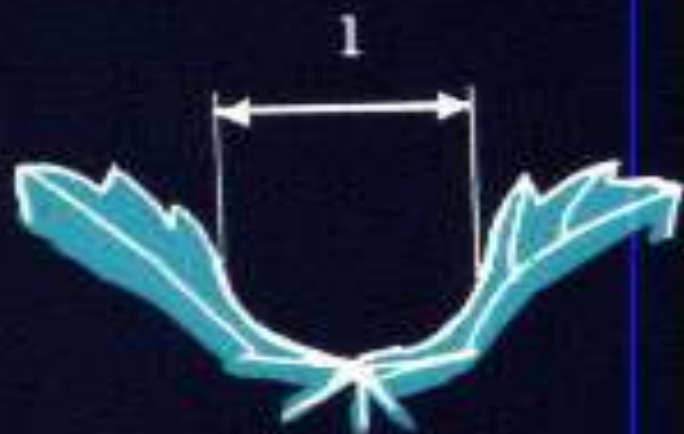
1 molto aperto

3 aperto

5 chiuso

7 a bordi sovrapposti

9 a bordi molto sovrapposti



molto aperto

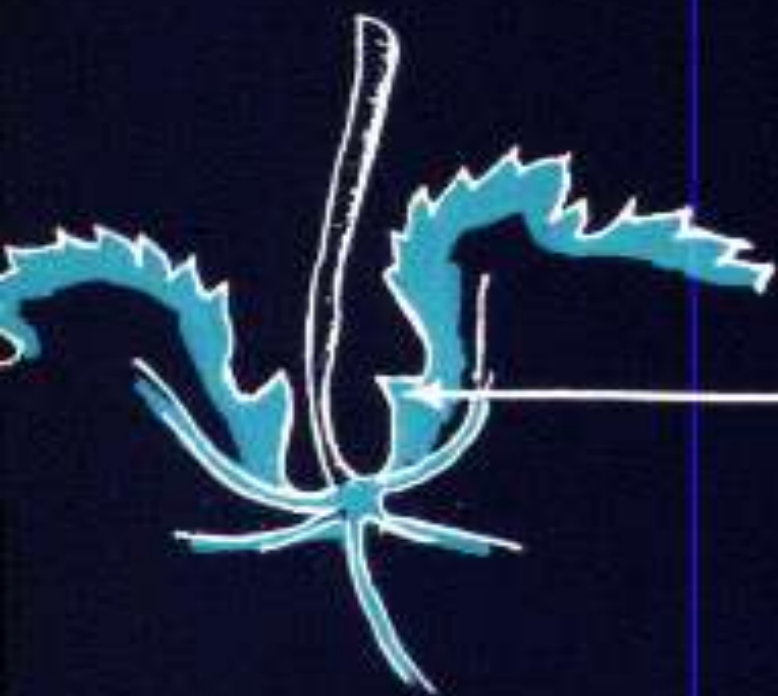


chiuso



a bordi molto sovrapposti

Particolarità del seno peziolare della foglia
adulta (OIV 081 IBPGR 6.1.31)

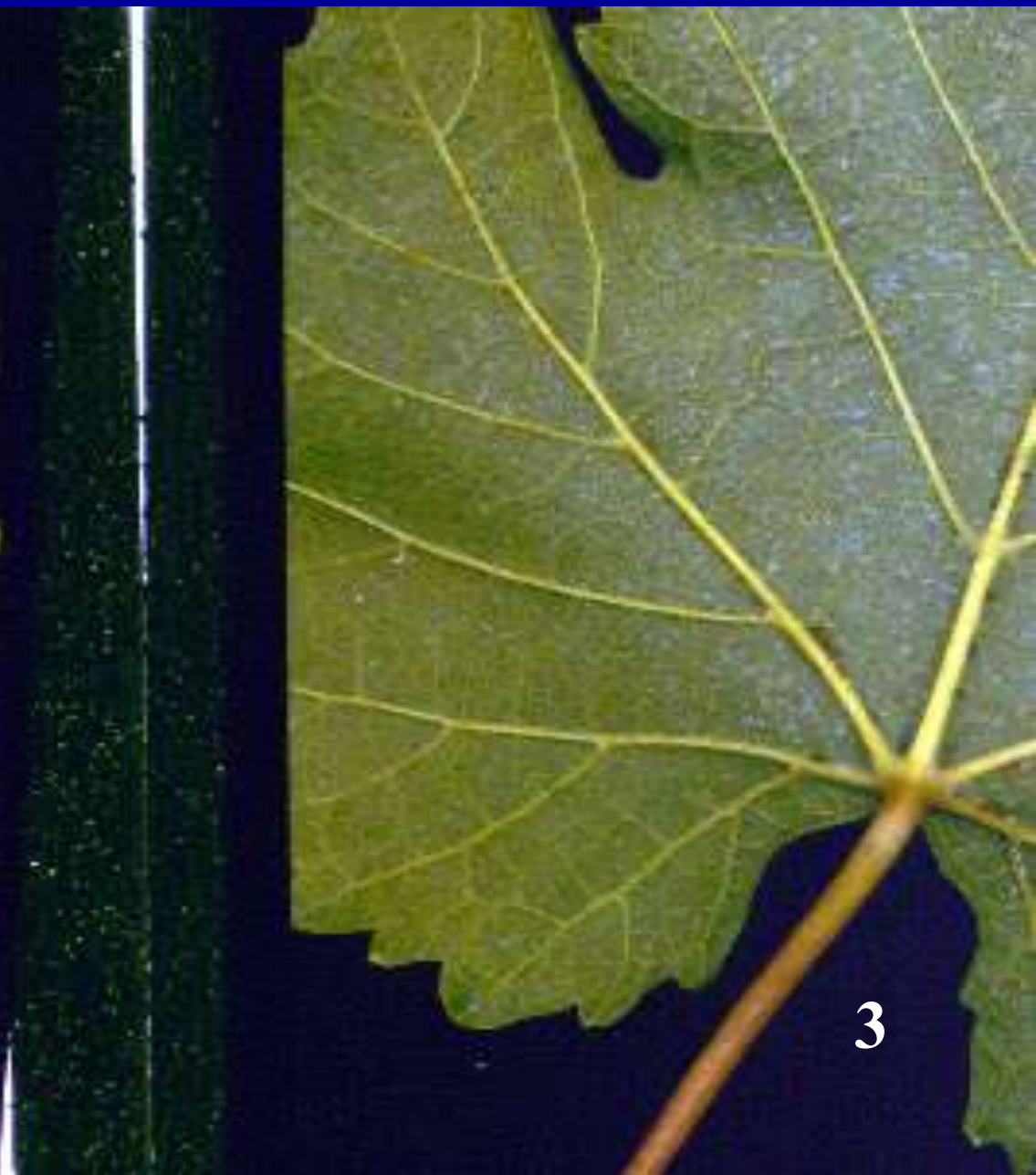


1 nessuna

2 fondo limitato dalle nervature

3 presenza di un dente sul bordo

Particolarità del seno peziolare foglia adulta

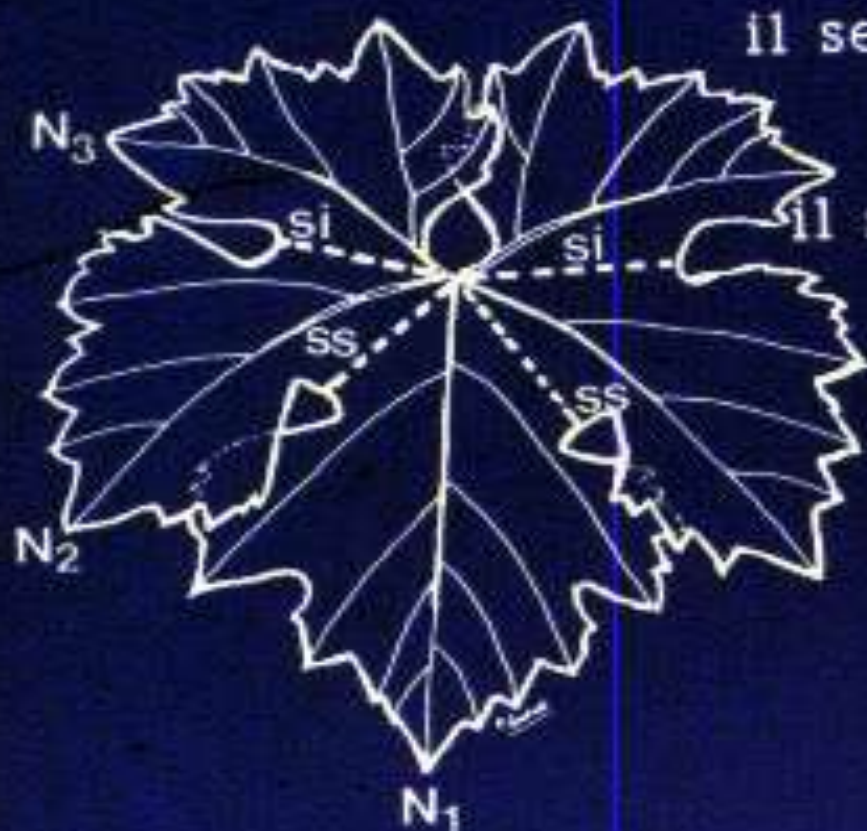


Profondità dei seni della foglia adulta

distanza tra:

il seno peziolare ed il seno superiore ss
(OIV 068 - 1)

il seno peziolare ed il seno inferiore si
(OIV 068 - 2)



- 1 cortissima
- 3 corta
- 5 media
- 7 lunga
- 9 lunghissima

Forma della
della foglia

base dei seni laterali
adulta

seno laterale
seno laterale

superiore (OIV 083 - 1)
inferiore (OIV 083 - 2)



2
α V



1
α U



3
α lira



4
con un
dente

Forma della base dei seni laterali delle foglie adulte



Numero dei lobi della foglia adulta (OIV 068)

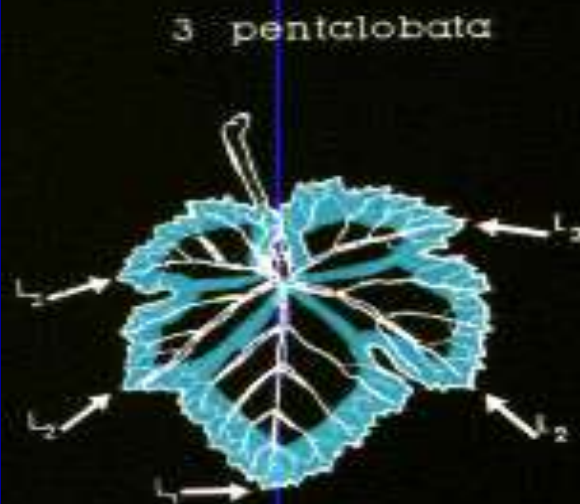
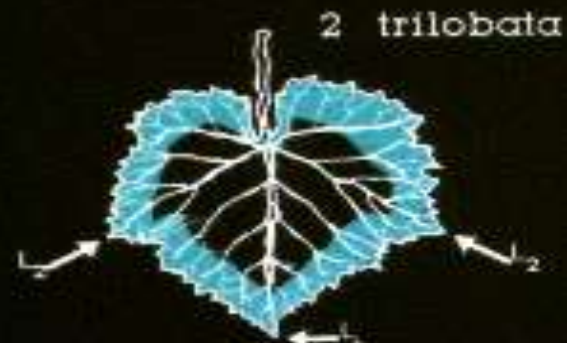
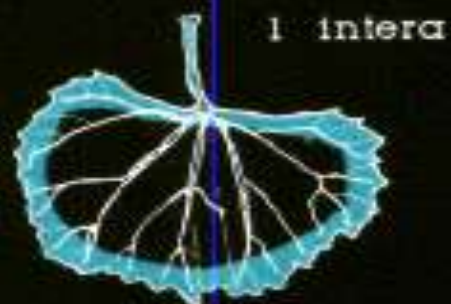
1 intera

2 trilobata

3 pentalobata

4 eptalobata

5 più di 7



Forma dei denti della foglia adulta (OIV 076)

1. a lati concavi



2. a lati rettilinei



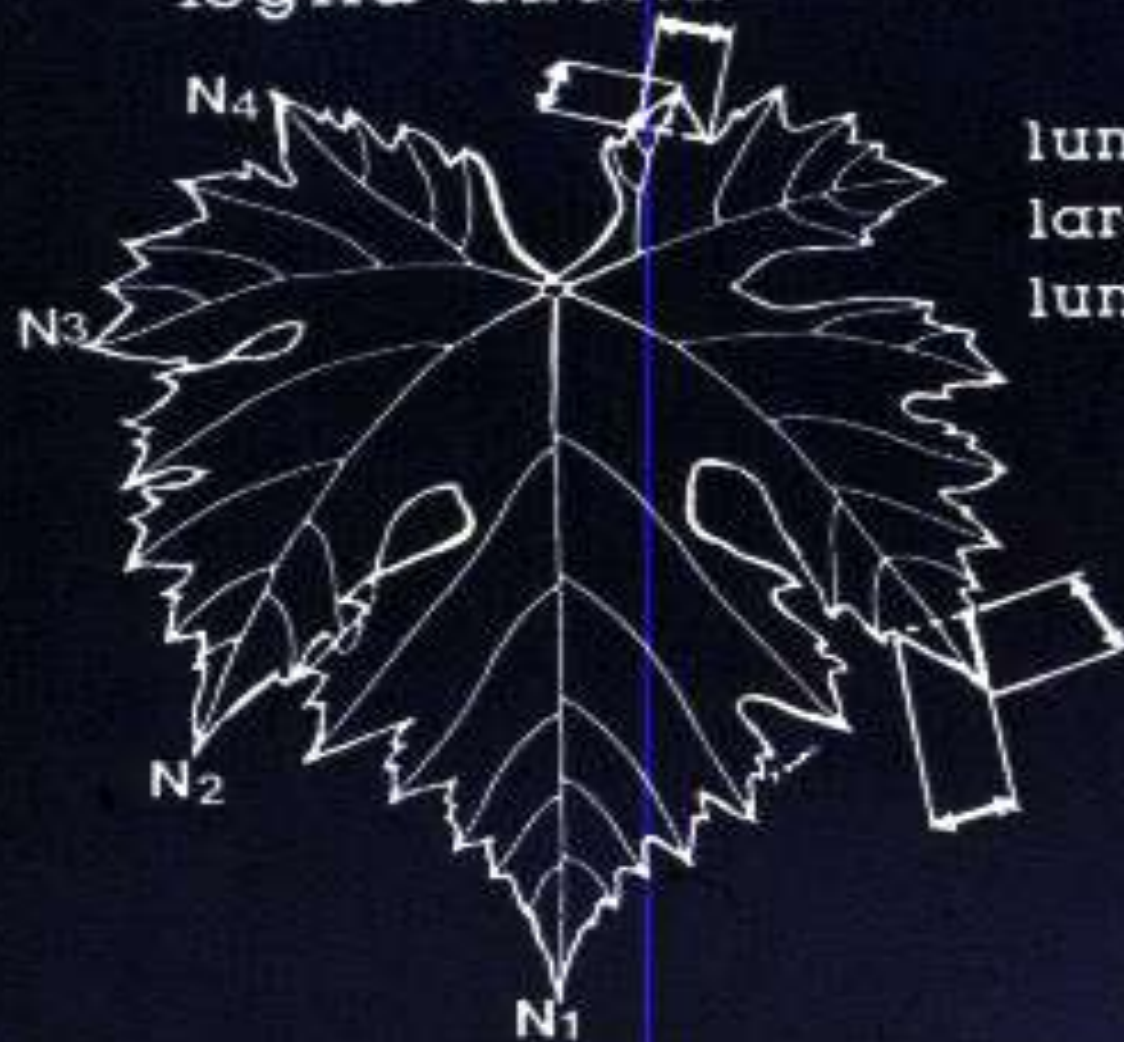
3. a lati convessi



4. un lato concavo ed uno convesso



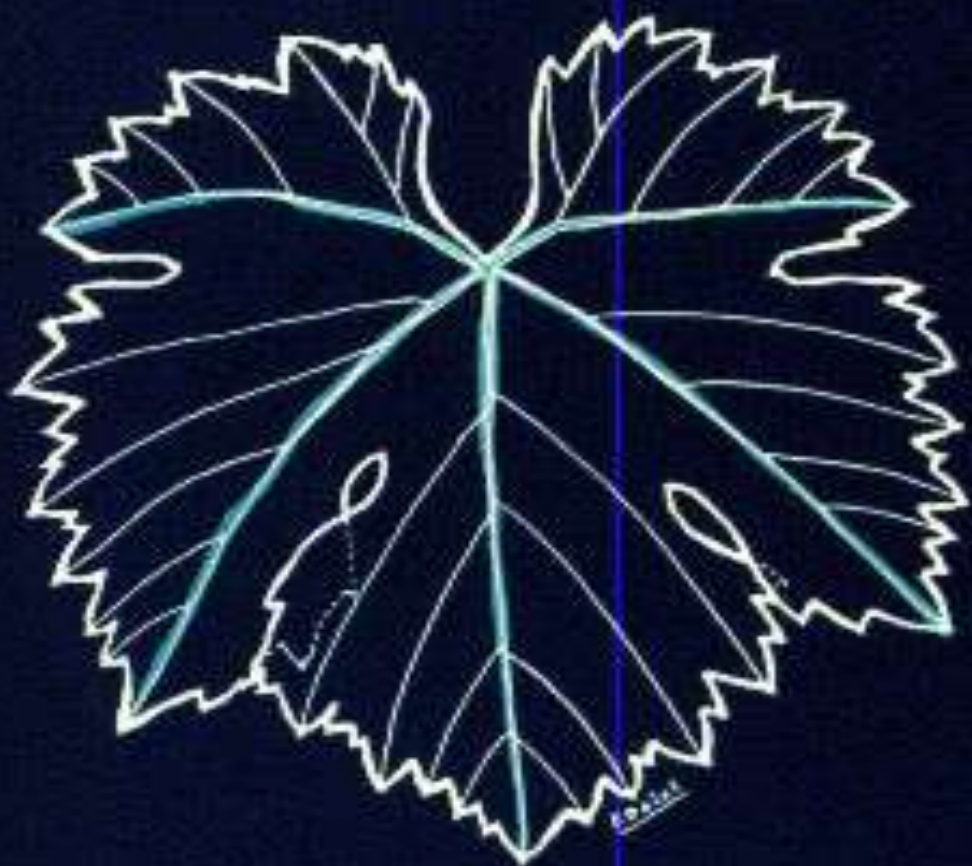
Dimensione dei denti N2 e N4 della foglia adulta



lunghezza (OIV 077-1, 077-2)
larghezza (OIV 077-3, 077-4)
lungh./largh. (OIV 078-1.078-2)

- 1 cortissimo
- 3 corto
- 5 medio
- 7 lungo
- 9 lunghissimo

Pigmentazione antocianica delle nervature principali della pagina superiore della foglia adulta (OIV 070-1)



- 1 nulla
- 2 vicino al seno peziolare
- 3 fino a $1/4$ della lunghezza delle nervature
- 4 più di $1/4$ della lunghezza delle nervature

Pigmentazione antocianica delle nervature principali della pagina superiore delle foglie adulte: 1



cv. Pinot nero

Pigmentazione antocianica delle nervature principali della pagina superiore delle foglie adulte: 3

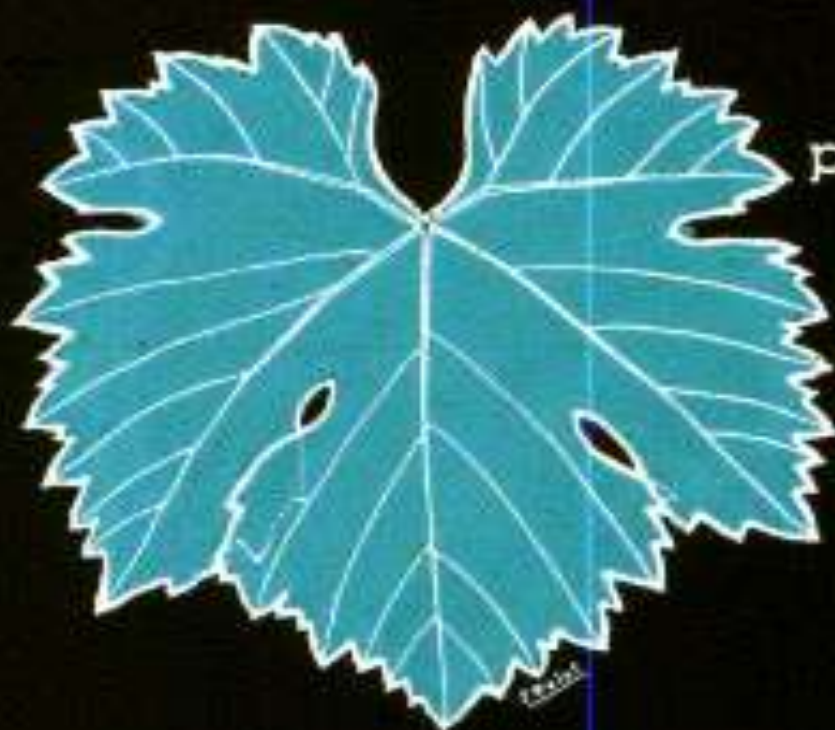
cv. Dolcetto



Tomentosità della pagina inferiore della foglia adulta

Densità dei peli coricati (OIV 084 - 1)

Densità dei peli eretti (OIV 085 - 1)



pellets eretti



pellets coricati

1 nulla o
leggerissima

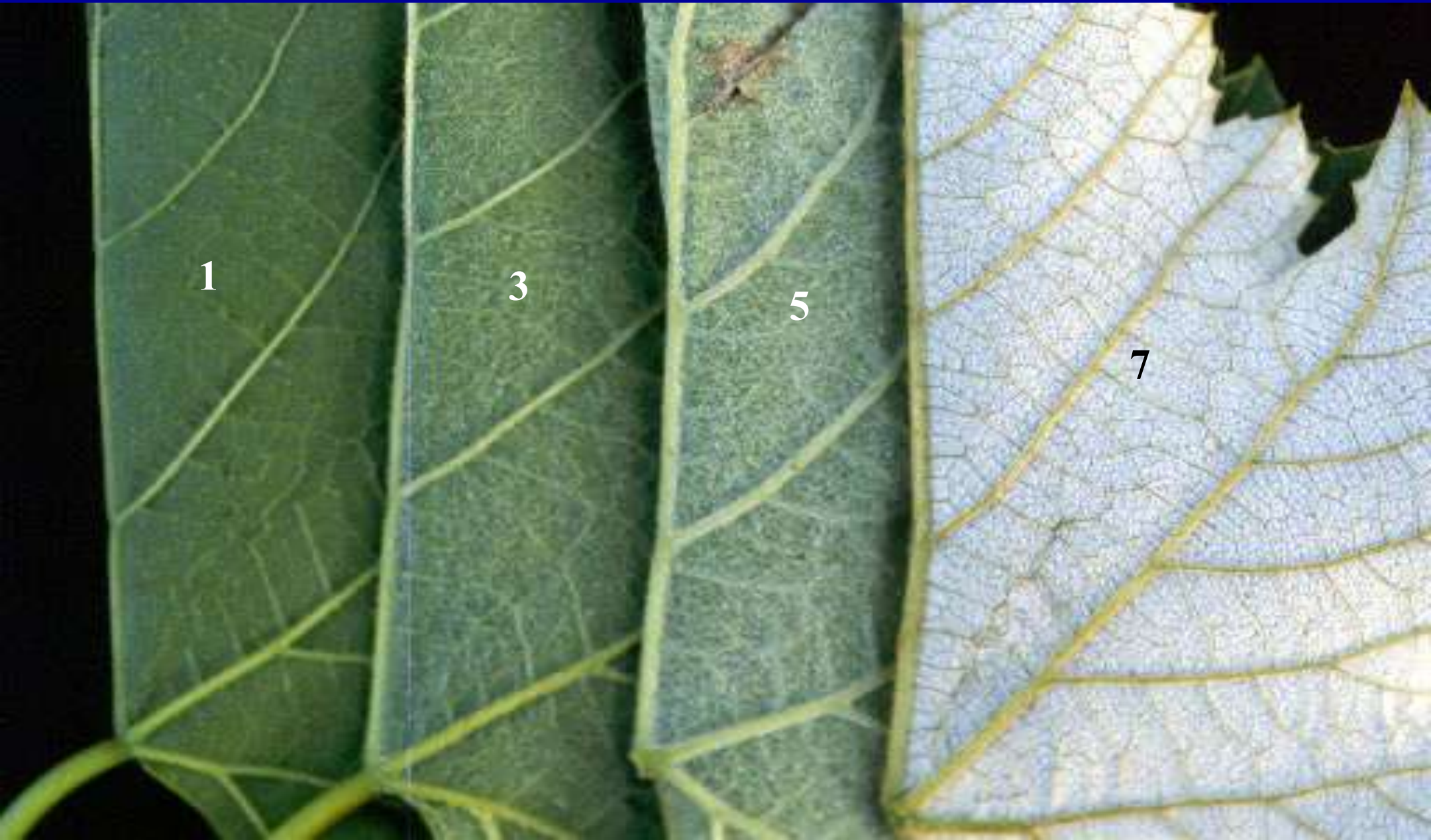
3 leggera

5 media

7 forte

9 fortissima

Tomentosità della pagina inferiore delle foglie adulte



Densità dei peli coricati sulla pagina inferiore
della foglia adulta (OIV 084 - 1)

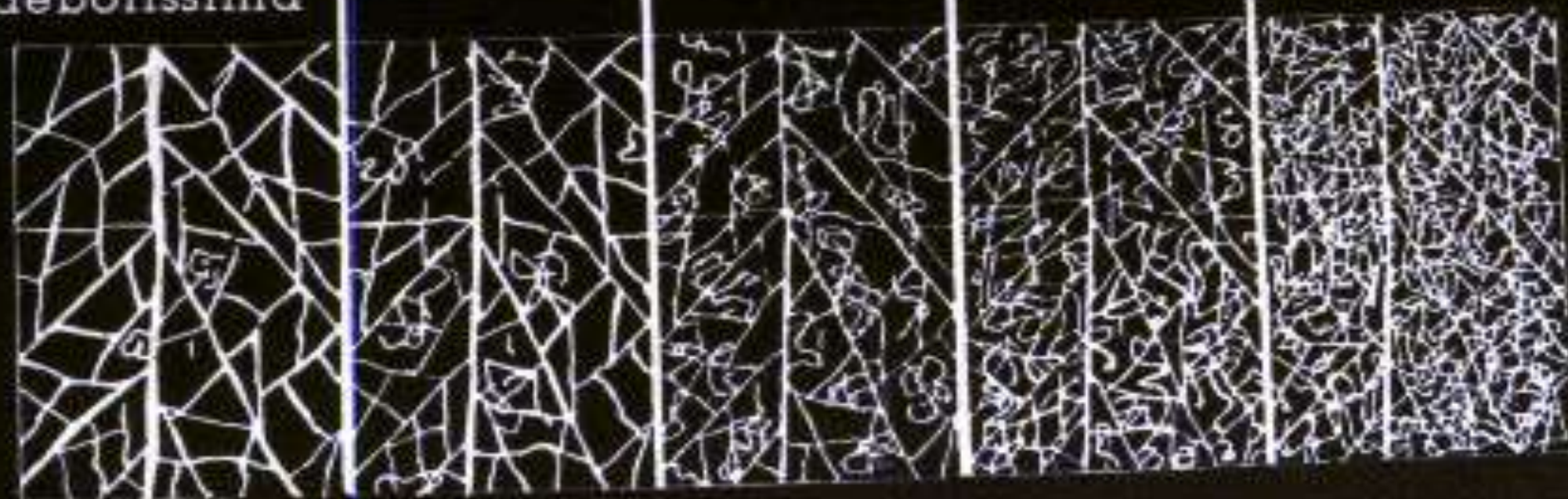
1
nulla o
debolissima

3
debole

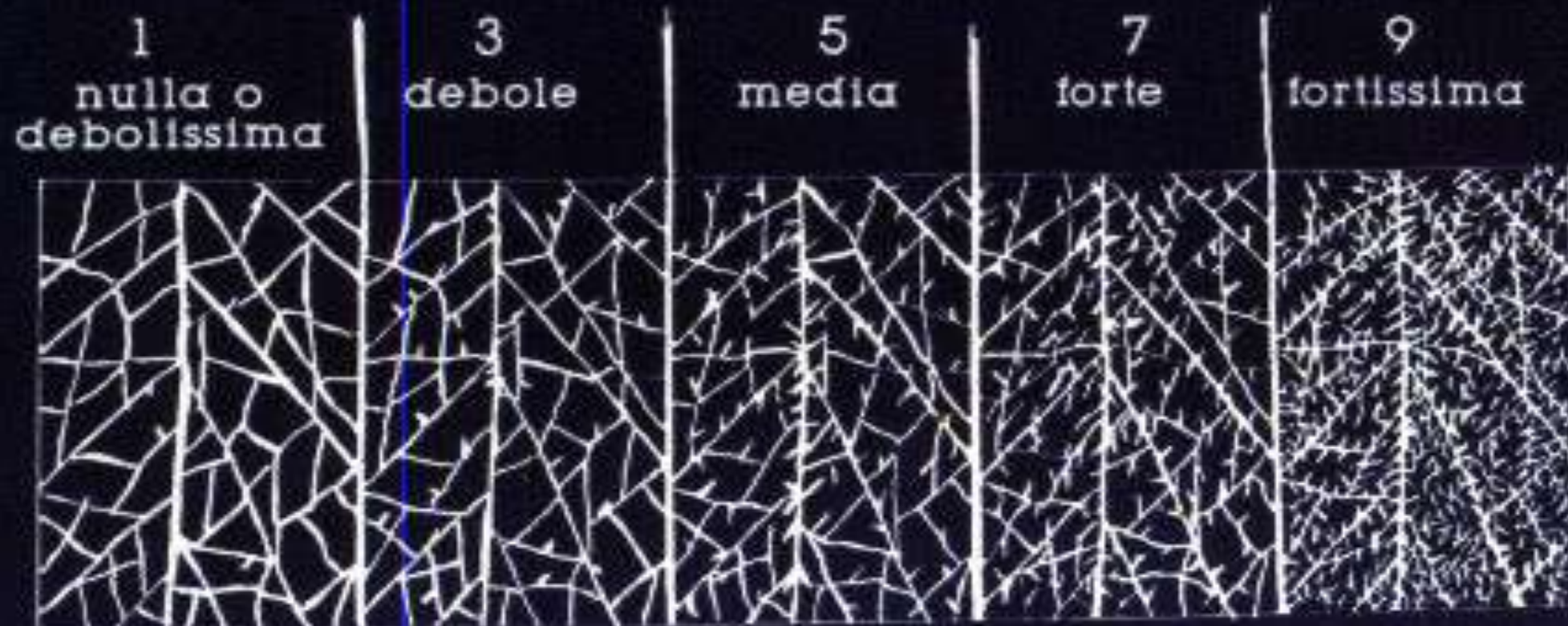
5
media

7
forte

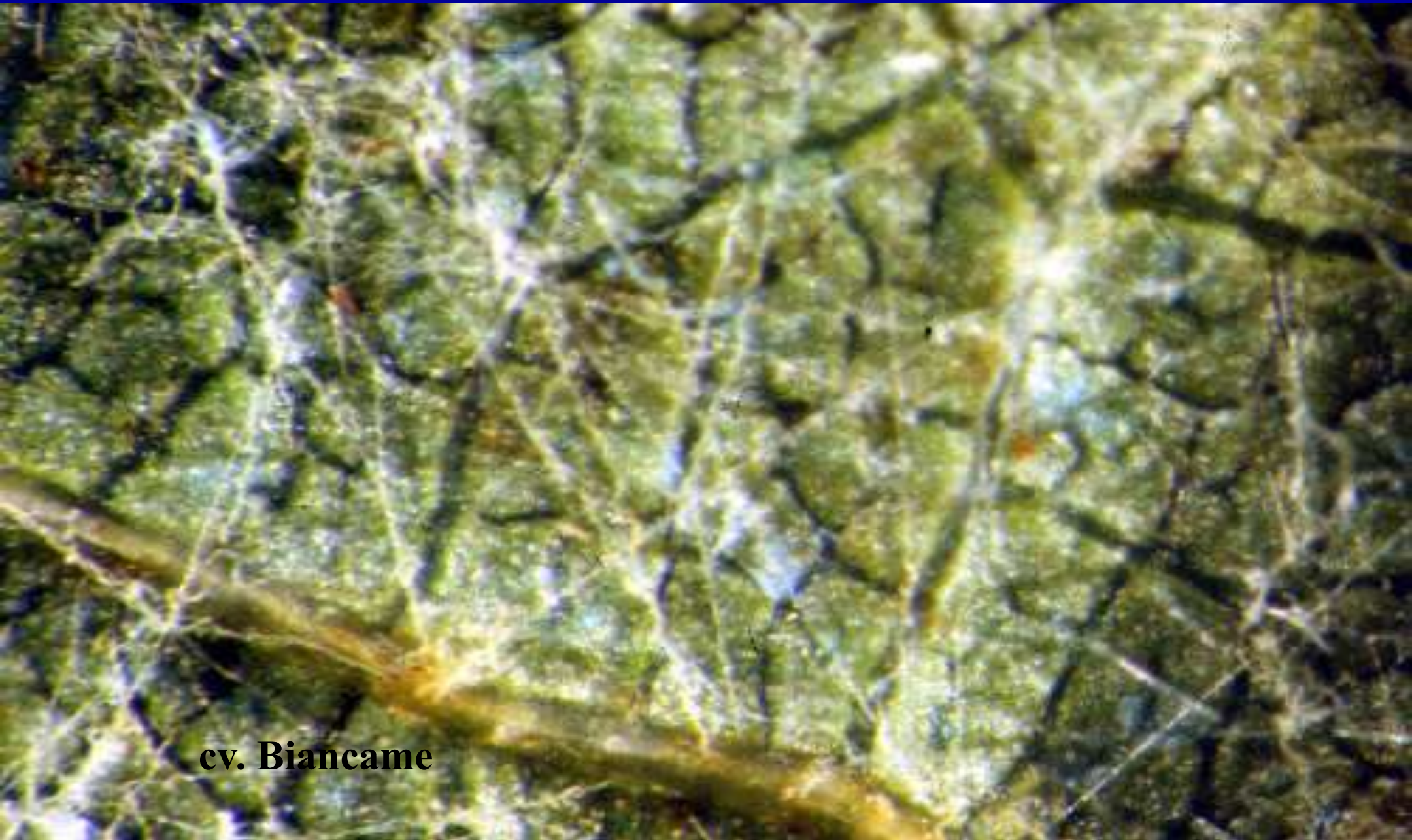
9
fortissima



Densità dei peli eretti sulla pagina inferiore
della foglia adulta (OIV 085 - 1)



Densità peli lunghi della pagina inferiore delle foglie adulte 5

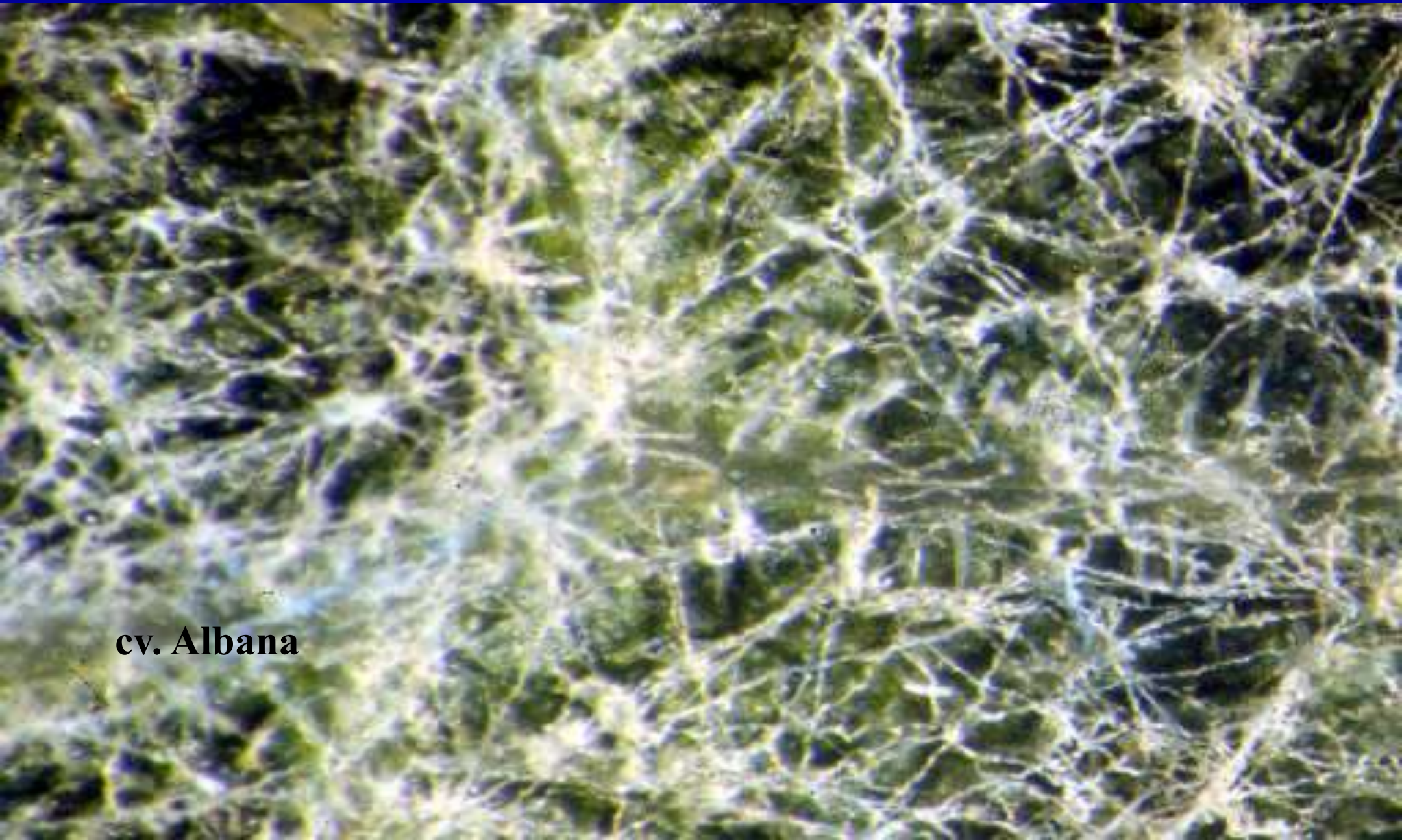


cv. Biancame

Densità peli corti della pagina inferiore delle foglie adulte 5



Densità peli lunghi della pagina inferiore delle foglie adulte : 8



cv. Albana



cv. Trebbiano romagnolo





cv. Maceratino

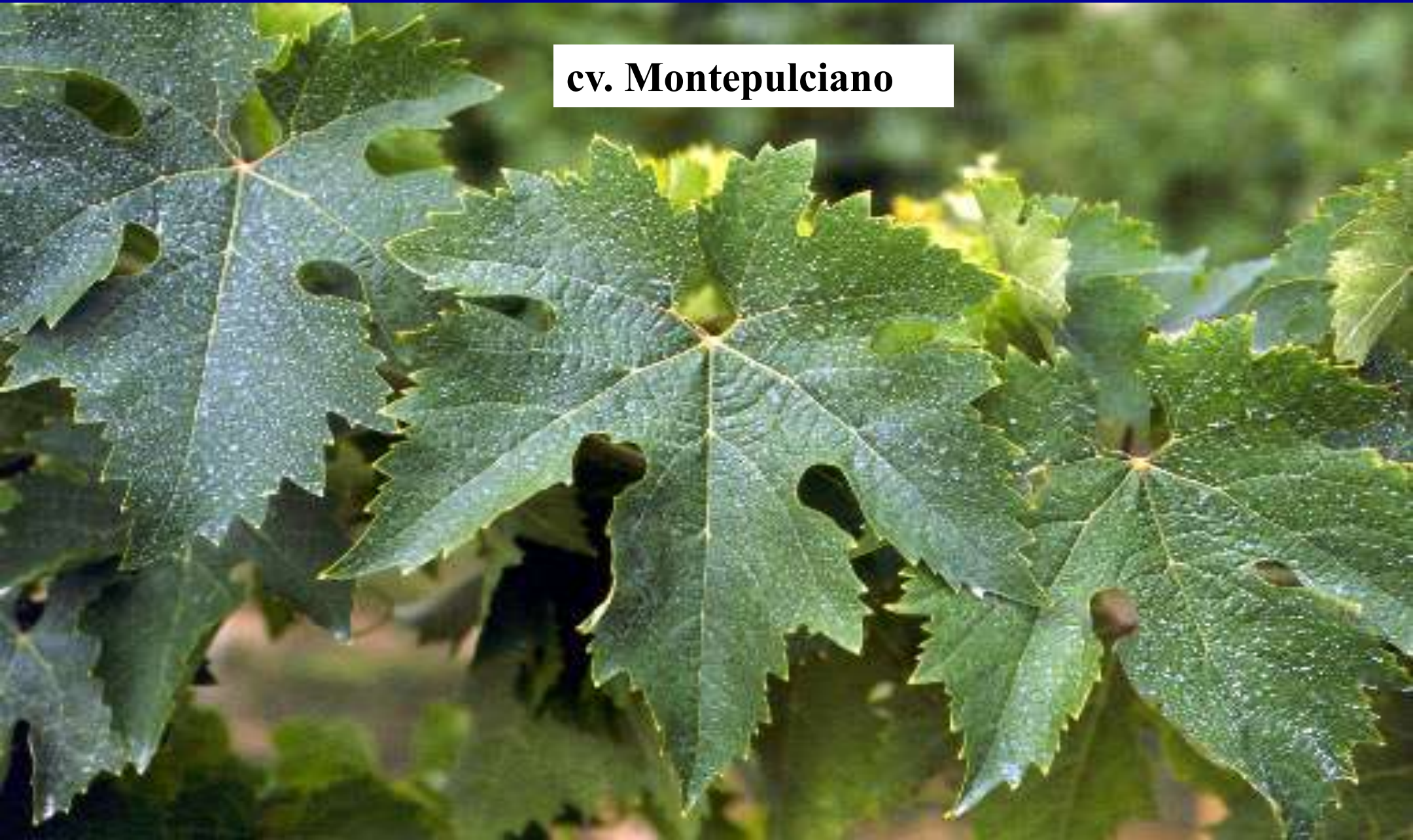


cv. Sangiovese



cv. Sangiovese

cv. Montepulciano



Forma dell'acino (OIV 223, IBPGR 4.2.5)

1 appiattita



2 leggermente appiattita

3 sferoide



4 ellittica

5 ovoide



6 troncoide



7 obovoide

8 cilindroide

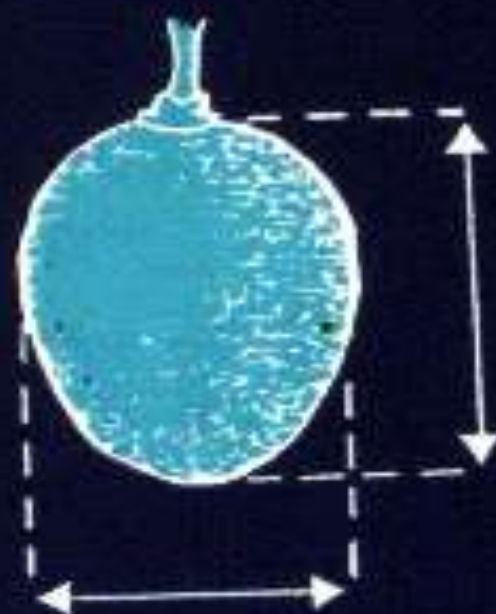


9 fusiforme

10 arcuata



Dimensione dell'acino



lunghezza
(OIV 221 - 1)

- 1 cortissimo
- 3 corto
- 5 medio
- 7 lungo
- 9 lunghissimo

larghezza
(OIV 221 - 2)

- 1 strettissimo
- 3 stretto
- 5 medio
- 7 largo
- 9 larghissimo

Forma e dimensioni degli acini





Dimensione del vinacciolo



lunghezza
(OIV 242 - 1)

- 1 cortissimo
- 3 corto
- 5 medio
- 7 lungo
- 9 lunghissimo

larghezza
(OIV 242 - 2)

- 1 strettissimo
- 3 stretto
- 5 medio
- 7 largo
- 9 larghissimo

Forma del grappolo codice OIV 208

Livelli di espressione / Notation / Bonitierung / Notes / Notación:

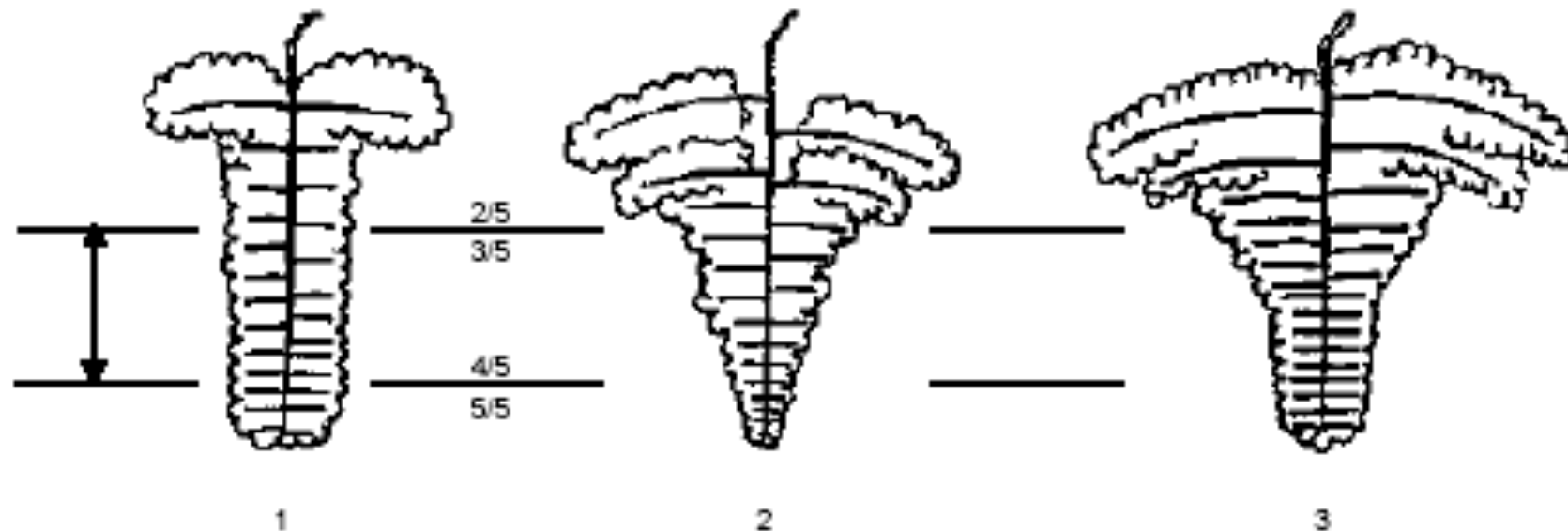
1	2	3
cilindrico	conico	a imbuto
cylindrique	conique	en entonnoir
langzylindrisch, breitzyllindrisch	schmal kegelförmig, breit kegelförmig	trichterförmig
long cylindrical, broad cylindrical	narrow conical, broad conical	funnel shaped
cilíndrico	cónico	forma de embudo

Varietà di riferimento / Exemples de variétés / Beispielsorten / Example varieties / Ejemplos de variedades:

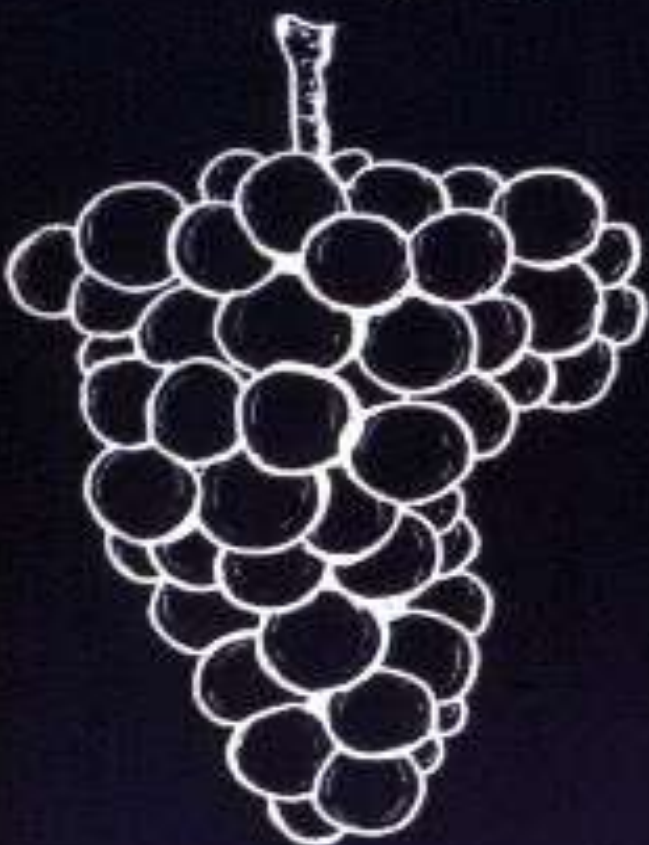
1
Riesling B
Furmint B
Primitivo N

2
Schiava Grossa N

3

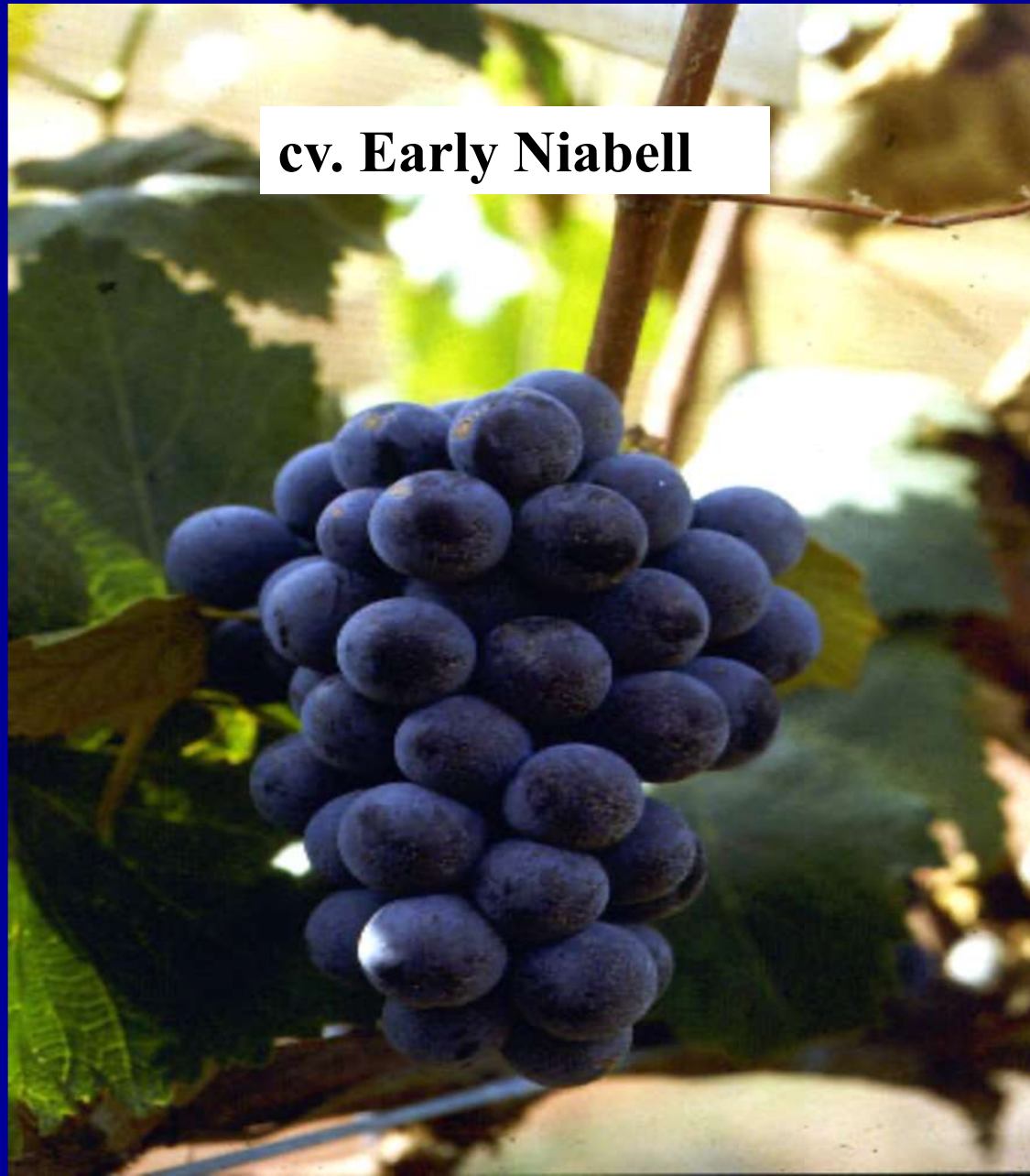


Taglia del grappolo a maturità (OIV 202.IBPGR 4.2.2)
(lunghezza x larghezza del grappolo senza peduncolo)



1	piccolissimo	Pinot nero
3	piccolo	Cabernet Sauvignon
5	medio	Montù
7	grosso	Trebbiano toscano
9	grossissimo	Albana

cv. Early Niabell





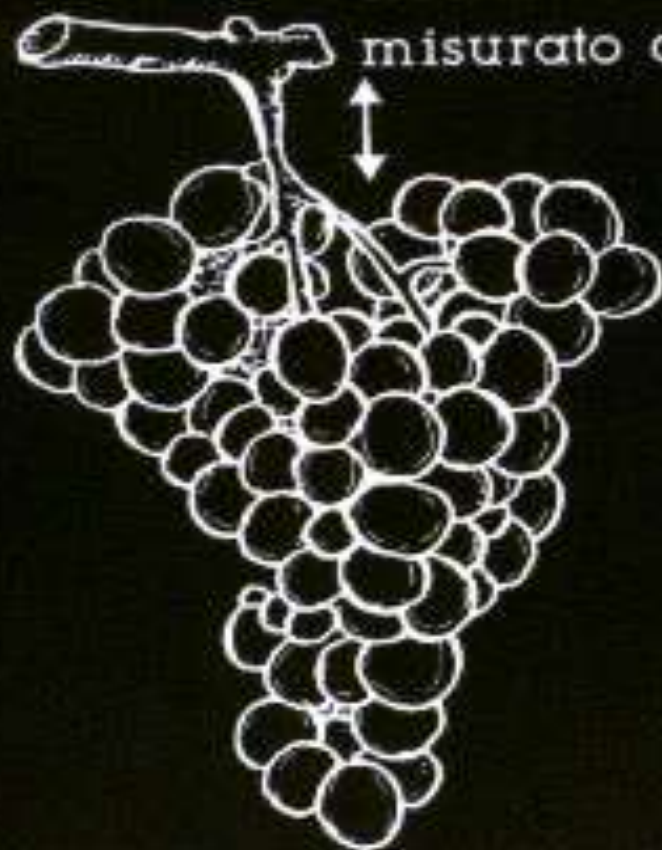
cv. Chardonnay



cv. Trebbiano toscano

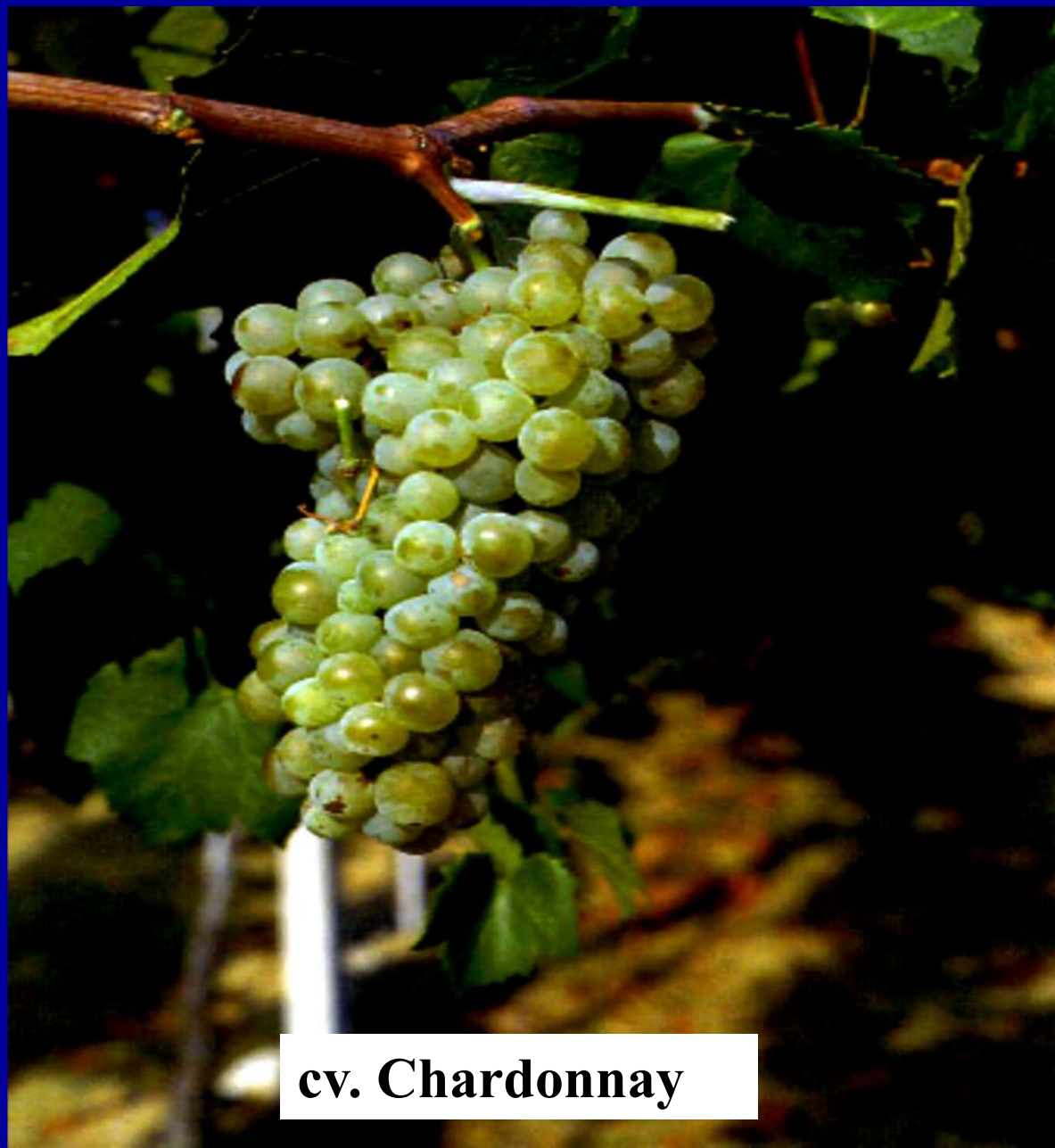
Lunghezza del peduncolo del grappolo a
maturità (OIV 206, IBPGR 4.2.3)

misurato dall'inserzione fino alla prima ramificazione



- | | |
|---------------|--------------------------|
| 1 cortissimo | (< 3 cm, non visibile) |
| 3 corto | (3 - 5 cm, non visibile) |
| 5 medio | (5 - 7 cm, visibile) |
| 7 lungo | (7 - 9 cm visibile) |
| 9 lunghissimo | (> 9 cm, visibile) |

Lunghezza del peduncolo del grappolo a maturità: 1



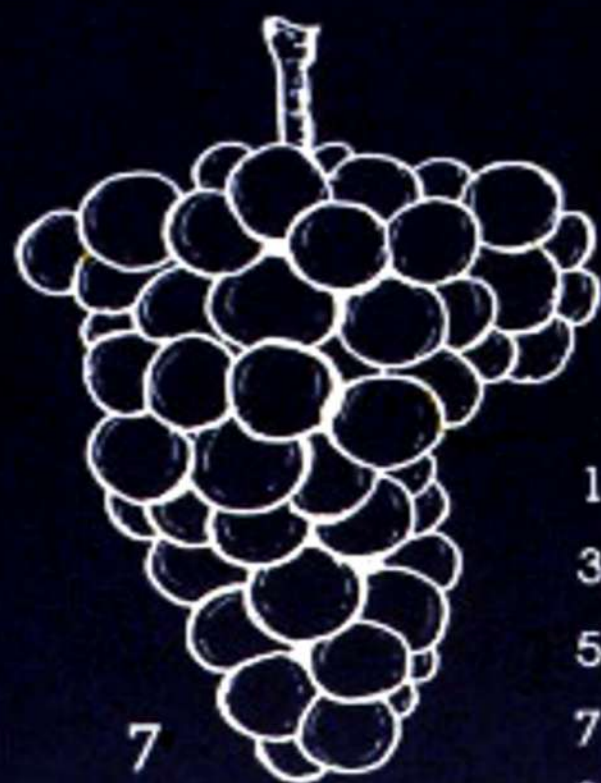
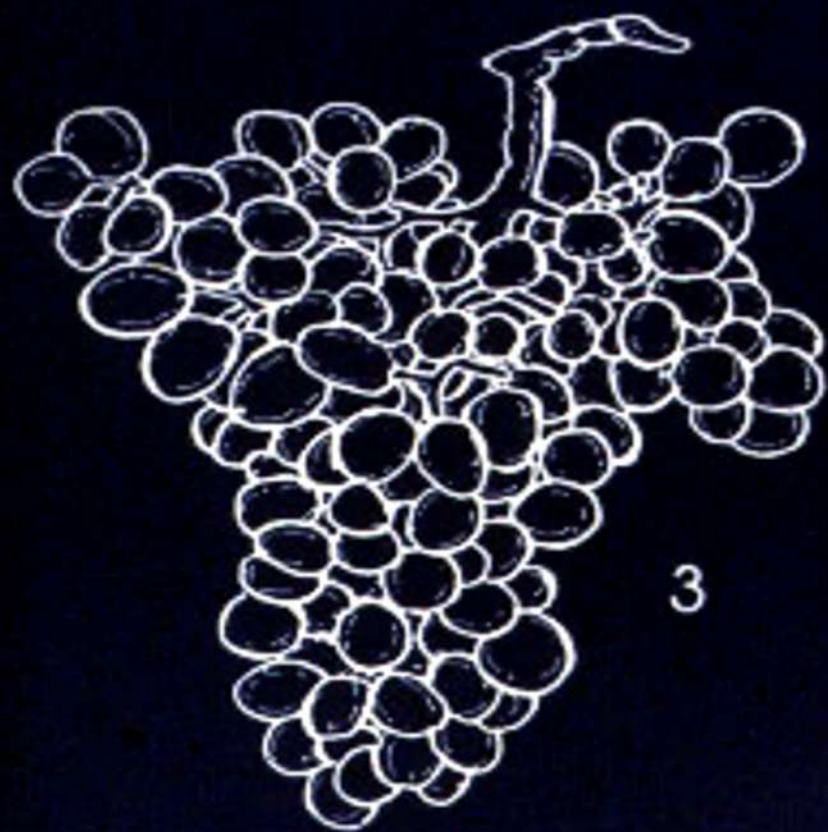
cv. Chardonnay

Lunghezza del peduncolo del grappolo a maturità: 7



cv. Lambrusco marani

Compattezza del grappolo (OIV 204)



- 1 molto spargolo
- 3 spargolo
- 5 medio
- 7 compatto
- 9 molto compatto

Compattezza del grappolo a maturità OIV 204

Livelli di espressione / Notation / Bonitierung / Notes / Notación:

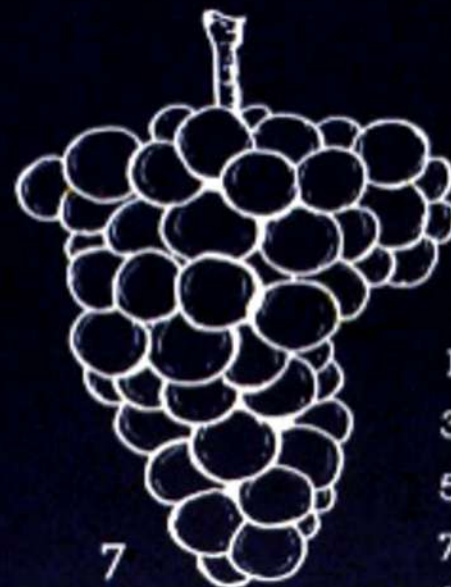
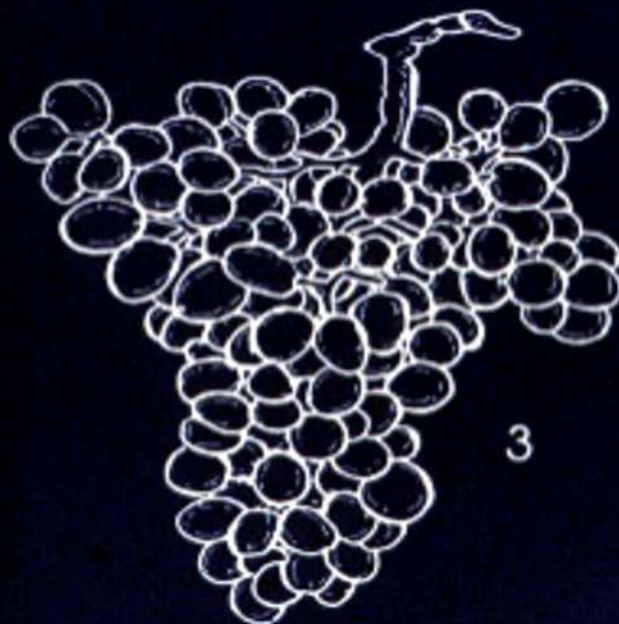
1	3	5	7	9
molto spargolo	spargolo	medio	compatto	molto compatto

Varietà di riferimento / Exemples de varietes / Beispielsorten / Example varieties / Ejemplos de variedades:

1	3	5	7	9
<i>V. amurensis</i>	Perle de Csaba B	Chasselas Blanc B	Chardonnay B	Meunier N
Uva rara N	Cardinal N	Schiava Grossa N	Sauvignon B	Silvaner B
	Prosecco B		Chenin B	

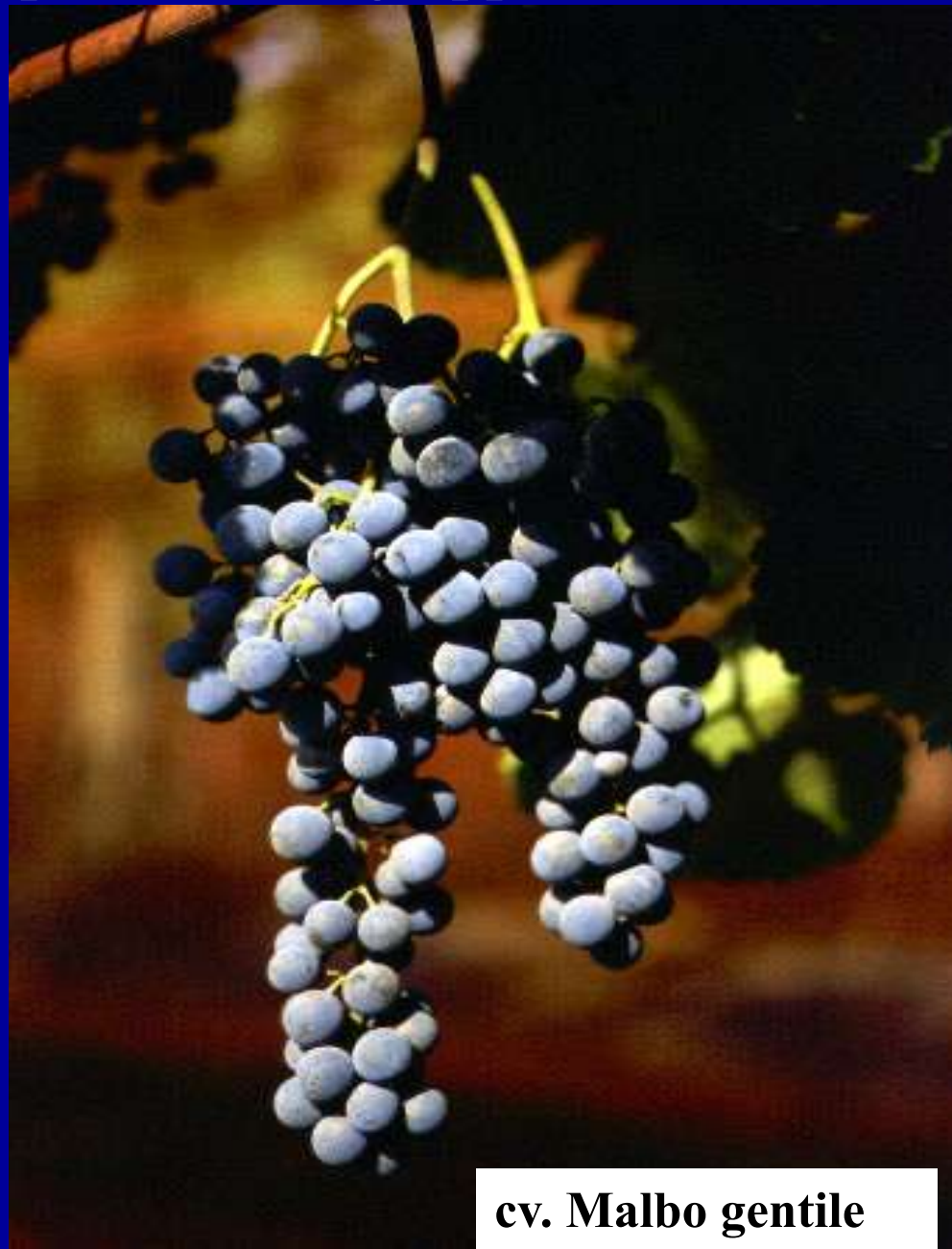
Indicazioni / Définitions / Definitionen / Definitions / Indicaciones:

I: Osservazione da effettuare alla maturazione. Media di tutti i grappoli di 10 tralci. 1 = acini in gruppo, molti pedicelli visibili; 3 = acini separati, qualche pedicello visibile; 5 = acini compatti, pedicelli non visibili; 7 = acini che non si possono muovere direttamente; 9 = acini deformati dalla pressione.



- 1 molto spargolo
- 3 spargolo
- 5 medio
- 7 compatto
- 9 molto compatto

Compattezza del grappolo a maturità: 3



cv. Malbo gentile

Compattezza del grappolo a maturità: 6



cv. Albana

Compattezza del grappolo a maturità: 5



cv. Sangiovese

Compattezza del grappolo a maturità: 8



cv. Sangiovese

METODI AMPELOGRAFICI

METODI DESCRITTIVI si basano sulla **descrizione dell'habitus morfologico** della pianta evidenziando i caratteri che la differenziano da piante appartenenti ad un'altra cultivar o specie.

METODI AMPELOMETRICI (o biometrici) si basano sulla misurazione di parametri di alcuni organi della pianta per confrontare le misure registrate con quelle ottenute su altre cultivars o specie. Fillometria: misure relative alle foglie. Carpometria: misure relative ai frutti

METODI BIOCHIMICI si basano sulla **determinazione della presenza e della quantità di sostanze** contenute nella pianta e la cui biosintesi dipende più o meno direttamente dal genotipo (es. analisi dei sistemi enzimatici)

(METODI GENETICI) si basano **sull'analisi del genotipo** attraverso tecniche diverse (es. RFLP, RAPDs, Microsatelliti)

METODI AMPELOMETRICI (o biometrici)

si basano sulla misurazione di parametri di alcuni organi della pianta

Carpometria (misure sui frutti)

Fillometria (misure sulle foglie)

Tali metodi sono stati utilizzati allo scopo di:

-superare la soggettività ed approssimazione di valutazione dei caratteri descrittivi qualitativi

-ottenere valori numerici di parametri caratteristici di determinati vitigni con la possibilità di confrontarli mediante analisi statistica ed archivarli in database.

Carpometria è lo studio e definizione della forma dei grappoli, delle bacche e dei vinaccioli attraverso una serie di misure

La carpometria è considerata una branca secondaria dell'ampelometria perchè presenta alcuni limiti ai fini della identificazione varietale:

- grappoli e acini presentano differenze che sono fortemente influenzate da fattori ambientali e colturali
- possono essere osservati in un periodo limitato del ciclo vegetativo
- rappresentano la porzione del vitigno che ha la maggiore importanza commerciale

Fillometria è lo studio e definizione della forma delle foglie attraverso una serie di misure lineari o angolari.

Vantaggi dell'utilizzo delle foglie in ampelometria ai fini della identificazione varietale:

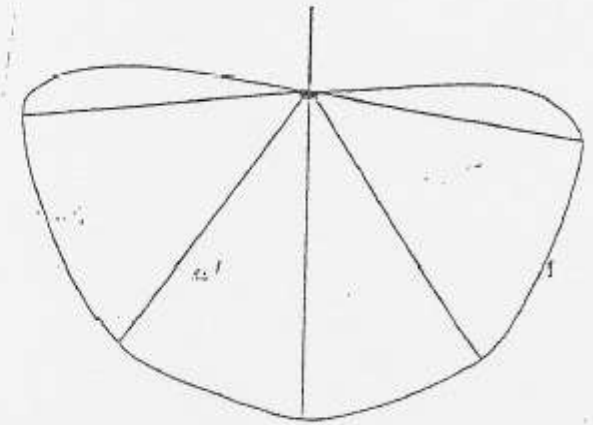
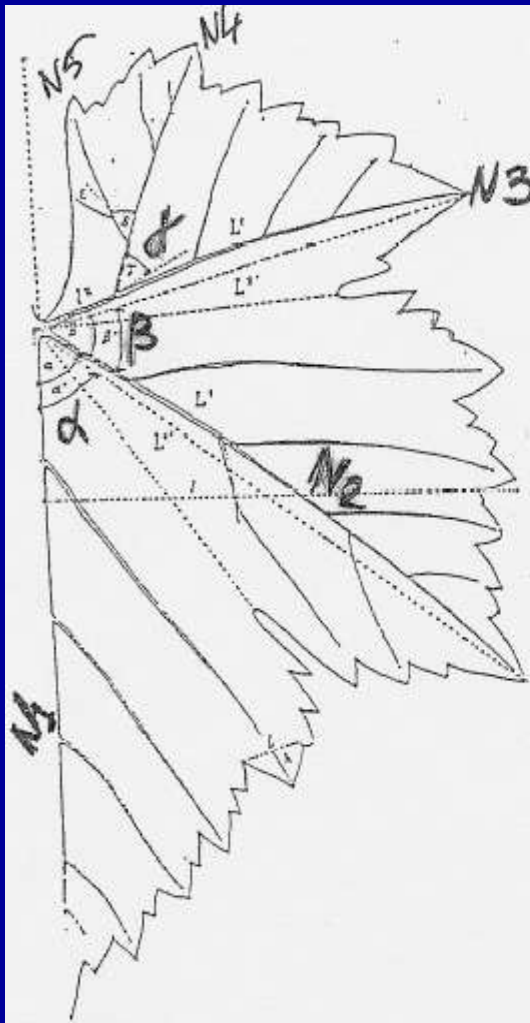
- presentano ottimo valore diagnostico**
- possono essere asportate senza pregiudicare la produzione**
- sono reperibili per un lungo periodo del ciclo vegetativo**
- sono facilmente conservabili**
- presentano un elevato numero di descrittori utilizzabili**
- esiste la possibilità di automatizzare la raccolta dei dati fillometrici attraverso una tavoletta digitale collegata ad un computer**
- esiste la possibilità di elaborare i dati fillometrici con sistemi di analisi statistica multivariata**

Fillometria

Ravaz (1902) fu uno dei primi ampelografi a ricorrere alla fillometria:

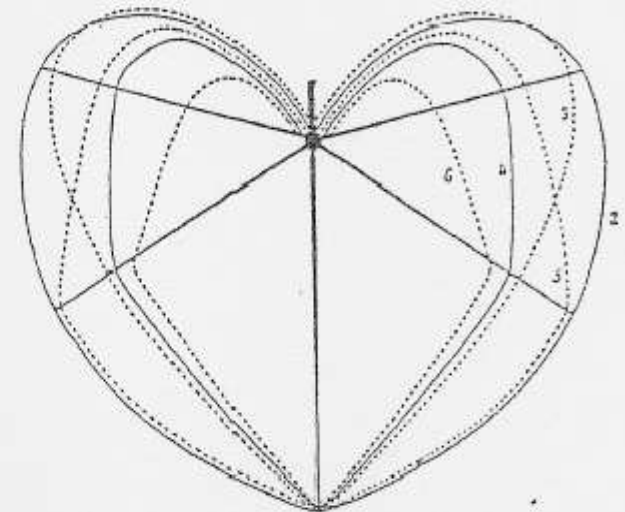
Individuò :

- Rapporti tra misure per superare i limiti della variabilità dimensionale delle foglie.
- Angoli alfa, beta e gamma
- 5 tipologie fogliari sulla base dell'ampiezza angoli alfa e beta e del rapporto tra lunghezze nervature



Feuille

1. réniforme
2. orbiculaire
3. cordiforme
4. cuspidiforme
- 5-6. tronquée



Galet (1952)

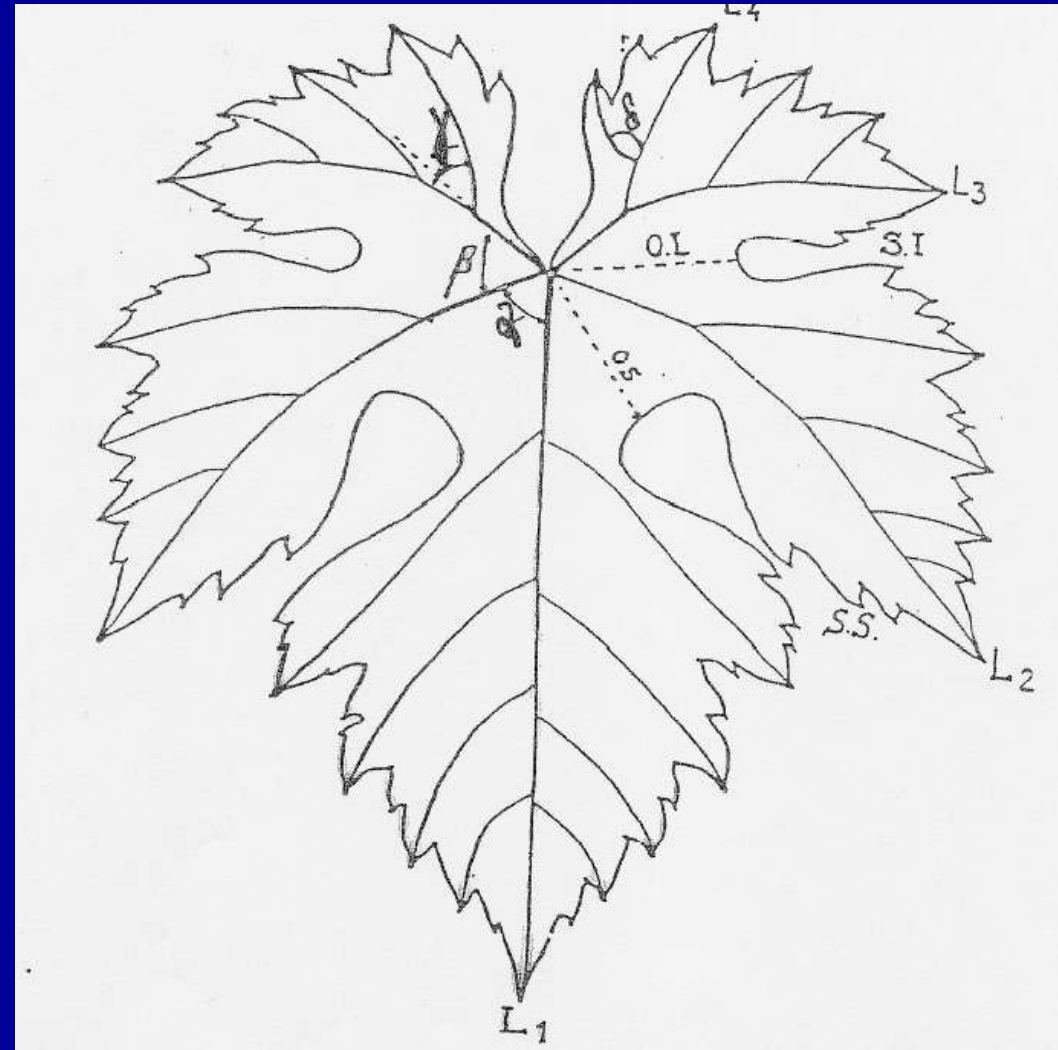
misura delle nervature L2, L3 e L4 e rapporti di queste con la nervatura mediana (L1).
Somma degli angoli $\alpha + \beta$ e $\alpha + \beta + \gamma$.

Rapporto R Lunghezza/larghezza foglia

Utilizzo di codici numerici con trasformazione in classi.

Ogni foglia tipo (media delle 12 foglie misurate) viene ad essere rappresentata da 6 indici o cifre.

Anche se queste procedure sono ormai superate con lo sviluppo dei sistemi informatici, restano un modo valido per riassumere le caratteristiche più salienti della forma fogliare.

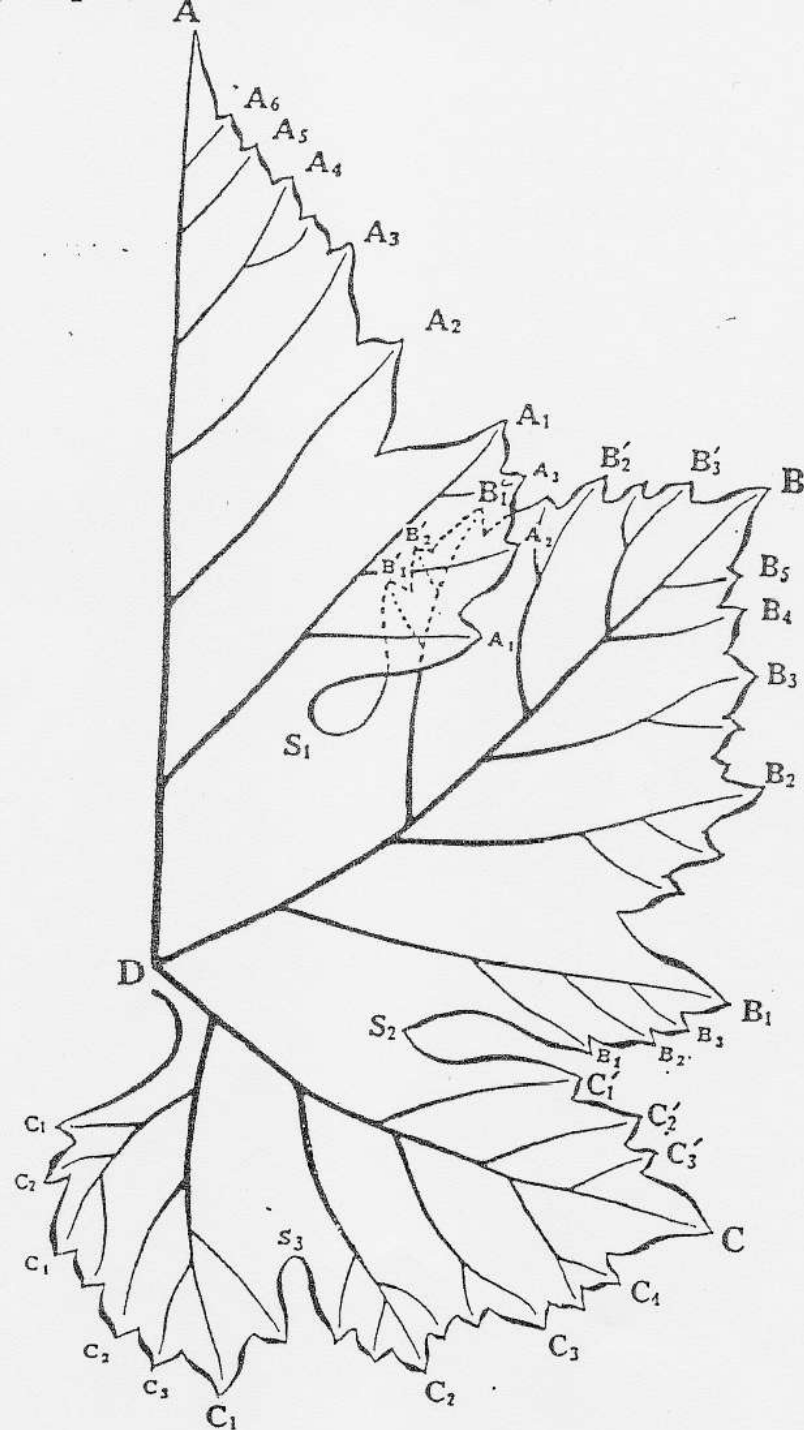


Rodrigues (1952)

cercò di determinare la linea di contorno della foglia e di ottenere valori numerici per elaborarli statisticamente.

misura di 10 foglie simmetriche su carta milimetrata per determinare sull'asse delle ascisse e delle ordinate, 9 punti caratteristici del profilo fogliare.

I valori medi delle dieci foglie rappresentavano i valori della foglia tipo per quella determinata cultivar.



Attualmente la fillometria ha subito un notevole impulso per lo sviluppo di sistemi di computerizzati di archiviazione e di elaborazione dei dati con le tecniche di analisi di statistica multivariata.

Strumenti disponibili per la misurazione dei dati (lunghezze ed ampiezze di angoli) :

righello + goniometro+calibro

PC + tavoletta grafica

PC + videocamera

L'analisi multivariata

Analisi ed interpretazione dei dati

Obiettivo

- Classificare i campioni esaminati formare classi/gruppi (varietà / cloni) sulla base dei dati disponibili.

L'analisi univariata permette di confrontare ed elaborare le singole variabili singolarmente e verificare se ci sono differenze tra i gruppi.

L'analisi multivariata permette di tenere in considerazione *l'effetto*

congiunto delle numerose variabili misurate e quindi è particolarmente adatta per descrivere situazioni complesse come i sistemi biologici.

Per stabilire similitudine o diversità tra uno o più vitigni si può ricorrere alla “cluster analysis” o all'analisi discriminante.

Es. si ha un gruppo di singoli individui che appartengono a diverse cultivar e/o cloni e si vuole verificare come questi individui si raggruppano sulla base di affinità o viceversa come si separano in base a differenze.

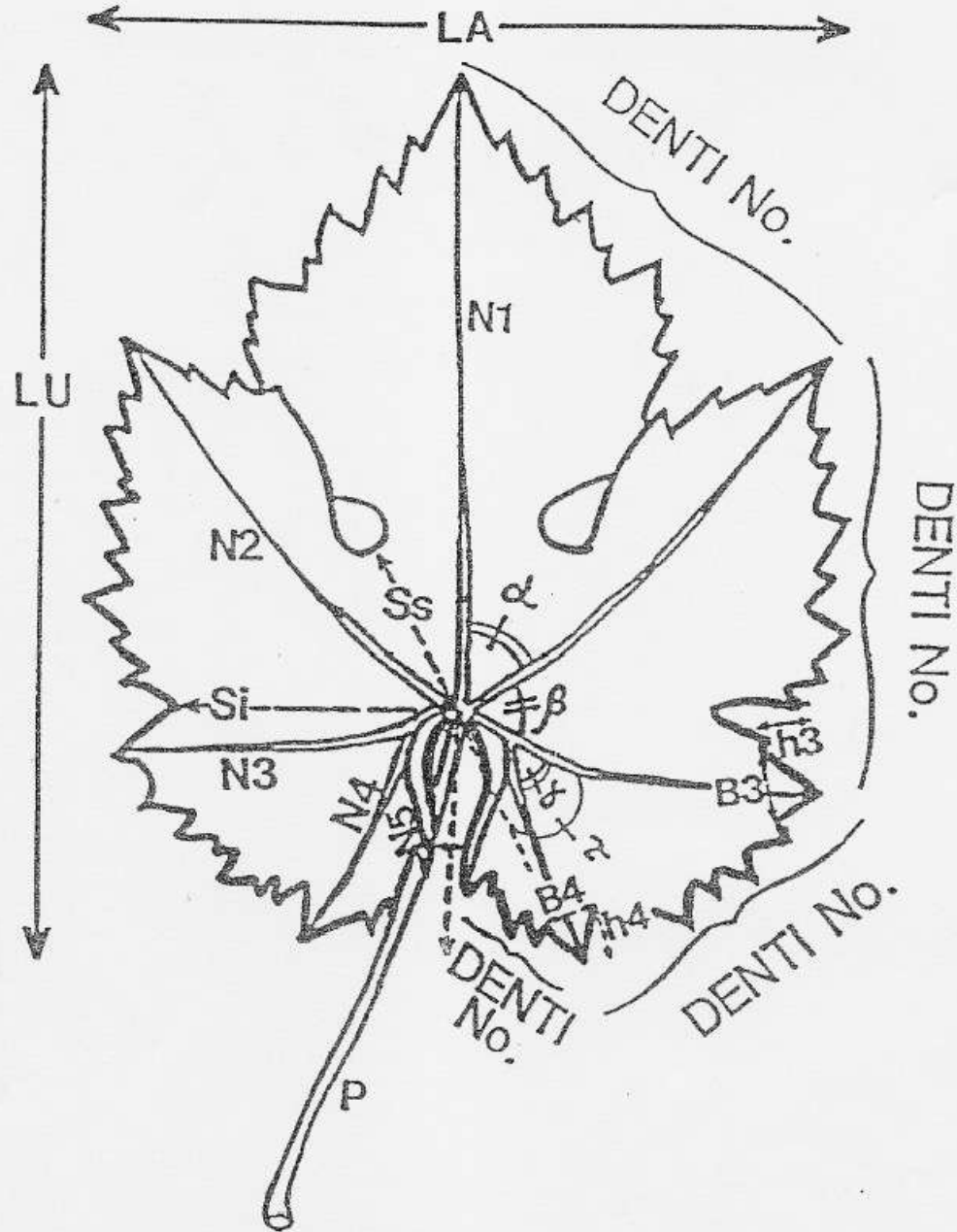


Fig. 1 - Rappresentazione schematica di una foglia in cui sono riportati i caratteri misurati per la valutazione delle divergenze filonali e varietali.

cv. SANGIOVESE

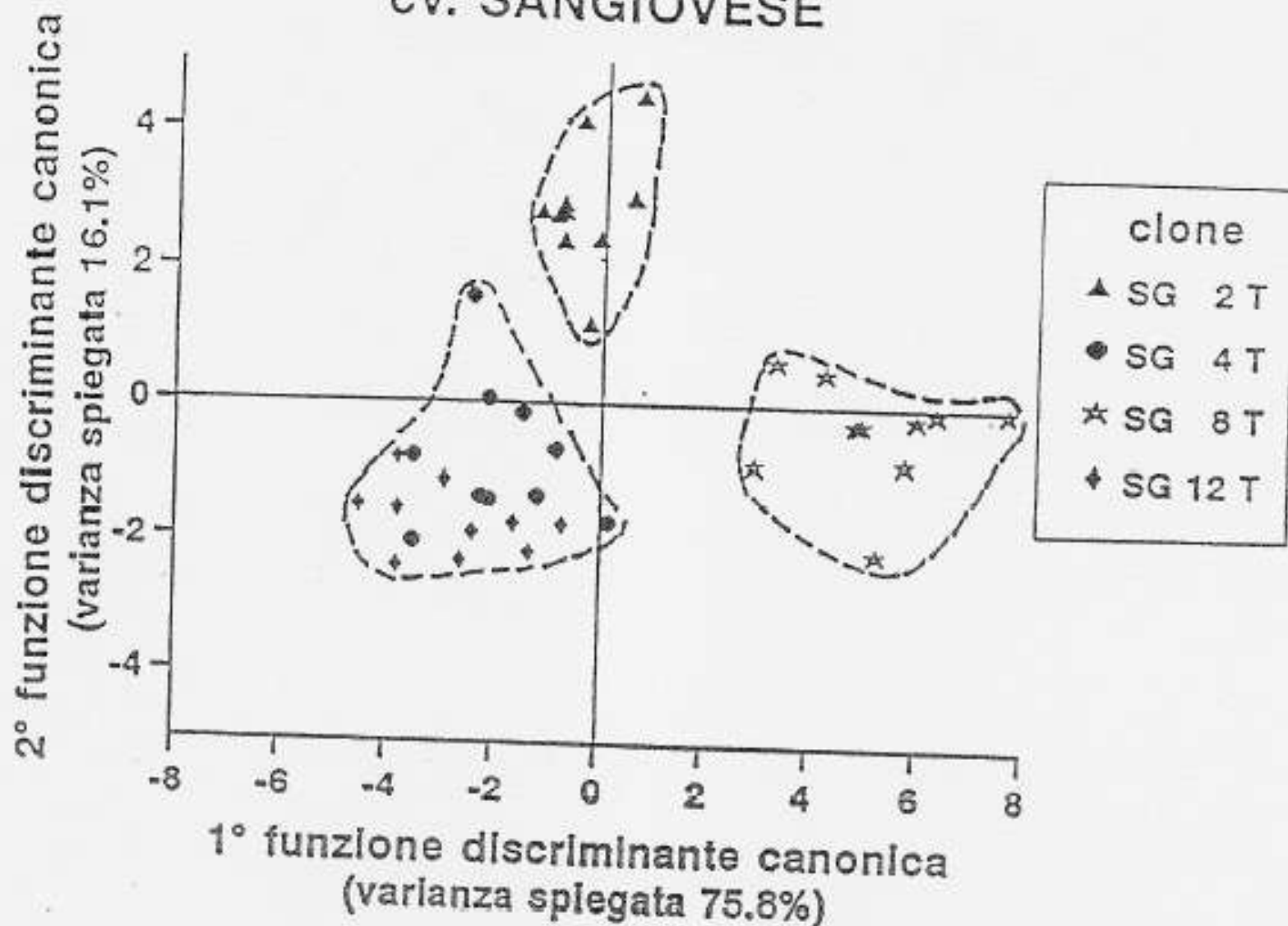


Fig. 4: Distribuzione delle foglie di Sangiovese sul piano definito dalle prime due funzioni discriminanti canoniche, prevedendo il modello di raggruppamento per clone. Nel grafico sono stati posti in evidenza gli insiemi individuati con l'analisi a grappolo.

cv. ALBANA

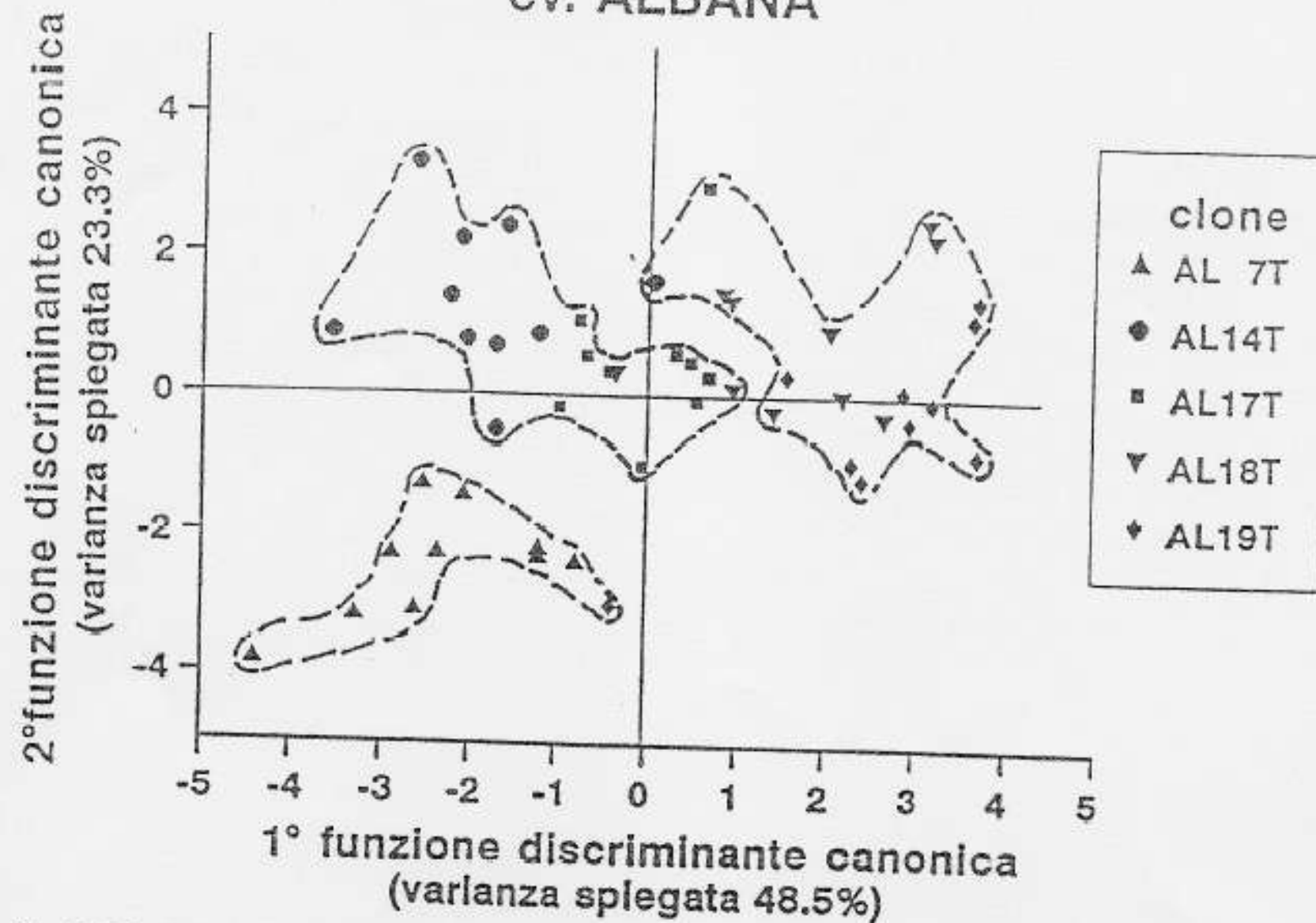


Fig. 3: Distribuzione delle foglie di Albana sul piano definito dalle prime due funzioni discriminanti canoniche, prevedendo il modello di raggruppamento per clone. Nel grafico sono stati posti in evidenza gli insiemi individuati con l'analisi a grappolo.

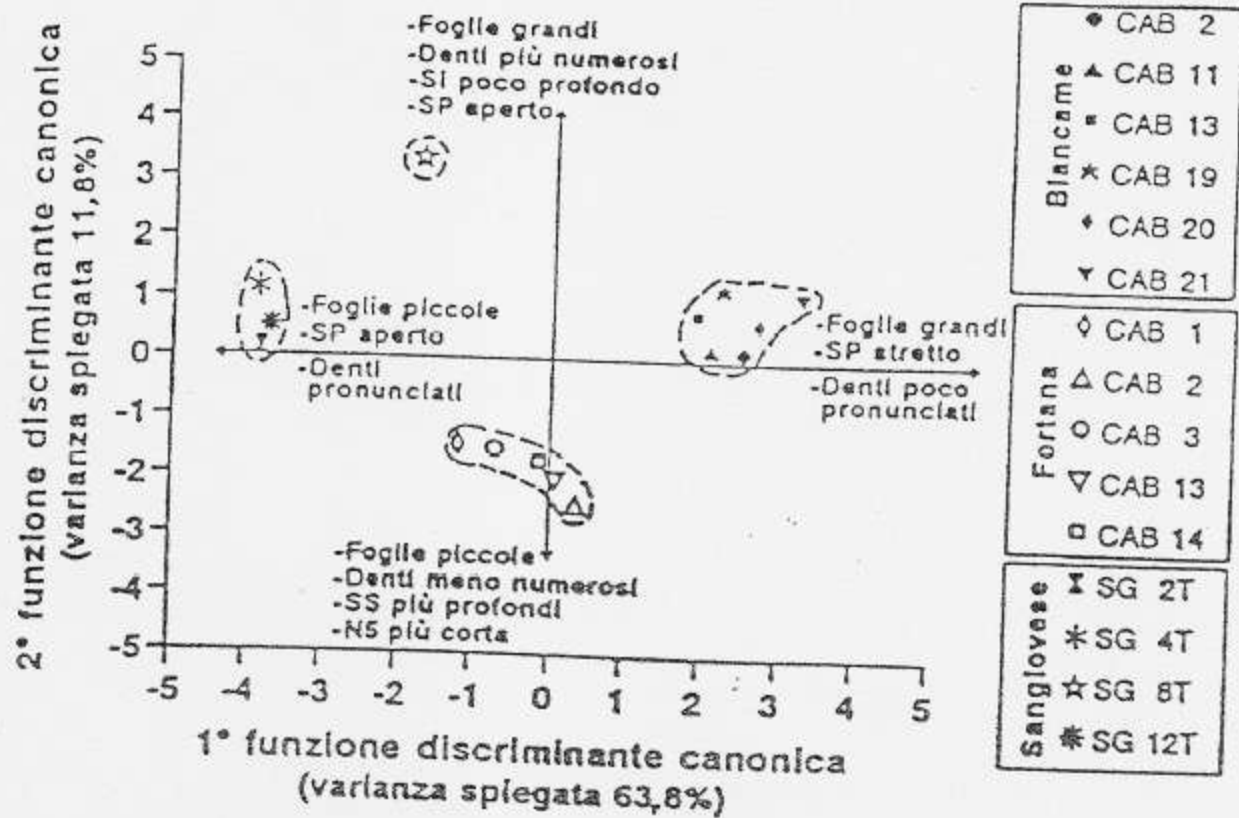
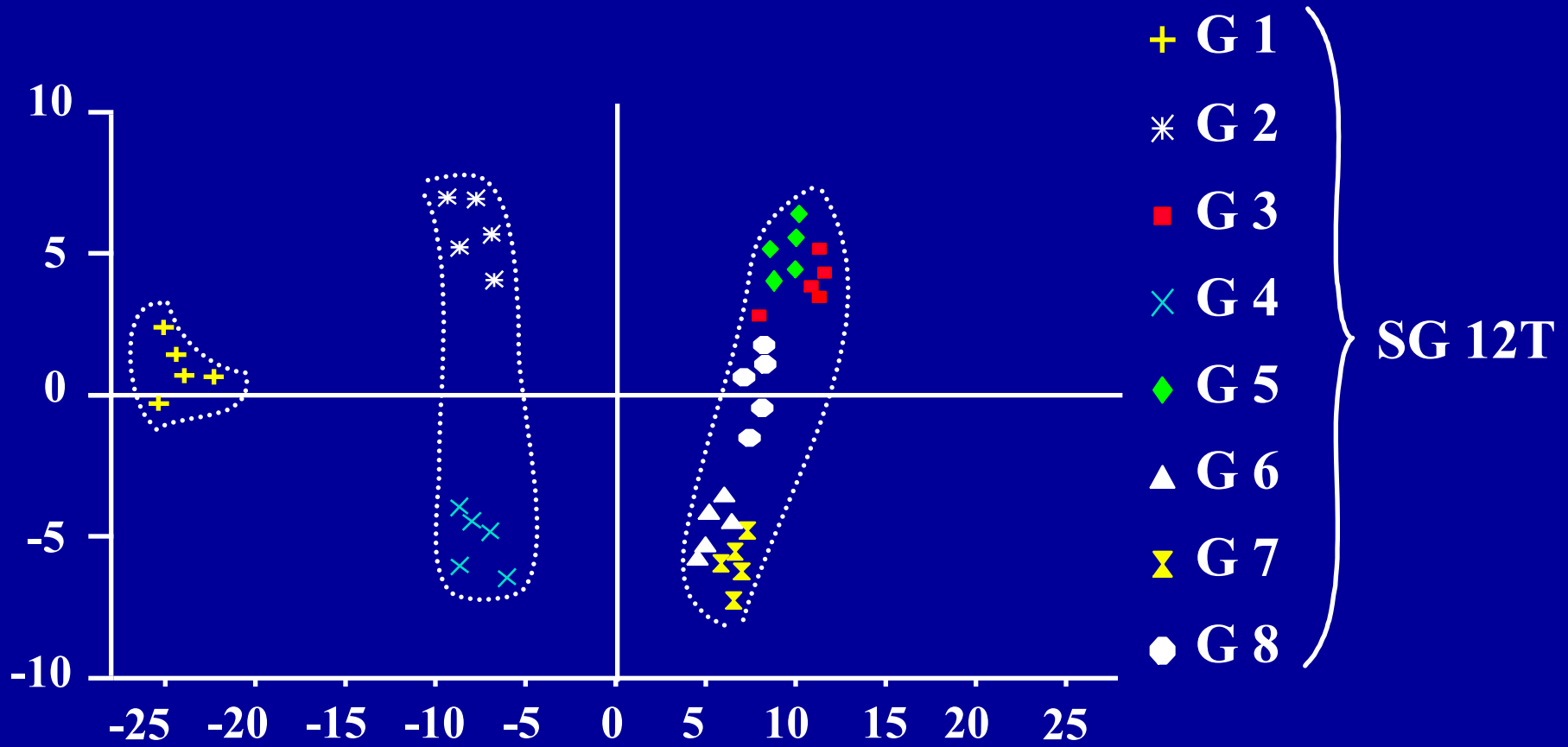


Fig. 6 - Distribuzione dei centroidi dei 15 cloni di Biancame, Fortana e Sangiovese sul piano definito dalle prime due funzioni discriminanti canoniche. Le funzioni sono state calcolate su 24 caratteristiche fillometriche, prevedendo il modello di raggruppamento per clone.

Phyllometric Traits

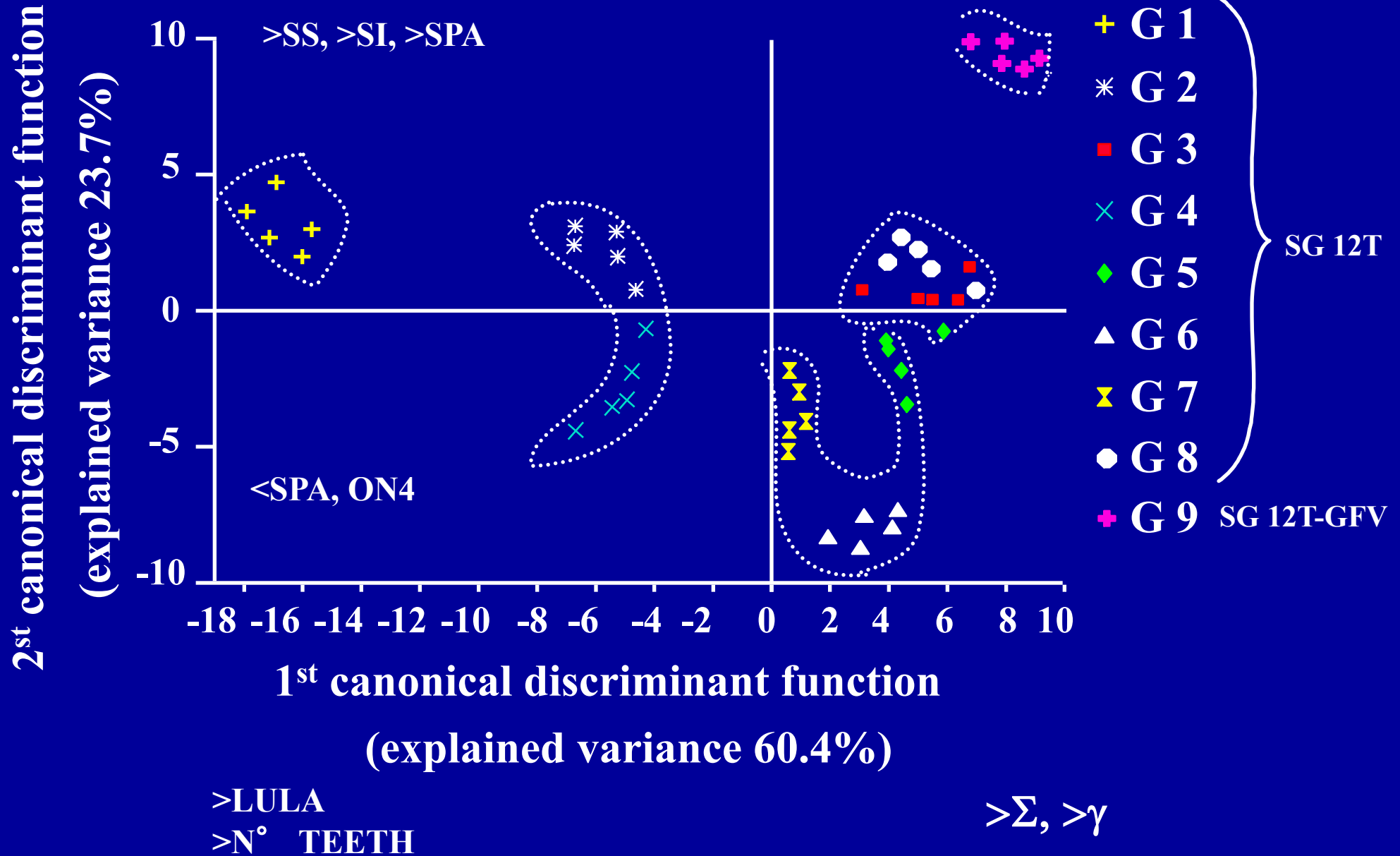
2nd canonical discriminant function
(explained variance 12%)



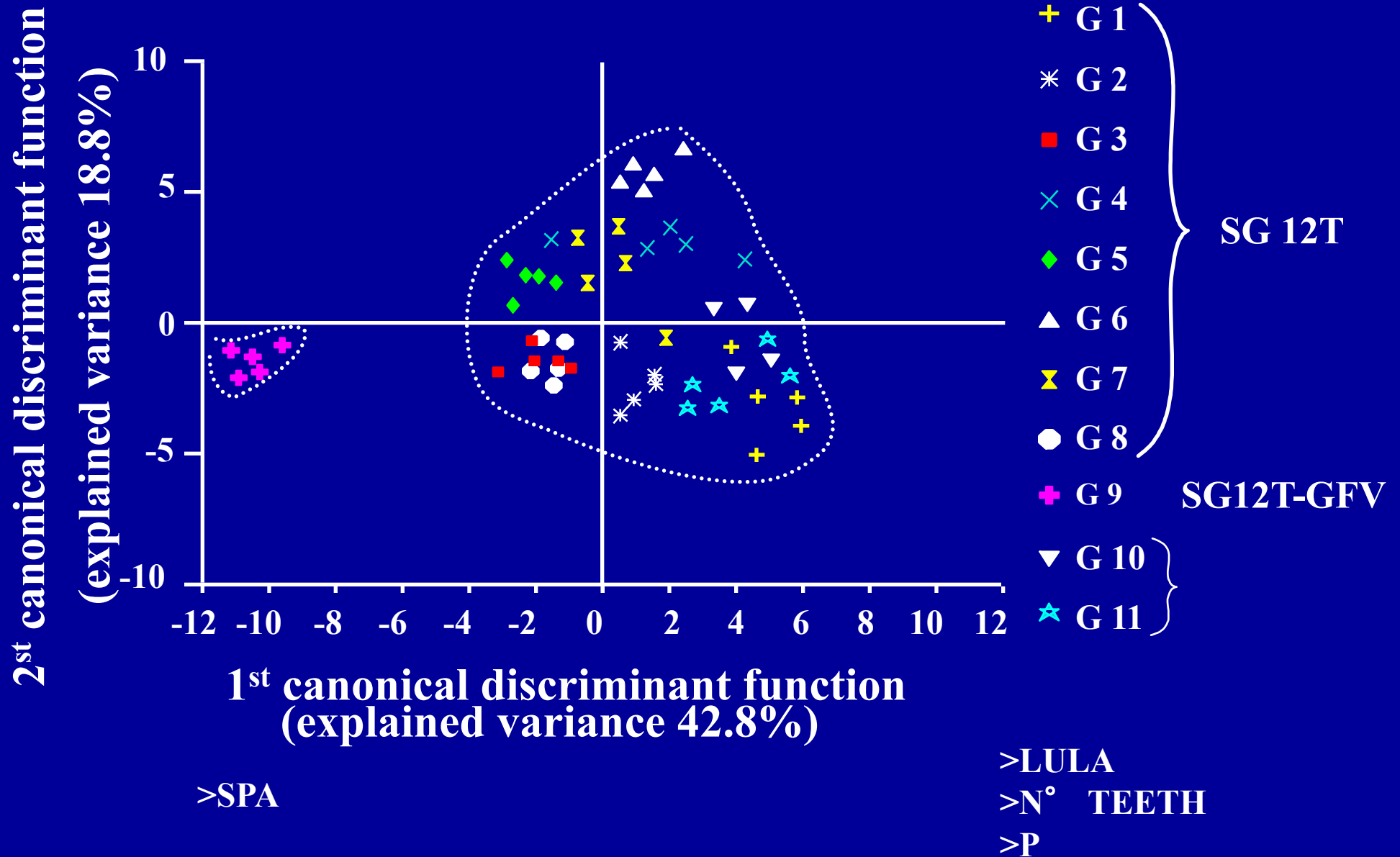
1st canonical discriminant function

(explained variance 75.8%)

Phyllometric Traits



Phyllometric Traits



VANTAGGI E POTENZIALITA' DELLE ANALISI FILLOMETRICHE :

- Rilevare rapidamente molti caratteri
- Avere la possibilità di informatizzare le operazioni di rilevamento delle misure
- Ottenere valori parametrici oggettivi e ripetibili che permettono di codificare le caratteristiche della foglia di una specifica varietà/clone
- Applicare elaborazioni statistiche avanzate
- Ottenere discriminazione tra gruppi.

METODI AMPELOGRAFICI

METODI DESCRITTIVI si basano sulla **descrizione dell'habitus morfologico** della pianta evidenziando i caratteri che la differenziano da piante appartenenti ad un'altra cultivar o specie.

METODI AMPELOMETRICI (o biometrici) si basano sulla misurazione di parametri di alcuni organi della pianta per confrontare le misure registrate con quelle ottenute su altre cultivars o specie. Fillometria :misure relative alle foglie
Carpometria: misure relative ai frutti

METODI BIOCHIMICI si basano sulla determinazione della presenza e della quantità di sostanze contenute nella pianta e la cui biosintesi dipende più o meno direttamente dal genotipo (es. analisi dei sistemi enzimatici)

METODI GENETICI si basano **sull'analisi del genotipo** attraverso tecniche diverse (es. RFLP, RAPDs, Microsatelliti)

METODI BIOCHIMICI o CHEMIOTASSONOMICI

La chemiotassonomia è una disciplina che applica tecniche chimico-analitiche per classificare i taxa.

Le differenze tra le diverse cultivar si possono infatti manifestare oltre che con differenze morfologiche e biometriche, anche a livello di **composizione chimica dei singoli organi**.

Questa disciplina ha avuto notevole sviluppo negli ultimi anni in seguito alla messa a punto di tecniche analitiche sofisticate ed affidabili e in parte automatizzate che possono consentire di eseguire indagini a largo raggio e di produrre ampie banche dati.

Quali sono i composti biochimici analizzati a fini tassonomici nella vite?

a) Metaboliti primari = Composti di natura proteica e quindi espressione diretta del DNA (isoenzimi).

b) Metaboliti secondari = Insieme di composti che non svolgono funzioni dirette nel metabolismo delle piante, cioè non sembrano essenziali per la vita delle cellule dei diversi tessuti pur apparendo comunque importanti per le funzioni dei tessuti stessi.

A prescindere dalla loro validità nel settore della discriminazione varietale questi metaboliti assumono grande importanza per la **valutazione delle attitudini tecnologiche** delle uve.

analisi dei metaboliti primari: isoenzimi

Sono definiti metaboliti primari perchè sono prodotti del DNA di natura proteica e come tali diretta espressione del genotipo

Sono **forme molecolari diverse di uno stesso enzima, che catalizzano la stessa reazione biochimica.**

Tali forme molecolari diverse possono presentare una diversa carica elettrica netta e quindi possono essere separate ed evidenziate per via elettroforetica (molecole con diverso peso molecolare e con diversa carica elettrica netta sottoposte ad un campo elettrico, si muovono con velocità diverse)

Polimorfismo isoenzimatico

cultivar A

b



a
locus
PGM -1

cultivar B

a

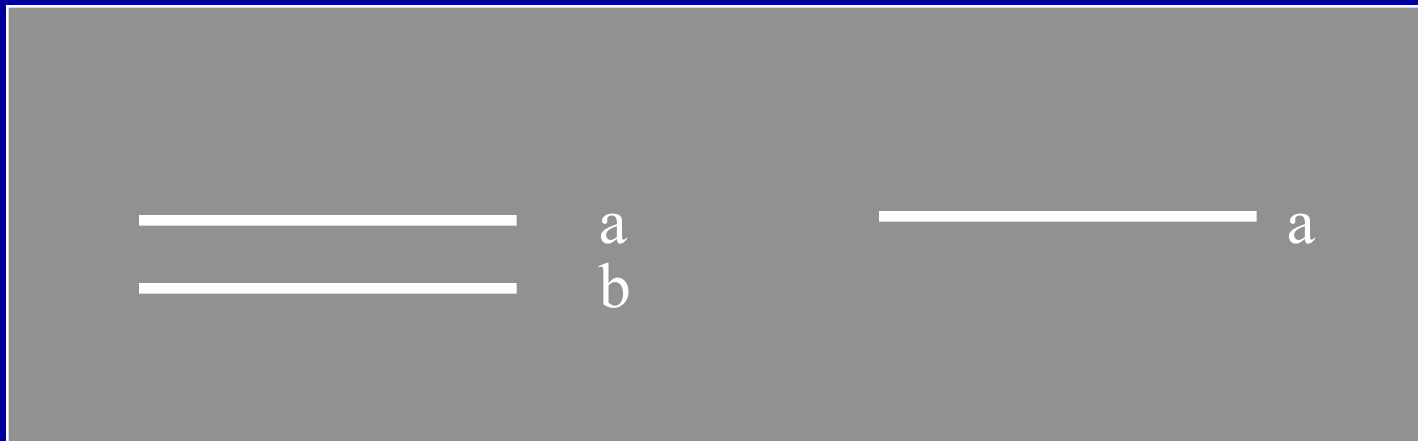


a
locus
PGM -1

separazione elettroforetica
degli enzimi e colorazione

+
eterozigote

PGM -1



omozigote

L'elettroforesi di enzimi estratti da vari organi della pianta (foglie, bucce, parete del polline...), permette di evidenziare bande isoenzimatiche specifiche per specie e per cultivar e di fornire indicazioni utili alla classificazione e al riconoscimento varietale.

Analisi degli isoenzimi:

- 1) Estrazione degli enzimi: effettuata su materiale vegetale (foglie)**
- 2) Separazione degli enzimi con elettroforesi, cioè migrazione in campo elettrico di molecole dotate di carica elettrica e poste su un idoneo substrato (es. gel di amido) che si muovono verso l'elettrodo di segno opposto alla loro carica e che permette la separazione delle stesse.**
- 3) Colorazione specifica dell'enzima che si vuole evidenziare con sostanze cromogene che reagiscono con le proteine stesse evidenziandole sotto forma di bande (pattern o profilo isoenzimatico).**
- 4) Interpretazione dei risultati consiste nel confrontare i pattern isoenzimatici dei genotipi in esame e stabilisce la presenza o meno di differenze tra le entità medesime.**

Profili isoenzimatici diversi indicano una differenza dei genotipi a confronto

Profili isoenzimatici identici non indicano una identità tra i genotipi a confronto.

Nella vite sono stati individuati circa una quarantina di sistemi isoenzimatici ma solo 2 vengono utilizzati perchè presentano caratteristiche di stabilità:

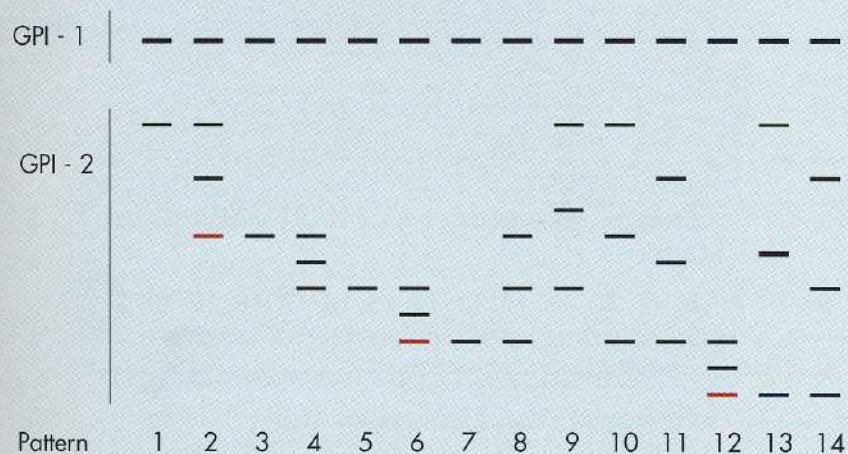
GPI glucoso fosfato isomerasi (enzima che catalizza la reazione da Glucosio 6P al fruttosio 6P) 2 loci con 14 pattern diversi

PGM fosfo gluco mutasi (enzima che catalizza la reazione da glucosio 1P a glucosio 6P) 2 loci con 22 pattern diversi

Le analisi con questi due sistemi possono rappresentare un contributo importante all'identificazione dei vitigni in quanto, anche se non consentono di caratterizzare univocamente tutte le diverse varietà, permettono di raggruppare le varietà coltivate in insiemi che condividono gli stessi pattern isoenzimatici. Ciò consente di avere una indicazione di massima che aiuta il lavoro di identificazione, tanto che entreranno tra i caratteri previsti dalle schede OIV.

Carattere:

Sistema isoenzimatico: GPI (Glucose Phosphate Isomerase)



Varietà di riferimento:

- | | |
|--------------------------------|-------------------------------------|
| 1. Furmint B | 8. Teroldego N, Brachetto N, Tannat |
| 2. Cabernet franc N | 9. Syrah noir N |
| 3. Tempranillo N | 10. Cinsaut N |
| 4. Grenache noir N | 11. Catawba |
| 5. Chardonnay B | 12. 420 A, 34 E. M. |
| 6. Sauvignon B | 13. Fercal |
| 7. Kober 5BB, Rupestris du Lot | 14. Violla |

Definizioni:

L'analisi isoenzimatica viene realizzata utilizzando campioni di foglie e gel d'amido di patata come supporto per l'elettroforesi.

Fig. 3 - Pattern del sistema GPI (da scheda OIV, 1996)

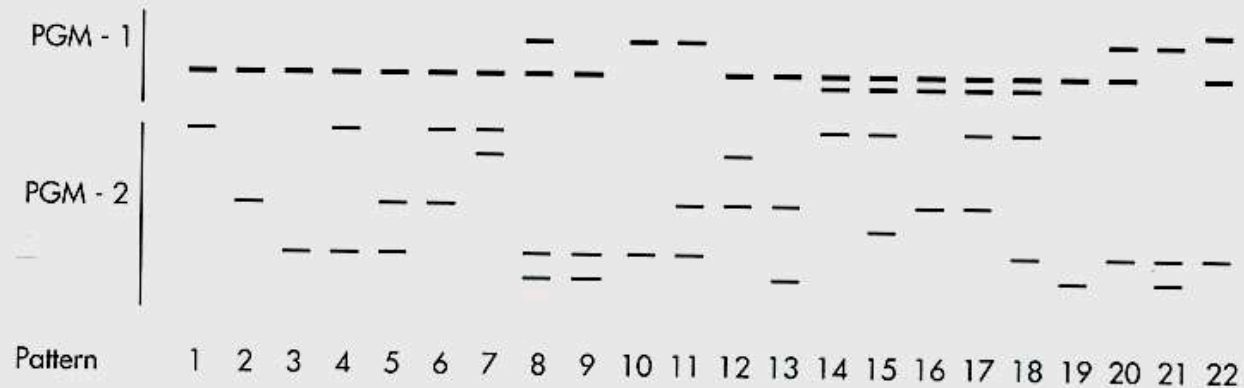
CODES N° OIV 702

UPOV

IBPGR

Carattere:

Sistema isoenzimatico: PGM (Phospho Gluco+Mutase)



Varietà di esempio:

- | | | |
|---|---------------------------------|---|
| 1 - Chardonnay B, Muscat a petit grains B | 9 - S.O.4 | 17 - Müller Thurgau B, Gewurztraminer R |
| 2 - Cabernet franc N | 10 - 101 - 14, Rupestris du Lot | 18 - Geisenheim 26 G |
| 3 - Kober 5 BB, Italia B | 11 - Herman Goethe | 19 - 34 E.M. |
| 4 - Alphonse Lavallée N., Clairette B | 12 - Grenache N, Dolcetto N | 20 - 779 Paulsen, 57 Richter |
| 5 - Malvasia di Candia B | 13 - Lake Emerald | 21 - Violla |
| 6 - Sauvignon B, Merlot N | 14 - Ugni blanc B | 22 - 1103 Paulsen, 140 Ruggeri |
| 7 - Malvasia istriana B | 15 - Corvina veronese N | |
| 8 - 3309 Couderc | 16 - Incrocio Manzoni 6.0.13 B | |

Definizioni:

L'analisi isoenzimatica viene realizzata utilizzando campioni di foglie e gel d'amido di patata come supporto per l'elettroforesi

Fig. 4 - Pattern del sistema PGM (da scheda OIV, 1996)

Caratteristiche dei marcatori isoenzimatici per l'identificazione varietale in viticoltura:

+ metodologia relativamente semplice e poco costosa

+ ereditabilità di tipo codominante

- disponibilità di uno scarso numero di sistemi enzimatici polimorfici (GPI glucosio fosfato isomerasi e PGM fosfo glucomutasi non sono sufficienti per discriminare una varietà)

- numerosi sistemi enzimatici presentano scarsa stabilità durante il ciclo vegetativo

a) Analisi di metaboliti secondari

Tra i composti di questo gruppo più utilizzati a fini tassonomici :

- **Polifenoli**

- **Composti aromatici**

- **Polifenoli**

I polifenoli rappresentano un gruppo di composti caratterizzati dalla formula generale $Ar(OH)_n$ (cioè da un anello aromatico con gruppi ossidrili variamente legati).

La prima suddivisione in due categorie

a) flavonoidi

b) non flavonoidi

a) flavonoidi

gruppo di composti fenolici tipicamente più rappresentati nelle uve a bacca nera, che si differenziano in relazione al grado di ossidazione. Tra le categorie più interessanti:

- ◆ **catechine** (catechine monomere quali epicatechina, gallocatechina, ecc.).
- ◆ **proantocianidine e leucoantocianidoli** (composti polimeri costituiti da due o più unità riunite fra loro da legami C-C. Quando raggiungono notevoli grandezze molecolari costituiscono i tannini).
- ◆ **flavonoli (o flavoni)** (composti contenuti nelle uve in piccola quantità - maggiori nelle uve a bacca nera, es. quercitina 3-glucoside, campferolo 3-glucoside)

◆ antocianine (o antociani)

b) non flavonoidi

gruppo di composti fenolici a struttura diversa, tipicamente prevalenti nei vini bianchi, ma presenti sia nelle uve a bacca bianca che in quelle a bacca nera.

◆ acidi fenolici; tra questi sono quantitativamente più importanti gli **acidi idrossicinnamici** (es. acido caffeico, acido cafterico, ecc.):

◆ **resveratrolo**

Analisi cromatografica

L'utilizzo dei composti fenolici a fini tassonomici è relativamente recente (risale agli anni '50) collegata **all'analisi cromatografica**.

In tempi più recenti il settore si è sviluppato grazie all'applicazione della tecnica analitica della cromatografia liquida ad alta prestazione (H.P.L.C.) che fornisce la possibilità di rilevare differenze qualitative e quantitative dei diversi composti fenolici tra specie e varietà diverse.

In particolare sono stati studiati:

◆ *antocianine* (o *antociani*)

Le analisi delle *antocianine*, famiglia di pigmenti responsabili del colore delle uve rosse, rappresentano una delle applicazioni più interessanti della chemiotassonomia della vite.

Tali composti sono sempre presenti come glucosidi di diversi zuccheri e con differenti gradi di glucosidazione.

- La prima applicazione dell'analisi di questi composti nella tassonomia della vite è dovuta a Ribereau-Gayon che, negli anni '50, dimostrò la diversa natura dei pigmenti antocianici della *Vitis vinifera* rispetto alle non-vinifera, con un criterio qualitativo basato sulla presenza/assenza della famiglia degli antociani-3,5-diguclosidi.

Vitis vinifera = antocianine-3-monoglucosidi, cioè hanno legata una molecola di zucchero;

Altre specie *Vitis* = antocianine 3,5-diglucosidi cioè hanno due molecole di zucchero legate ad ogni molecola;

Su questa base vi è la possibilità di differenziare i vini rossi prodotti da *V. vinifera* da quelli prodotti da *Viti* di specie americane.

Per quanto riguarda gli ibridi si deve però ricordare che il carattere diglucoside di *V. Riparia* e *V. rupestris* è dominante sul monoglucoside di *V. vinifera*:

Gli F1, saranno tutti caratterizzati da antociani diglucosidi mentre se si prosegue con l'incrocio F1xF1, si avrà in F2 (per il principio della segregazione di Mendel) la presenza di individui con il carattere recessivo monoglucoside.

Nella pratica quindi questa analisi permette di affermare che se sono presenti antociani diglucosidi, non si tratta di *V. vinifera*, mentre se questi sono assenti non è certo che si tratti di *Vinifera*.

Questa tecnica di discriminazione tra *V. vinifera* e altre *Vitis* è comunque uno degli aspetti più importanti in quanto **la commercializzazione dei vini contenenti diglucosidi è vietata.**

Nel complesso nel genere *Vitis* sono presenti 5 antocianidine (5 pigmenti diversi):

delfidina, cianidina, petunidina, peonidina e malvidina.

Su base teorica quindi la presenza di un così elevato numero di pigmenti antocianici fornisce un set di parametri che può servire a distinguere le diverse specie e varietà in base al profilo antocianico.

Applicazione delle analisi delle antocianine nella discriminazione delle varietà di *V. vinifera*

Con la messa a punto della cromatografia HPLC sono stati valutati il contenuto qualitativo e quantitativo in antociani di molte varietà di *V. vinifera* per ciascuna delle quali sono stati prodotti i profili antocianici o cromatogrammi.

Le differenze tra i vitigni sono generalmente di ordine quantitativo e quindi è importante valutare le indicazioni ottenute in modo da individuare gruppi di varietà con similitudini nel profilo antocianico. Il metodo per discriminare le varietà prevede l'utilizzo di elaborazioni statistiche multivariate dei dati del profilo antocianico.

Es.
analizzando
120 varietà di
riferimento di *V.
vinifera* si sono
ottenuti 9
gruppi.

Gruppo 1: Pinot nero, Pinot grigio, Pinot*DeKrot, Pinot tete de negre.

Gruppo 2: Ancellotta, Barbera, Bombino, Braubana, Cabernet franc, Cabernet sauvignon, Cabrusina, Codelonghe, Colorino pisano, Croatina, Fortana, Fumat, Fumin, Givan, Lagrein, Lambrusco di Sorbara, Lambrusco grasparossa, Lambrusco maestri, Lambrusco salamino, Malbo gentile, Malvasia di Casorzo, Malvasia nera di Lecce, Malvasia nera di Pisa, Mariabino, Marzemino, Merlot, Negrat, Nera grossa, Petit Verdot, Refoscone, Ribolla nera, Teroldego, Vien de nus.

Gruppo 3: Aleatico, Bonamico, Burghisana, Canaiolo, Cesanese comune, Ciliegilo, Colorino, Corvina, Fortana nera (Brugnola), Gamay, Grillone, Kolor, Lambrusco di Alessandria, Lambrusco marani, Moscato violetto, Mourverde, Negrara, Neyret, Pomela schiava, Rafosal, Rondinella, Rossara, Uvarosa.

Gruppo 4: Aglianico, Albanina, Aramon, Balsamina, Cenena, Cornacchia, Gropello ruberti, Malbech, Negretto, Pavana, Schiava lombarda, Syrah, Tosca, Turca, Incrocio Bruni 147.

Gruppo 5: Bonarda, Brugnola, Casetta, Corvino, Cuneute, Denela, Dindarella, Forgiarin, Jogodinka, Lambrusco oliva, Molinara, Oseleta, Pelara, Picolit nero, Pignul, Quaiara, Rosetta di montagna, Rossiola, Simesara, Sangiovese (Brunello), Sangiovese (Prugnolo), Sangiovese (Chianti g.n), Sangiovese (Chianti p.), Uva d'oro, Vercluna.

Gruppo 6: Cianorie, Colorino di Lucca, Foglia frastagliata, Forselina, Gropello, Malvasia nera di Brindisi, Rossignola.

Gruppo 7: Dekrot, Tocai rosa.

Gruppo 8: Mammolo pisano, Moscato d'Adda, Moscato rosa, Muscat rouge, Nebbiolo, Schiava gentile, Schiava grossa, Trollinger.

Gruppo 9: Tenerone.

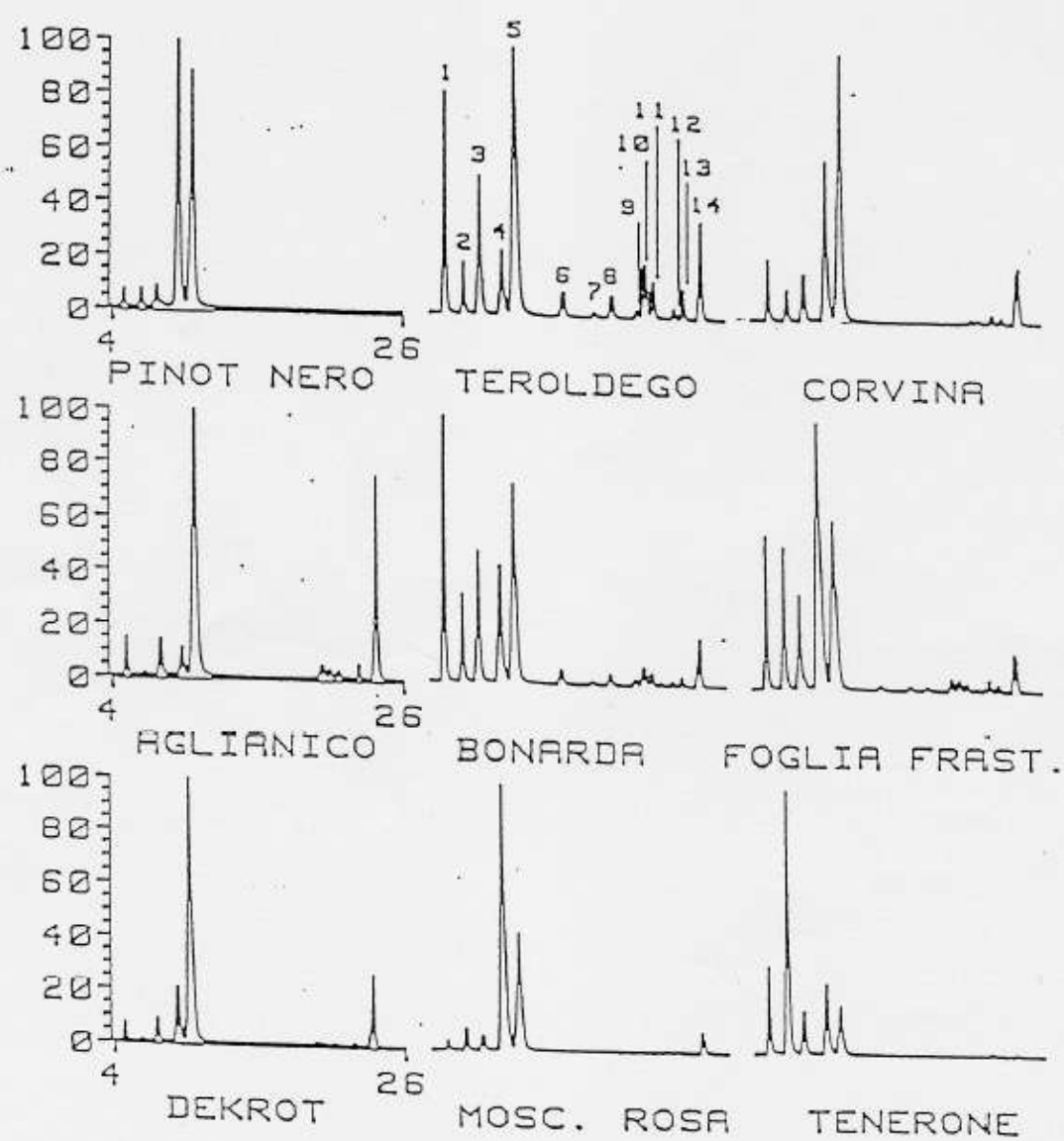
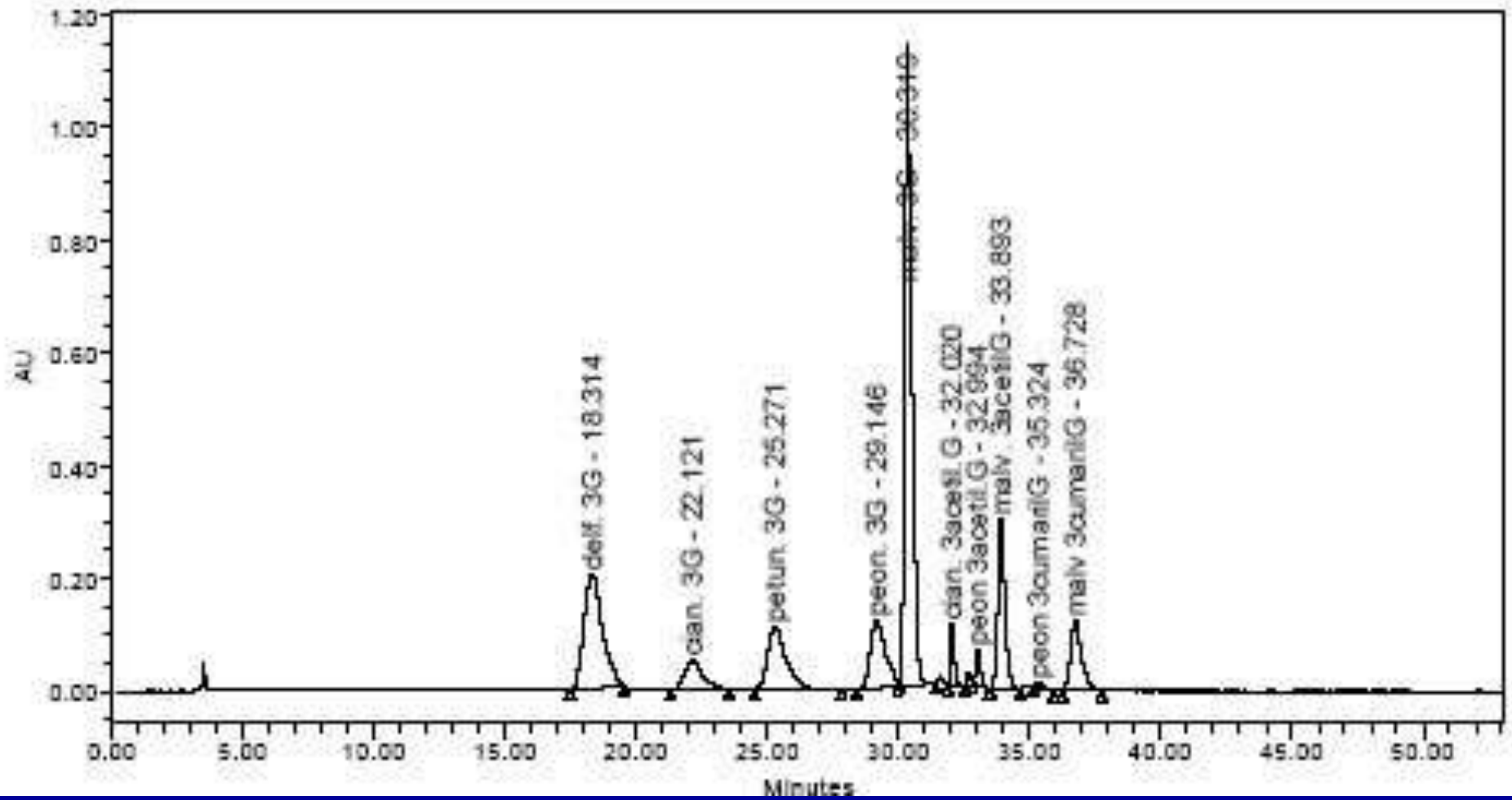
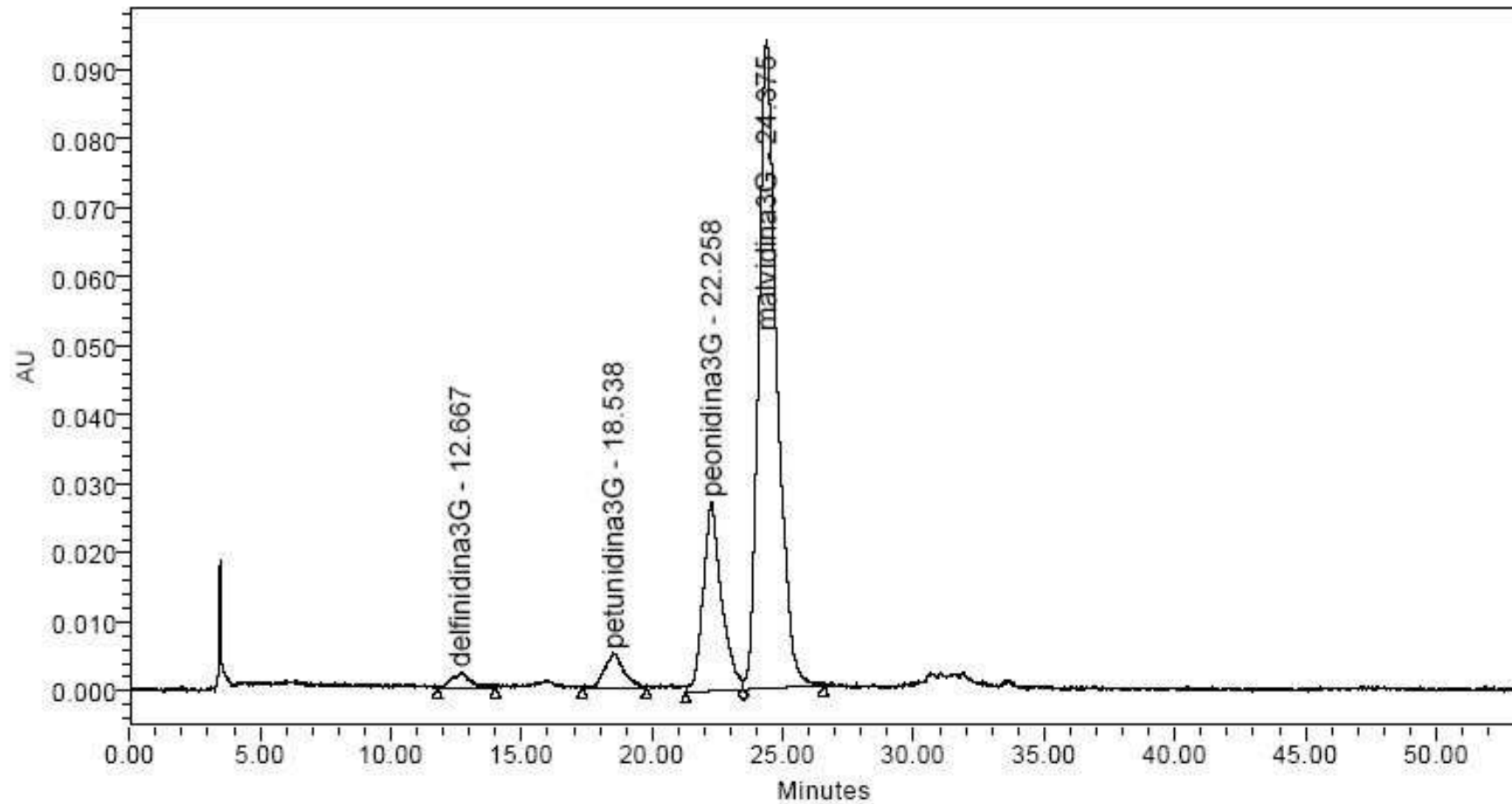


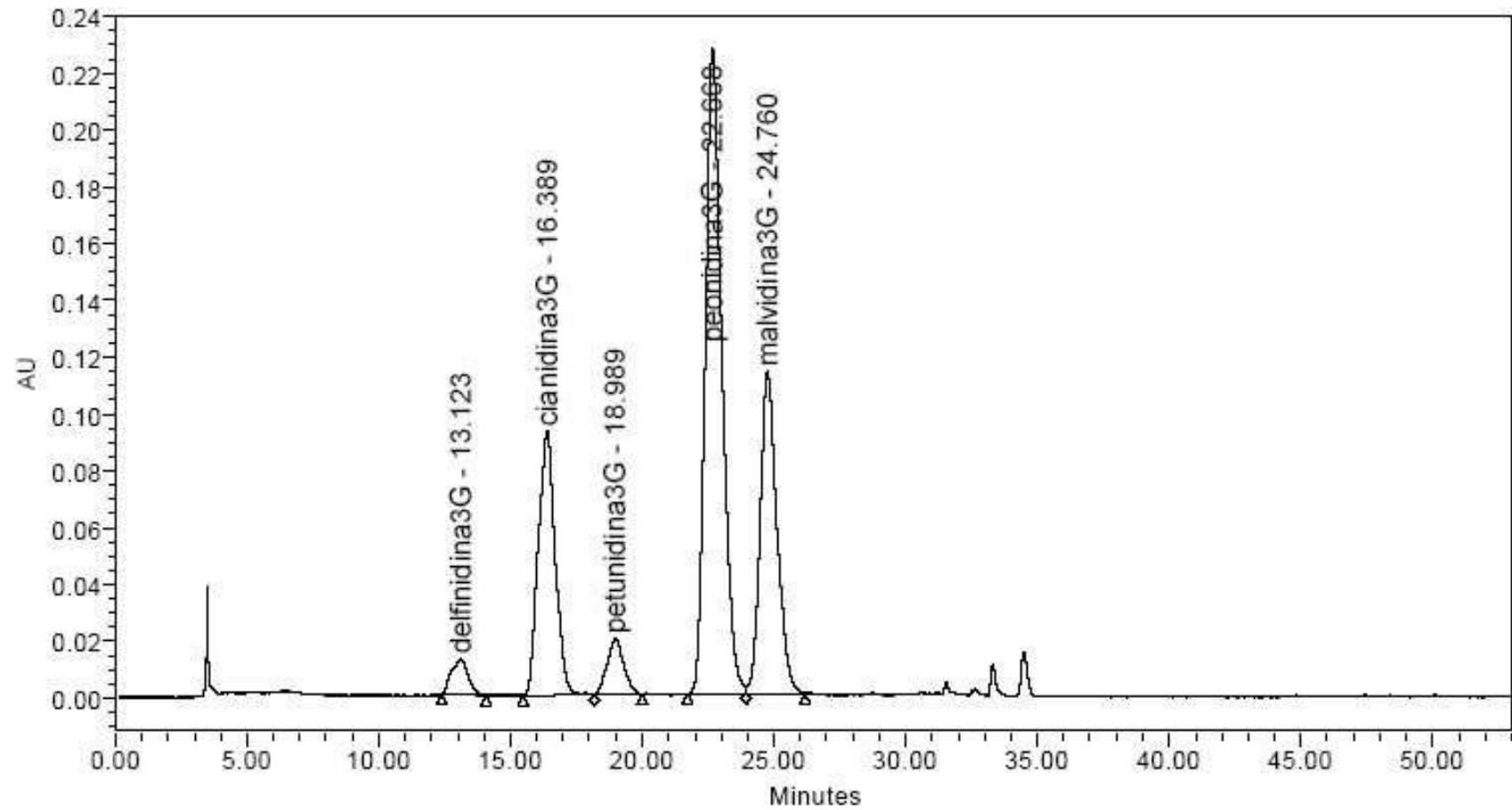
Fig. 14 - Profili cromatografici delle antocianine estratte dalla buccia di alcune cultivar. Sull'asse delle ascisse è riportato il tempo in minuti. 1) Delfinidina; 2) Cianidina; 3) Petunidina; 4) Peonidina; 5) Malvidina; 6-10) Acetati; 11-14) Cumarati (da Mattivi *et al.*, 1990).



Cabernet sauvignon



Pinot grigio



Sangiovese

Limiti dell'applicazione delle analisi delle antocianine nella discriminazione delle varietà di *V. vinifera*

Il problema fondamentale per l'utilizzo di queste analisi in tassonomia è che pur se oggi è generalmente ritenuto che la sintesi degli antociani sia geneticamente determinata a livello di cultivar,

esiste una notevole variabilità del profilo in funzione dei parametri ambientali, colturali, dell'annata e dell'epoca di raccolta.

Composti aromatici

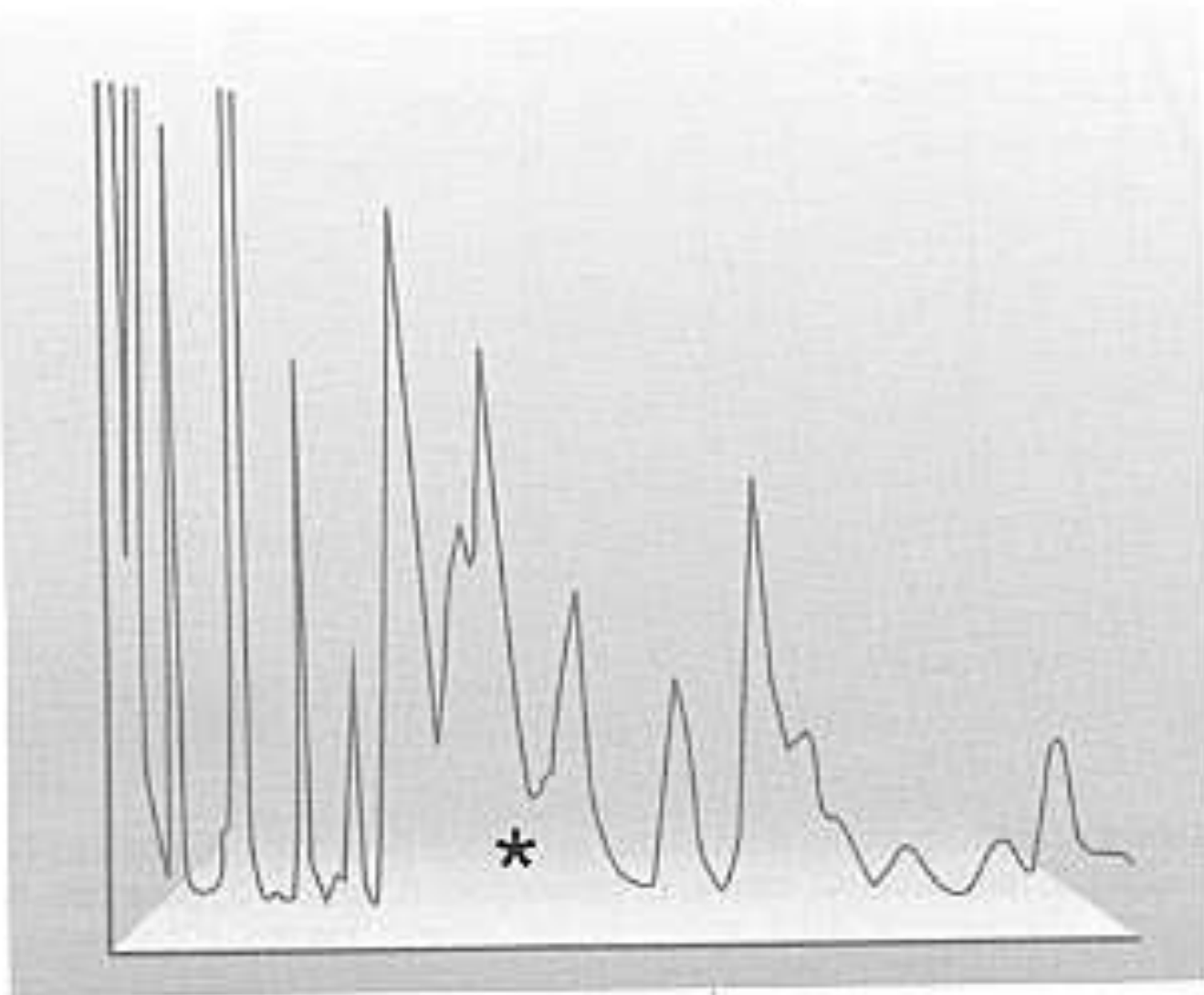
Gli aromi potenziali dell'uva sono numerosissimi e di matrice chimica molto diversa tra loro: es. alcoli, acidi carbossilico, esteri, acidi fenolici e un gruppo fondamentale costituito dai **terpeni**.

Ad iniziare dagli anni '90 sono iniziate le indagini sui composti correlati con l'aroma delle uve e dei vini (in particolare sui terpeni) anche perché ritenuti composti fondamentali per la qualità.

Per quanto riguarda l'origine, gli aromi si possono classificare in:

- **Aromi primari o varietali**, cioè tipici dell'uva, rivestono interesse per la identificazione varietale. Sono tipici delle uve aromatiche (moscati, malvasie)
- **Aromi pre-fermentativi** (si formano in seguito all'attività enzimatica endogena ed ai fenomeni ossidativi e sono poco legati al genotipo).
- **Aromi fermentativi** (si formano nel corso della fermentazione alcolica e malolattica e sono costituiti soprattutto da alcoli superiori e ed esteri. Mediante analisi statistica multivariata della composizione aromatica dei vini è stato possibile fare raggruppamenti corrispondenti ai diversi vitigni e alle diverse aree di provenienza.
- **Aromi post-fermentativi** che si formano nel corso della conservazione o dell'invecchiamento dei vini: generalmente la loro genesi è complessa e l'incidenza di numerosi fattori maschera l'impronta varietale più ancora di quanto non accada per effetto della fermentazione (hanno minore interesse ampelografico).

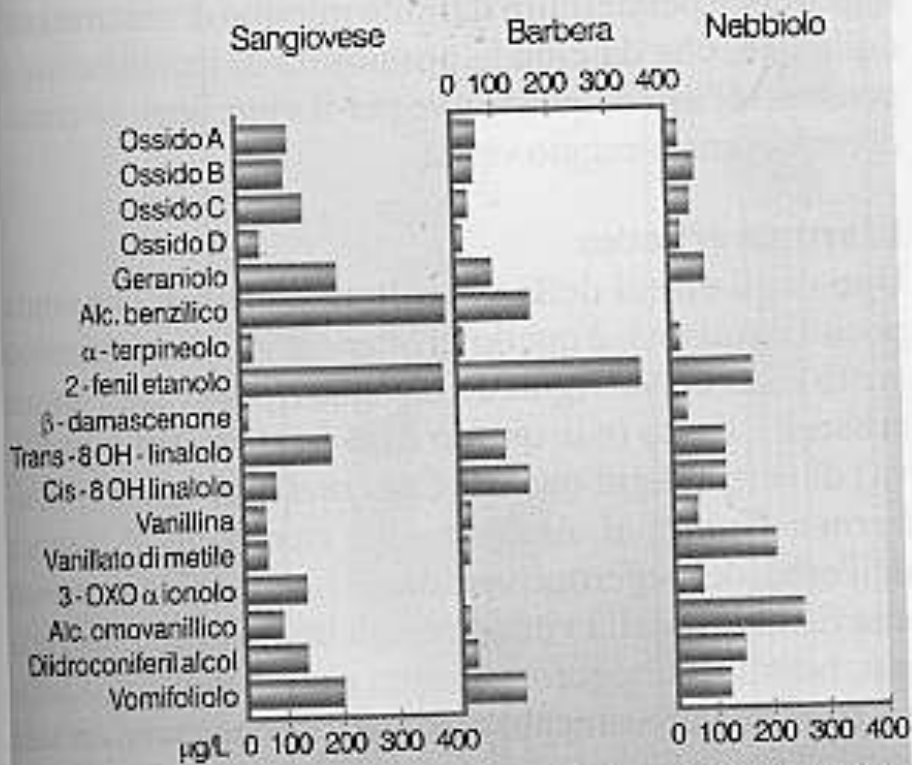
- **Il fatto che i mosti e i vini si differenzino per sostanze volatili che provengono dall'uva, ha consentito di caratterizzare alcuni vini diversi mediante aromagrammi ottenuti dalla gascromatografia**
- **(A. Rapp et al., 1978 e 1985; Di Stefano et al., 1995).**
-



Profilo aromatico del Cabernet Sauvignon, vitigno nel quale hanno importanza anche i microaromi: l'asterisco indica la frazione odorante caratteristica (da Cordonnier e Bayonove, 1979).

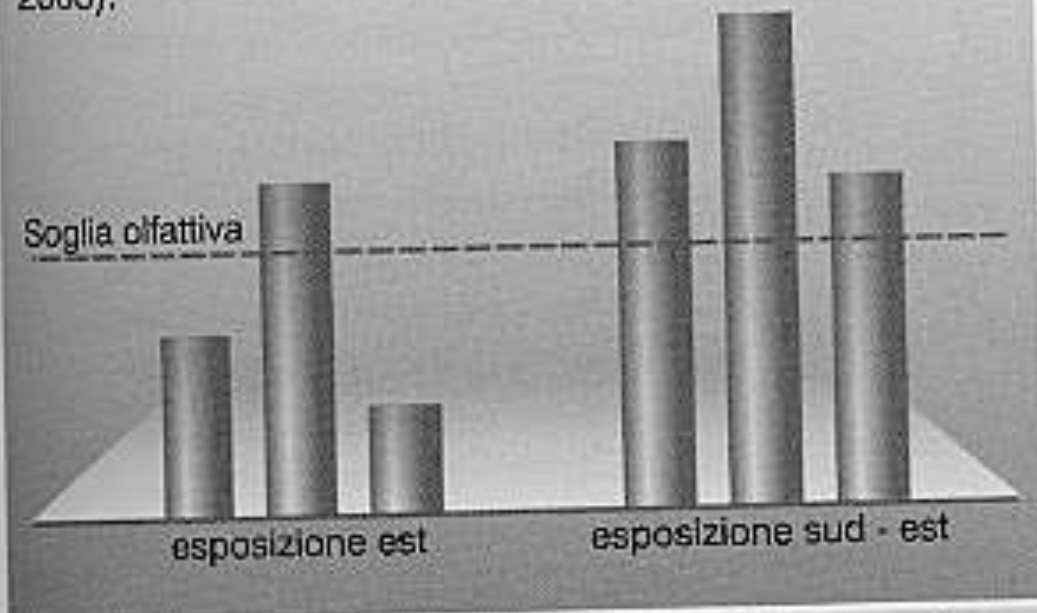
3-metossi-2-isobutilpirazina

Confronto del contenuto di alcuni aromi e precursori di aromi nelle uve di tre varietà a sapore semplice



Le varietà presentano alcuni rapporti caratteristici tra i componenti del loro profilo aromatico anche se le quantità assolute possono variare a seconda dell'annata, del territorio, del tipo di coltura ecc. E' certo che un Barbera coltivato in Sicilia rimarrà sempre Barbera perché il suo Dna continuerà a sovrintendere alla produzione di sostanze in un determinato rapporto: varieranno le quantità assolute responsabili di provocare una diversa sensazione olfattiva (Lanati et coll., 2003).

2003):



Furanici OX A/OX B	c.a. 1	c.a. 1
Pirani OX C/OX B	>1	>1
Alcol omovanillico/ diidroconiferil alcol	>>1	>>1
Trans/cis-8-OH linalolo	<1	<1

Effetto dell'esposizione sul contenuto "aromatico" dello stesso vitigno.

- Oggi si è ancora lontani dall'avere un profilo aromatico specifico e costante per ogni cultivar, ma sempre con le analisi cromatografiche, sono stati individuati alcuni composti tipici per alcune varietà:
- - Moscati: ricchi di composti terpenici > linalolo, in quantità superiore ad altri vitigni aromatici (quali ad es. Riesling, Muller Thurgau)
- Il confronto tra le Malvasie e i Moscati ha permesso di individuare il carattere distintivo nel rapporto quantitativo tra linalolo/geraniolo, che è molto maggiore di 1 nei Moscati e molto minore nelle Malvasie.
- - Brachetto > geraniolo;

- In casi particolari è possibile caratterizzare alcune cultivar per la presenza di sostanze particolari non presenti nella generalità degli altri vitigni quali ad esempio:
- - *Vitis labrusca* e suoi ibridi – antranilato di metile (aroma foxy, fragola)
- - Sauvignon blanc- 4 mercapto- 4 – metilpentan2-one (composto solforato= foglia di pomodoro, fiore di sambuco)
- - Cabernet sauvignon presenza di 2 metossi-3-isolbutilpirazina (aroma di peperone verde tipico delle metossipirazine).
- .

- In definitiva comunque, per poter utilizzare queste tecniche per caratterizzare le diverse cultivar, bisogna ipotizzare che le differenze geneticamente determinate siano più importanti di quelle indotte da variabili colturali ed ambientali.
- In altre parole lo studio delle sostanze aromatiche dell'uva prima e dei vini poi, forniscono indicazioni utili ai fini dell'identificazione varietale, ma presentano l'inconveniente di essere composti generalmente poco stabili che possono modificarsi nel corso delle analisi e quindi i risultati ottenuti vanno analizzati sempre con molta cautela

METODI AMPELOGRAFICI

METODI DESCRITTIVI si basano sulla **descrizione dell'habitus morfologico** della pianta evidenziando i caratteri che la differenziano da piante appartenenti ad un'altra cultivar o specie.

METODI AMPELOMETRICI (o biometrici) si basano sulla misurazione di parametri di alcuni organi della pianta per confrontare le misure registrate con quelle ottenute su altre cultivars o specie. Fillometria :misure relative alle foglie
Carpometria: misure relative ai frutti

METODI BIOCHIMICI si basano sulla **determinazione della presenza e della quantità di sostanze** contenute nella pianta e la cui biosintesi dipende più o meno direttamente dal genotipo (es. analisi dei sistemi enzimatici)

METODI GENETICI si basano sull'analisi del genotipo attraverso tecniche diverse (es. RFLP, RAPDs, Microsatelliti)

METODI GENETICI

si basano sull'analisi del genotipo attraverso l'utilizzo di **marcatori genetici** di diversa natura (RFLP, RAPDs, Microsatelliti)

L'applicazione di tali marcatori nella identificazione varietale , ha assunto negli ultimi anni un ruolo sempre più importante a complemento delle analisi morfologiche tradizionali

Caratteristiche ideali di un sistema basato su tali marcatori ai fini dell'identificazione varietale:

- **semplice metodologia**
- **riproducibilità dei risultati**
- **alto polimorfismo**
- **semplicità nella interpretazione dei risultati**

Marcatori molecolari che utilizzano la tecnica della PCR

(Polimerase Chain Reaction) reazione che consente la produzione in vitro di grandi quantità di frammenti specifici di DNA .

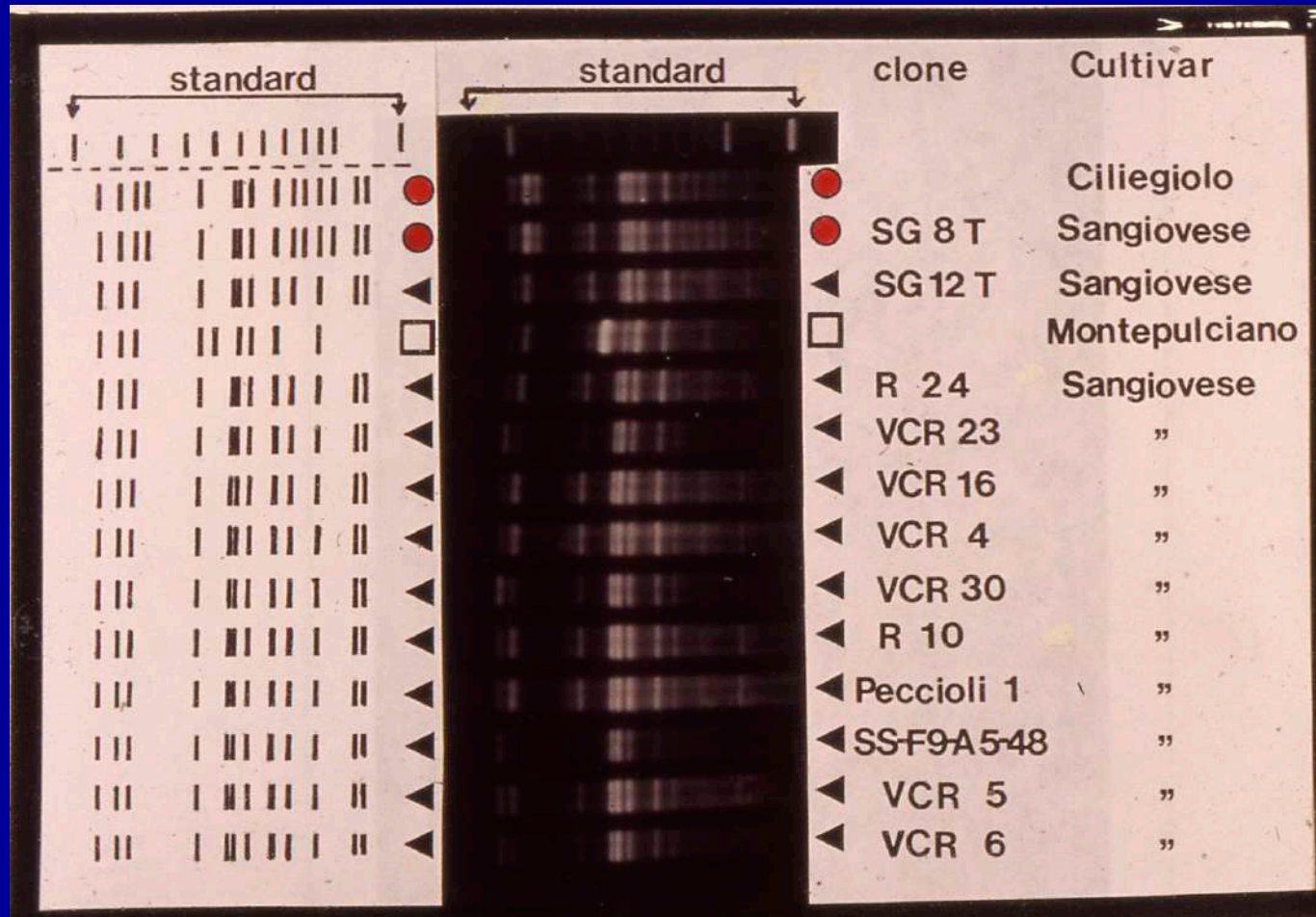
- **RAPD** (Random Amplified Polymorphic DNA)

- **AFLP** (Amplified Fragment Length Polymorphisms)

- **Microsatelliti** (STMS, Sequence Tagged Microsatellites Sites)

RAPDs

- amplificazione DNA via PCR con **corti primer a sequenza casuale** che permette di amplificare le porzioni di DNA comprese tra i primers.
- separazione elettroforetica su gel di agarosio
- patterns caratterizzati da bande multiple
- polimorfismo tra diversi individui sulla base della presenza o assenza delle bande.

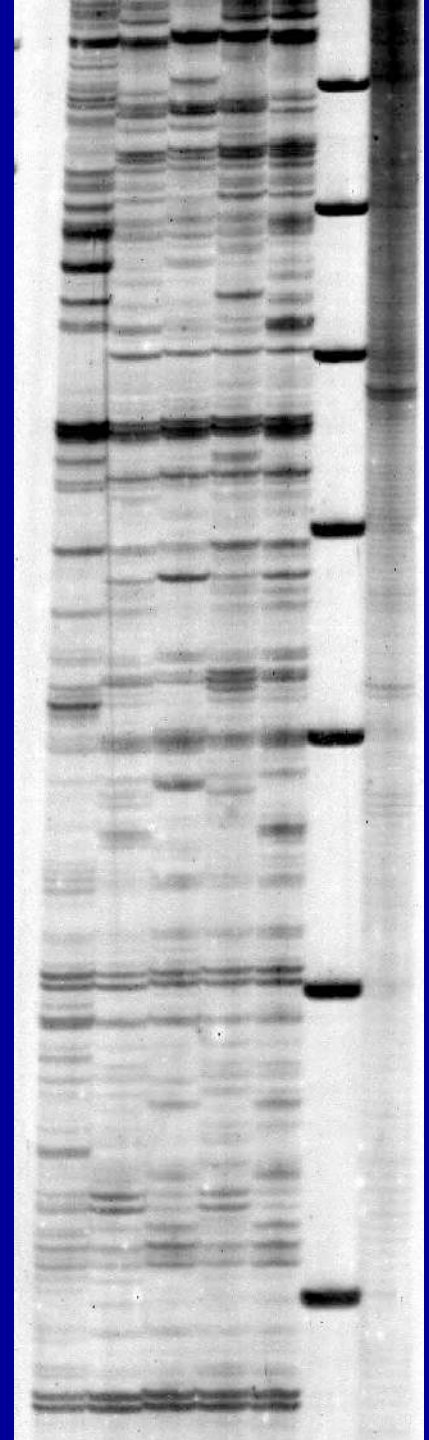


Caratteristiche dei marcatori RAPDs

- + non richiedono la conoscenza a priori di sequenze del genoma**
- + semplice esecuzione**
- + basso costo**
- + alto livello di polimorfismo**
- scarsa riproducibilità dei patterns determinata da vari fattori**
- ereditabilità di tipo dominante**

AFLP

- taglio DNA con **enzimi di restrizione**
- “ligation”: i frammenti di DNA ottenuti sono legati ad **adattatori specifici**
- amplificazione via PCR con primers identici agli adattatori con 2-3 basi azotate in più per amplificare solo una parte dei frammenti
- separazione elettroforetica su gel di poliacrilamide o con sequenziatore automatico
- patterns caratterizzati da bande multiple
- polimorfismo tra diversi individui sulla base della presenza o assenza delle bande.



Caratteristiche dei marcatori AFLP

+ non richiedono la conoscenza a priori di sequenze del genoma

+ alto livello di polimorfismo

+ buona riproducibilità dei patterns

+ analisi simultanea di un gran numero di loci

? Alcuni autori hanno individuato differenze tra cloni (Cervera et al., 1998; Scott et al., 2000)

- ereditabilità di tipo dominante/codominante

- disponibilità di DNA di elevata quantità e qualità

- costo medio-alto

- difficoltà di creare un database di riferimento

I microsatelliti

sono zone del DNA disperse nel genoma degli eucarioti
che presentano sequenze di 1- 4 basi ripetute un numero variabile di volte



CT CT CT CT CT CT CT CT CT CT
GA GA GA GA GA GA GA GA GA GA

The diagram shows a DNA double-stranded sequence. The top strand contains a repeating sequence of 'CT' units, and the bottom strand contains a repeating sequence of 'GA' units. The entire sequence is enclosed in a white rectangular box with a thin border. A horizontal white line passes through the middle of the box, separating the two strands. The 'GA' sequence on the bottom strand is highlighted in yellow.

sono state rilevate in diverse specie vegetali, prevalentemente
concentrate nelle regioni non codificanti del genoma

I marcatori microsatellite



l'individuazione della coppia di oligonucleotidi (primers) che fiancheggia la sequenza microsatellite permette di riconoscere tale specifica regione del genoma, che in genotipi diversi presenta sequenze ripetute un numero diverso di volte

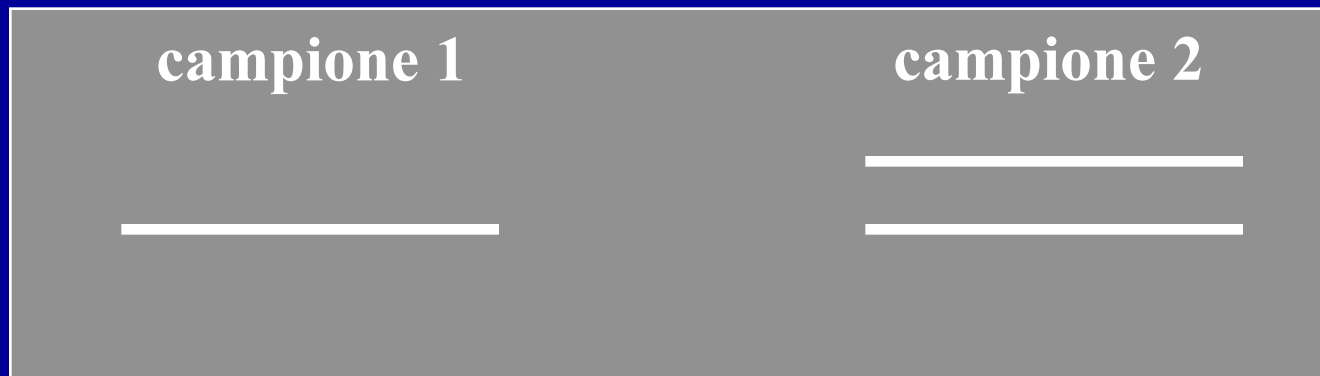
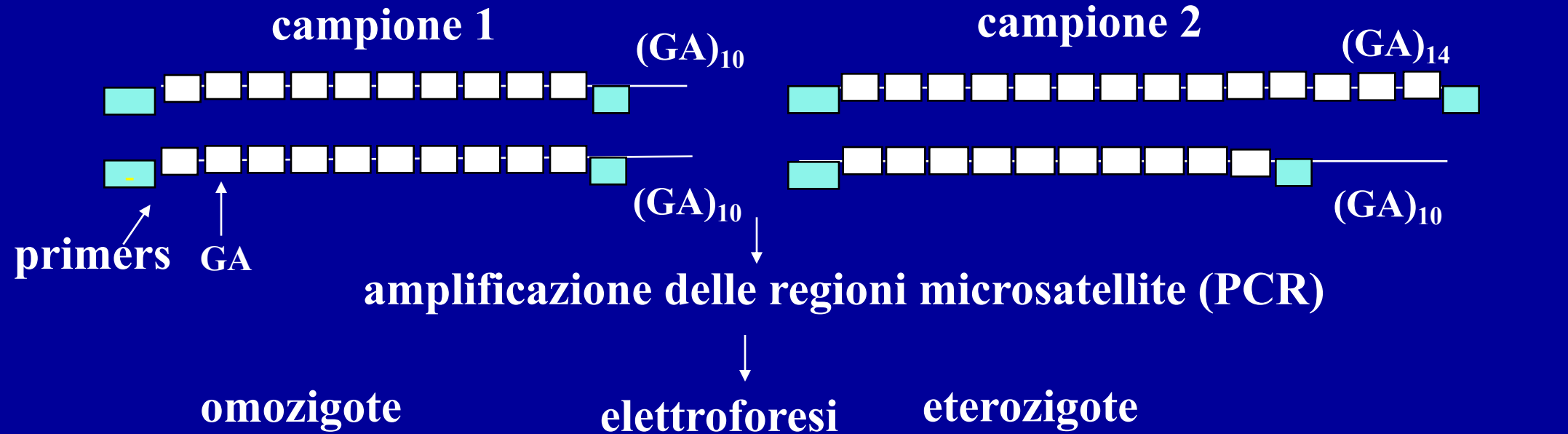


Genotipo A



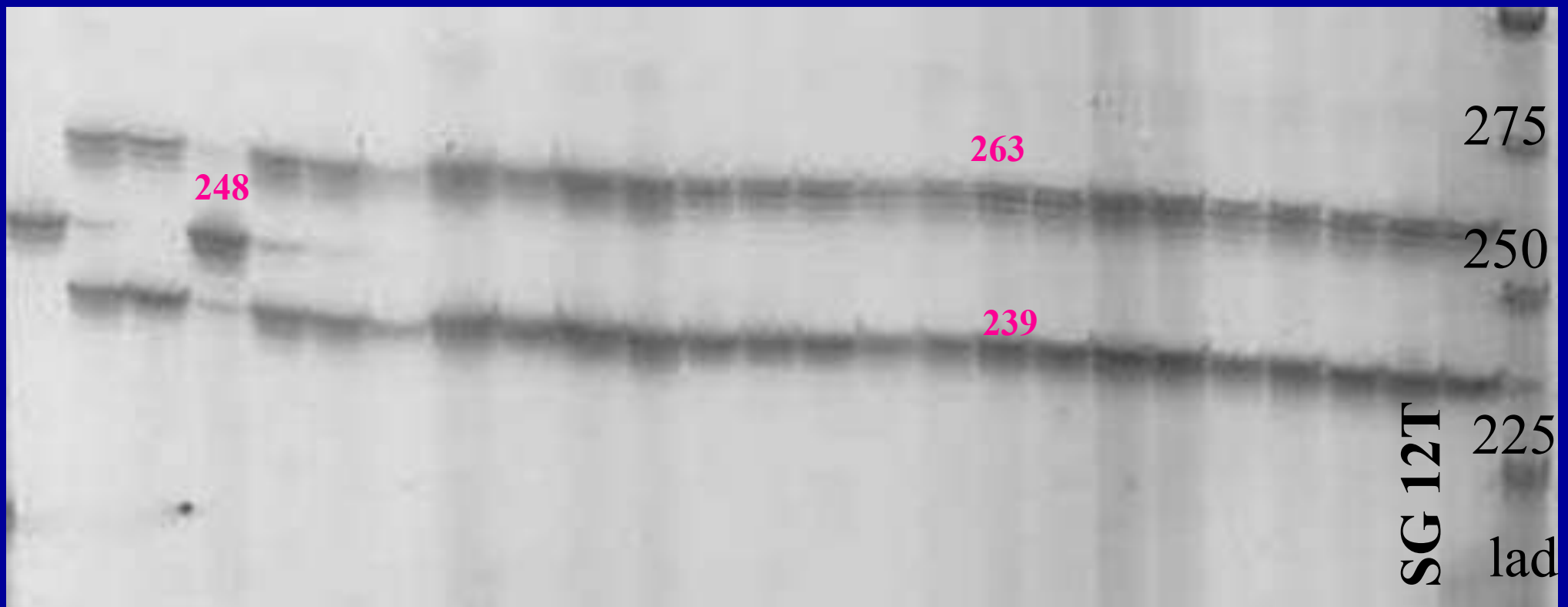
Genotipo B

Esempio di polimorfismo ai *loci* microsatellite



Attraverso l'elettroforesi dei prodotti dell'amplificazione è possibile separare i diversi alleli presenti a quel *locus* in base al peso molecolare

Attraverso l'elettroforesi dei prodotti dell'amplificazione è possibile separare i diversi alleli presenti a quel *locus* in base al peso molecolare e attribuire a ciascuno di essi la dimensione espressa in paia di basi



Fasi per analisi molecolare con loci microsatelliti

Materiale di partenza



Estrazione DNA



Miscela di amplificazione



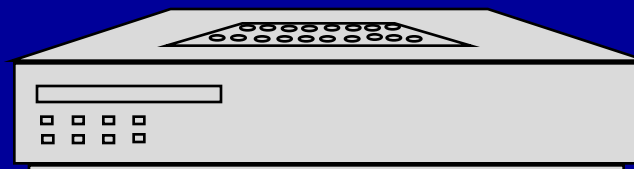
-dNTPs

-Buffer

-Coppia di primers

-Taq polimerasi

**amplificazione DNA
(PCR)**



visualizzazione dei prodotti dell'amplificazione via elettroforesi su gel attraverso metodi diversi (es. gel di poliacrilamide)

Materiale di partenza per estrazione DNA:

foglie giovani;

germogli verdi, piccioli foglie, tessuti fiorali;

acini in pre e post invaiatura;

rachide;

tralci legnosi;

mosto.

Scelta dei primers

- una volta pubblicate le sequenze dei primers specifici, il microsatellite può essere applicato in qualunque laboratorio: Attualmente sono più di 50 i primers sviluppati e pubblicati da 3 laboratori di ricerca (CSIRO, Adelaide, Australia; Università di California; Università di Vienna)

Nel 1997 è stato formato il Vitis Microsatellite Consortium (VMC) al quale partecipano 21 laboratori di ricerca in tutto il mondo con lo scopo di individuare nuovi marcatori microsatellite (330 marcatori ottenuti attualmente)

Per la discriminazione varietale sono stati individuati i **marcatori più discriminanti**

Combinando i dati di 5 loci microsatelliti polimorfici, la possibilità teorica di ottenere due profili identici da due cultivars che sono diverse è stato stimato inferiore a 10^{-5} .

Metodi più comuni per evidenziare il polimorfismo ai *loci* microsatellite

Radioattivi

- utilizzo di nucleotidi marcati (^{32}P) direttamente nella PCR o ibridazione con sonde complementari marcate (^{32}P) con rivelazione attraverso autoradiografia**

Non radioattivi

- Utilizzo di tecniche di marcatura non radioattive delle sonde (ad es.nucleotidi coniugati con biotina) e rilevazione bande via chemiluminescenza**
- Elettroforesi dei prodotti della PCR in gel di agarosio ad alta risoluzione rilevazione bande in Bromuro di Etidio**
- Elettroforesi dei prodotti della PCR in gel di poliacrilamide (denaturante o non denaturante) e rilevazione bande con reattivi all'argento o al Bromuro di Etidio**
- Utilizzo di sequenziatori automatici e rilevamento semi-automatizzato dei prodotti di amplificazione opportunamente marcati a fluorescenza:**
 - ABI 373 O 377 DNA sequencer (PE Applied Biosystems)**
 - ABI Prism 310 Genetic Analyzer (PE Applied Biosystems)**
 - ALF EXPRESS dna SEQUENCER (Licor)**
 - LICOR 4200 DNA sequencer**

-Elettroforesi dei prodotti della PCR in gel di poliacrilamide (denaturante o non denaturante) e rilevazione bande con reattivi all'argento o al Bromuro di Etidio

Sauvignon (Tebano)

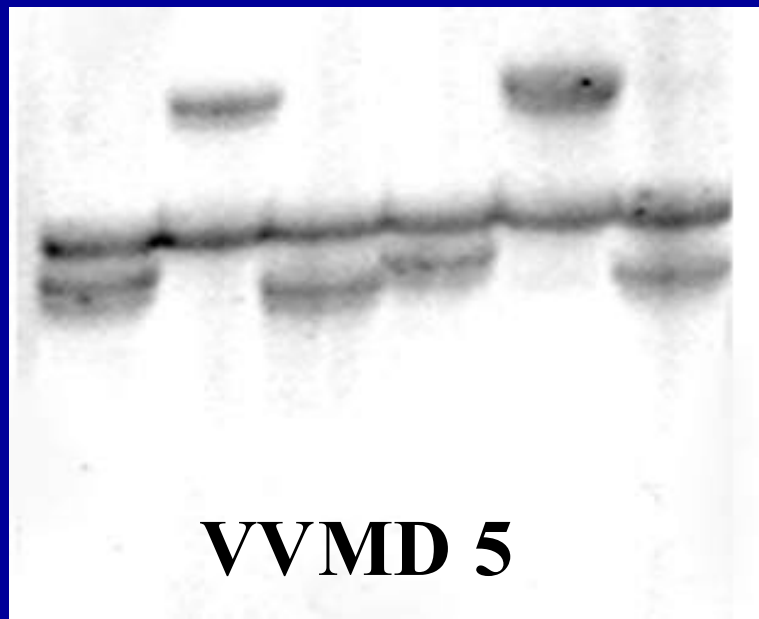
Spergola (Tebano)

Sémillon (Tebano)

Sauvignon (Bologna)

Spergola (Bologna)

Sémillon (Ancona)



Sauvignon (Tebano)

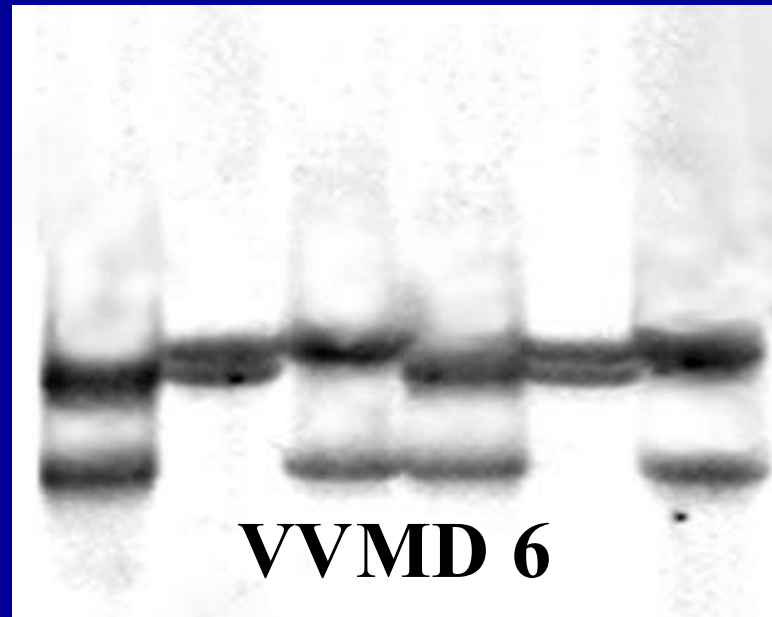
Spergola (Tebano)

Sémillon (Tebano)

Sauvignon (Bologna)

Spergola (Bologna)

Sémillon (Ancona)



-Utilizzo di sequenziatori automatici e rilevamento semi automatizzato dei prodotti di amplificazione opportunamente marcati a fluorescenza:

prodotti dell'amplificazione

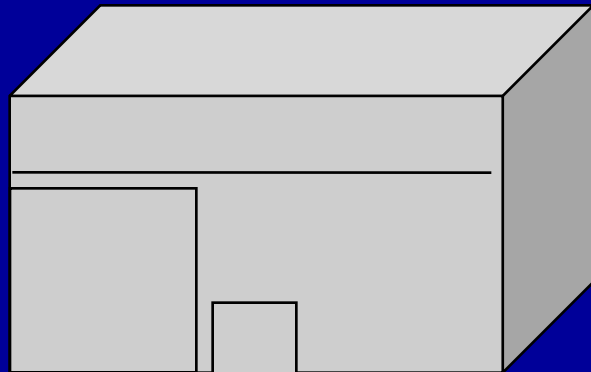


ABI - DNA Sequencer :

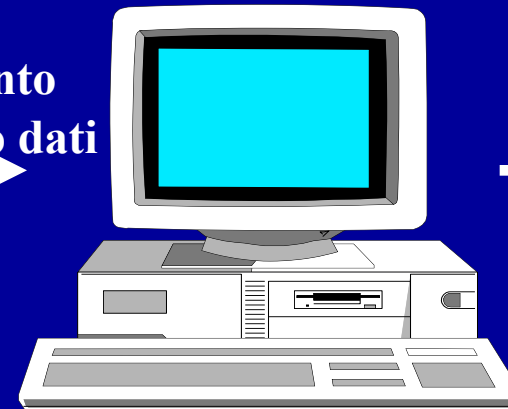
rileva e registra durante la corsa elettroforetica le emissioni provenienti dai segmenti di DNA (*locus* microsatellite) opportunamente marcati fluorescenti

software GENESCAN:

identifica e dimensiona le singole bande utilizzando una linea di riferimento interna standard



trasferimento automatico dati



database

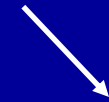
immagine gel

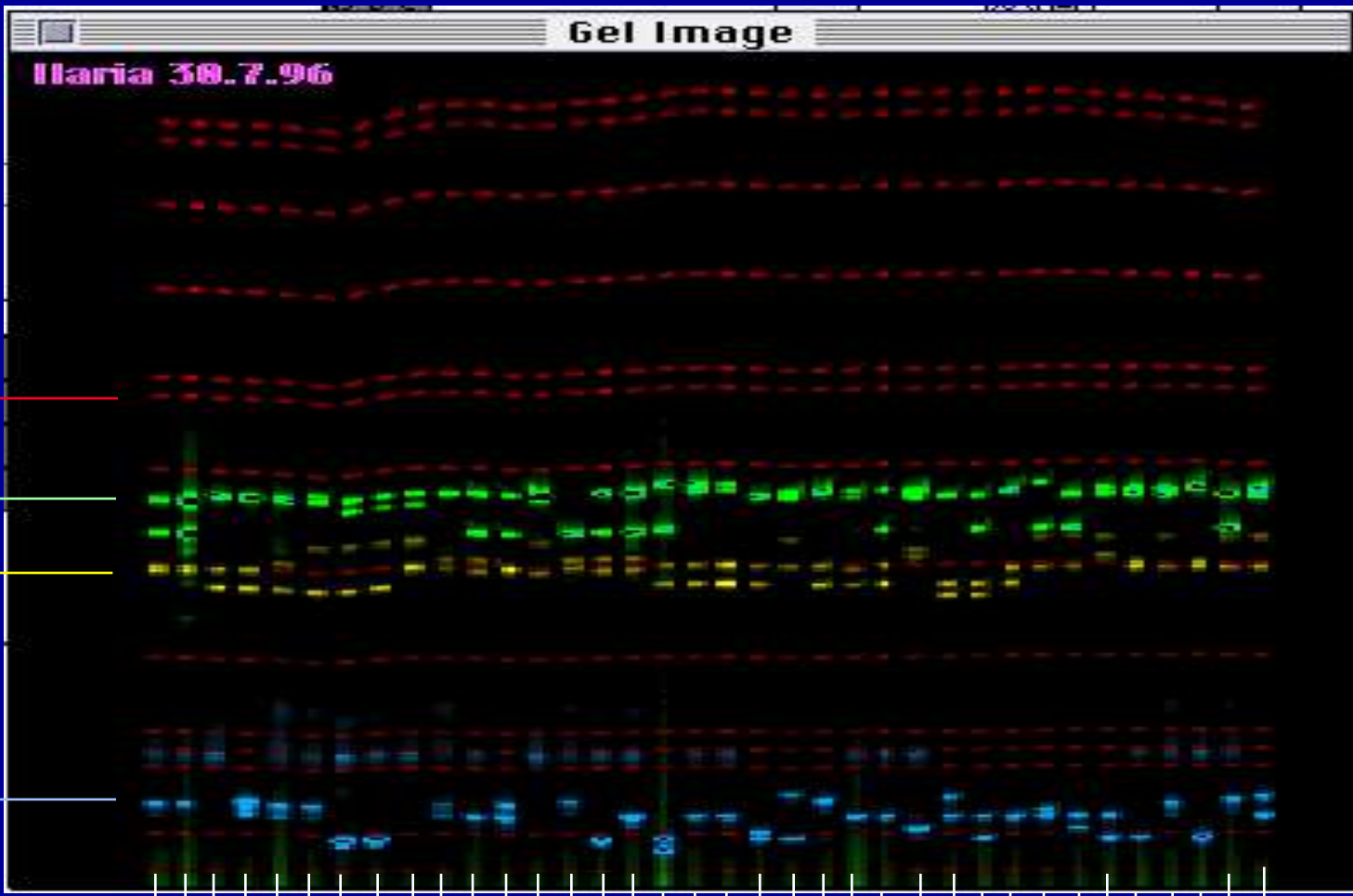


elettroforetogramma



tabella





Ilaria 30.7.96

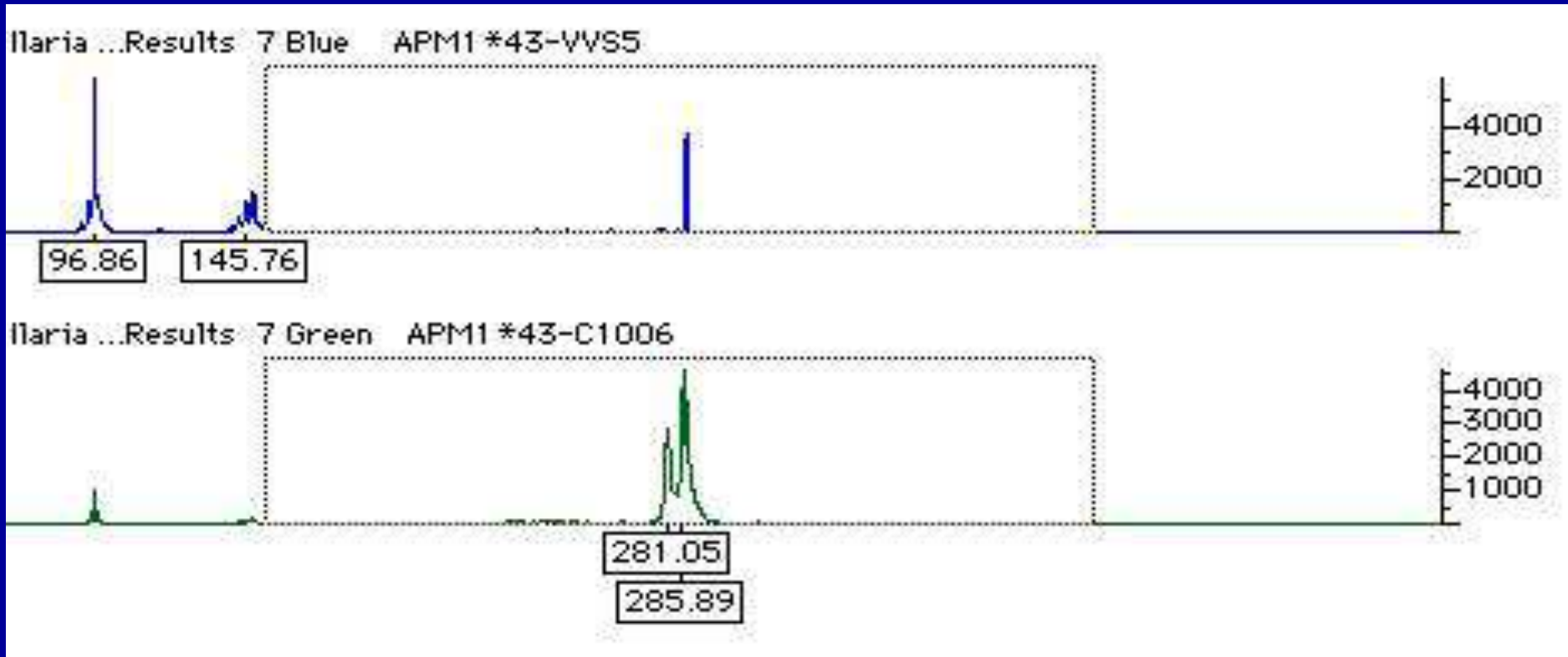
STANDARD

VVS16

VVMD7

VVS5

- Albana 14T
- Albana 71
- Aleatico 83
- Aleatico 81
- Alionza
- Ancellotta
- Sangiovese 67
- Sangiovese 80
- Barbarossa
- Biancame
- Brugnola
- Brugentile
- Ciliegio
- Empibotte
- Fortana 1
- Fortana 13
- Franconia
- Gaglioppo 72
- Gaglioppo 75
- Grechetto 109
- Grechetto 5
- Lacrina nera
- L.Sorbara
- L.Grasparossa
- L.Maestri
- L.Marani
- L. oliva 9
- L. oliva 12
- L. Benatti
- L. Viadanese
- L. d'German
- L. Rossiola
- L. Gentile
- L. P.Rosso
- L. Montericco
- L. F.Frast.



Esempio di elettroforetogramma :
ogni quadro rappresenta un locus diverso e ciascun allele è visualizzato con un picco

cultivar	clone/ biotipo	VVS1	VVS29	VVS2	VVS16	VVS5	VVMD7
Sangiovese	SG 12T	182	171	134	281 287	97 147	239 263
Biancame	CAB 19	182 190	171	134 145	287	110 117	249 253
Lambrusco di Sorbara	CAB21G	190	178	136 153	284 287	110 147	239 247
Albana	AL 14T	182	171	134 145	267 284	117 147	249

Identificazione di cultivars di *Vitis vinifera* e di portinnesti di diverse specie di *Vitis*

individuazione genetica univoca di varietà conosciute con nomi diversi e caratterizzati da morfologie altrettanto differenziate

Thomas e Scott, 1993; Thomas et al., 1994; Cipriani et al., 1994; Botta et al., 1995; Bowers et al., 1996; Sefc et al., 1998; Sanchez -escribano et al., 1999; Grando et al., 2000; Filippetti et al., 2002, ecc..

cultivar	clone/ biotipo	VVS1	VVS29	VVS2	VVS16	VVS5	VVMD7
Lambrusco picc.rosso	CAB 11.5	184 190	178	136 157	287	97 147	247 249
Lambrusco Marani	CAB 8A	188 190	171 178	136 153	284	110 121	233 239
Lambrusco di Sorbara	CAB 21G	190	178	136 153	284 287	110 147	239 247
Lambrusco gentile	CAB 11.7	188 190	171 178	134 136	284 287	117 147	24 263
Lambrusco montericco	CAB 11.5	188 190	171 180	134 153	267 284	119 147	24 263
Lambrusco viadanese	CAB 11.7	182 190	171	136 155	267 284	102 110	24 263
Lambrusco d'German	CAB 11.5	182 190	171	136 15	284 28	97 110	253 263
				7	7		

**individuazione di casi di sinonimie cioè genotipi
identici conosciuti con nomi diversi**

spesso questi casi vengono messi in evidenza da osservazioni
ampelografiche e sono confermati dalle analisi con microsatelliti

(Cipriani et al., 1994; Botta et al., 1995; Sefc et al., 1998; Filippetti et
al., 1998; Lopes et al., 1999; Maletic et al., 1999; Lefort et al., 2000;
Fossati et al., 2001; Crespan et al., 2001,)

cultivar	clone/ biotipo	VVS1	VVS29	VVS2	VVS1006	VVS5	VVMD7
Pagadebit	CAB 11	182 190	171	147 153	287	119 147	247 253
Passerina	PGD 99	182 190	171	147 153	287	119 147	247 253
Cagnina	CAB 1	184 190	178	136 157	287	97 147	247 249
Lambrusco picc.rosso	CAB 11.5	184 190	178	136 157	287	97 147	247 249
Lambrusco di Fiorano	CAB 11.5	182 190	171 178	136 153	284 287	110 121	247 263
Lambrusco foglia frast.	CAB 2	182 190	171 178	136 153	284 287	110 121	247 263
Grechetto	G 5	182	171 178	134 147	284 287	97 123	249 263
Pignoletto	CAB 3	182	171 178	134 147	284 287	97 123	249 263
Sangiovese	SG 12T	182	171	134	281 287	97 147	239 263
Vernaccia piccola	VR 11	182	171	134	281 287	97 147	239 263

individuazione di falsi casi di sinonimie

individuazione di falsi casi di sinonimie

La sinonimia tra “Sauvignon” e “Spergolina” viene riportata nel Catalogo Nazionale delle Varietà (1970).

La prima DOC “Bianco di Scandiano” (1976) indicava per il vino omonimo una base varietale dell’85% di uve del vitigno “Sauvignon”, localmente detto “Spergola” o “Spergolina”.

Vitigno	<i>loci e dimensione degli alleli (bp)</i>				
	VVMD5	VVMD6	VVMD17	VVMD24	VVMD25
Spergola	230 240	212 214	214 221	211 218	235 240
Sauvignon	227 230	205 212	221	218	235 240
Sémillon	226 230	205 214	214 222	211	235 243

Vitigno	<i>loci e dimensione degli alleli (bp)</i>				
	VVMD27	VVMD28	VVMD31	VVMD32	VVMD36
Spergola	191 197	234 236	212 215	246 249	252
Sauvignon	177 193	234 236	210 216	239 249	252 268
Sémillon	181 184	241 244	212 215	246 258	252

- Il nome “Spergola” dovrà essere eliminato dall’elenco dei sinonimi del “Sauvignon”.
- Come varietà a sé stante, “Spergola” dovrà essere descritta secondo le normative vigenti ed inserita nel Catalogo Nazionale delle Varietà.
- “Spergola” dovrà essere inclusa tra le varietà raccomandate nella provincia di Reggio Emilia.
- Dovrà essere opportunamente modificata l’indicazione della base varietale del vino a DOC “Colli di Scandiano e di Canossa” bianco.

Analisi del pedigree per verificare i parentali delle varietà coltivate (antiche varietà o nuovi incroci).

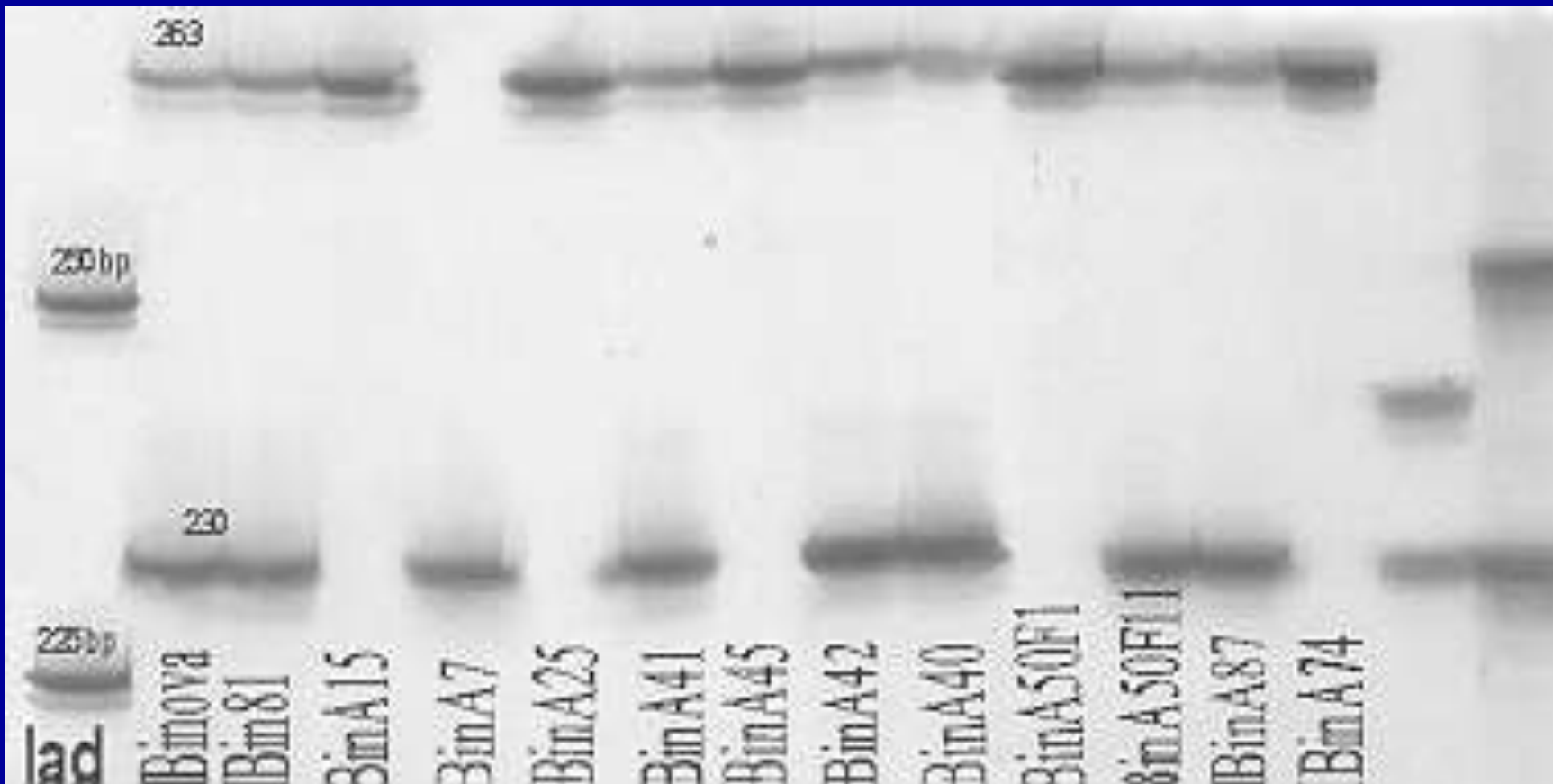
Progenie ottenuta per autofecondazione da una unica pianta madre di Sangiovese

	VVS1	VVS29	VVS2	VV1006	VVS5	VVMD7	VVMD5	VVMD6	VVMD17	VVMD28
p.m. Sg	182	171	134	281 287	97 147	239 263	226 236	190 208	212 221	236 246
a 1	182	171	134	281	97	239 263	226 236	208	221	236 246
a 2	182	171	134	281 287	147	239 263	226 236	208	212	236 246
a 6	182	171	134	281 287	147	239 263	226 236	208	212 221	236 246
a 7	182	171	134	281 287	147	239 263	226 236	190 208	221	236 246
a 8	182	171	134	281	97	239	226 236	190	212	236 246
a 9	182	171	134	281 287	97 147	239 263	226 236	190	212	236 246
a 10	182	171	134	281 287	147	239	226 236	190 208	221	236 246
a 11	182	171	134	281 287	97	263	226 236	208	212 221	246
a 12	182	171	134	281	147	263	226 236	208	221	246
a 13	182	171	134	281 287	147	263	226	208	212 221	246
a 14	182	171	134	281 287	97	239 263	226	190 208	212 221	236 246
a 19	182	171	134	281 287	97	239 263	226	190 208	212 221	236 246
a 15	182	171	134	281 287	97 147	239 263	226	190 208	212 221	246
a 16	182	171	134	281 287	97 147	263	226	208	212 221	236 246
a 17	182	171	134	281 287	97 147	239 263	226	190 208	212 221	236 246
a 18	182	171	134	287	97 147	239 263	226	190 208	221	236 246
a 20	182	171	134	281 287	97	239 263	226	190 208	221	236 246
a 21	182	171	134	287	97 147	239	226 236	190	212 221	236
a 22	182	171	134	281 287	97	239	236	190	212	246
a 23	182	171	134	281 287	97 147	239	226	190	221	246
a 24	182	171	134	281 287	97 147	239 263	226 236	190 208	212	246
a 25	182	171	134	281 287	147	239 263	226 236	190 208	212	236 246
a 26	182	171	134	281 287	97 147	239 263	226	190	221	236 246

Caratterizzazione genetica dei portinnesti ottenuti da Binova A.

E' stato confermato che tutte le accessioni provengono da autofecondazione della pianta madre

Accessioni	VVMD 5	VVMD 7	VVMD 17	VVMD 21	VVMD 31	VVMD 32	VVMD 36	VVMD 6	VVMD 24	VVMD 25	VVMD 27
BIN A7	233	230	219	219	199 205	233	237	206 209	202	240	210
BIN A15	233 263	263	219	219	199	233 259	237	206	202	240	210
BIN A 81	233 263	230 263	219	219	205	233 259	237	209	202	240	200 210
BINA 25	233 263	263	219	219	199	233 259	237	206	202	240	200 210
BIN A41	233 263	230 263	219	219	199 205	259	237	206 209	202	240 250	200
BIN A40	233 263	230 263	219	219	199 205	259	237	206 209	202	240 250	200 210
BIN A42	233 263	230 263	219	219	199 205	259	237	206 209	202	240 250	200 210
BIN A45	233 263	263	219	219	199	233	237	206	202	240	200 210
BIN A50F1	233	230 263	219	219	199 205	259	237	206 209	202	240	210
BIN A50F11	263	263	219	219	199	259	237	206	202	240 250	210
BIN A74	233	263	219	219	199	259	237	206	202	240	200 210
BIN A87	233	230 263	219	219	199 205	233	237	206 209	202	240	200 210
BINOVA	233 263	230 263	219	219	199 205	233 259	237	206 209	202	240 250	200 210



Tutte le piante figlie derivate da Binova A presentano almeno un allele identico alla pianta madre (*locus* VVMD7)

Caratterizzazione genetica dei portinnesti ottenuti da 325R L e da TELEKI5 L.

E' stato confermato che tutte le accessioni provengono dalle rispettive piante madri, ma non è stato possibile identificare i parentali donatori di polline

Accessioni	VVMD 5	VVMD 7	VVMD 17	VVMD 21	VVMD 31	VVMD 32	VVMD 36	VVMD 6	VVMD 24	VVMD 25	VVMD 27
325R L94	224 249	258 263	219	219 228	205	235	237	209 215	207	238 250	186 210
325R L95	226 263	228 237	219 221	219 228	205	235 259	237	207 209	207 213	238 250	186 210
325R	224 263	228 263	219 221	219	199 205	235 259	237 247	205 209	207 211	238 250	190 210

Accessioni	VVMD 5	VVMD 7	VVMD 17	VVMD 21	VVMD 31	VVMD 32	VVMD 36	VVMD 6	VVMD 24	VVMD 25	VVMD 27
TEL5 L13	224 263	230 248	219 221	219 253	199 209	259 272	237 247	205 209	207	240 250	180 190
TEL5 L25	229 263	237 263	219 221	219 246	199 203	235	247	205 207	202 213	250	180 210
TEL5 L9	226 263	230 237	219	219	205 209	233 259	247	209	207 213	238 250	180 210
TEL5 L5	229 233	248 263	219 223	219 246	199 215	259	237 247	199 205	202 217	238 257	190 186
TELEKI5	233 263	230 263	219	219	199 205	235 259	237 247	205 209	202 207	238 250	190 210

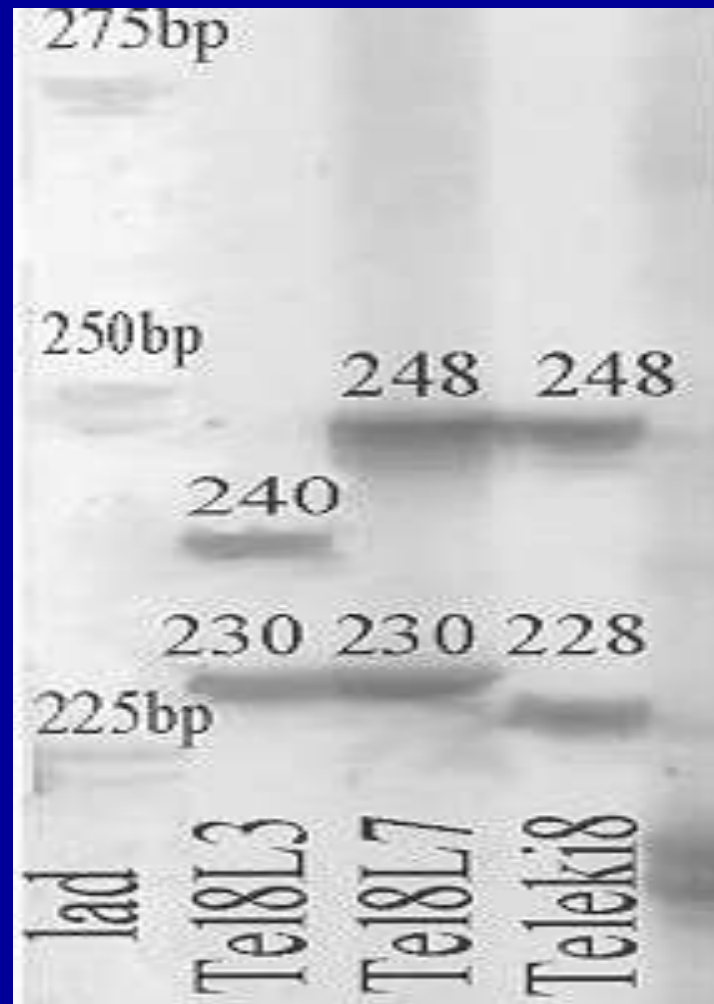
Caratterizzazione genetica dei portinnesti ottenuti da 1202C L e Teleki8 L.

L'accessione ottenuta da 1202C L è risultata provenire da autofecondazione della pianta madre.

Accessioni	VVMD 5	VVMD 7	VVMD 17	VVMD 21	VVMD 31	VVMD 32	VVMD 36	VVMD 6	VVMD 24	VVMD 25	VVMD 27
1202C L17	249	246	219 221	226 240	205	237	264	207 215	217	238 262	176 204
1202C	224 249	246	219 221	226 240	205	235 237	237 264	207 215	204 217	238 262	176 204

Delle due accessioni ottenute da Teleki8 L, quella denominata TEL8 L3 non è risultata figlia della pianta madre ipotizzata. Non è stato possibile identificare i parentali donatori di polline.

Accessioni	VVMD 5	VVMD 7	VVMD 17	VVMD 21	VVMD 31	VVMD 32	VVMD 36	VVMD 6	VVMD 24	VVMD 25	VVMD 27
TEL8 L3	233 249	230 240	219	219 226	205 209	247	237	190 209	202 209	238 257	218
TEL8 L7	263	230 248	219	219	199	259	237	205 215	204	236 250	204 208
TELEKI8	233 263	228 248	219	219	199 205	235 259	237	209 215	204 211	238 250	200 204



L'accessione **Tel8 L7** ha un allele in comune con la pianta madre **Teleki8**. L'accessione **Tel8 L3** non ha alleli comuni con la pianta madre ipotizzata, con la quale non ha pertanto rapporti di parentela (*locus VVMD7*)

Esempi della ricerca dei parentali di alcune antiche varietà

Cabernet sauvignon = Cabernet franc x Sauvignon blanc

(Bowers e Meredith, 1997);

16 varietà francesi (tra le quali Chardonnay, Gamay noir, Aligotè, Auxerrois) sono risultati essere derivati dall'incrocio tra

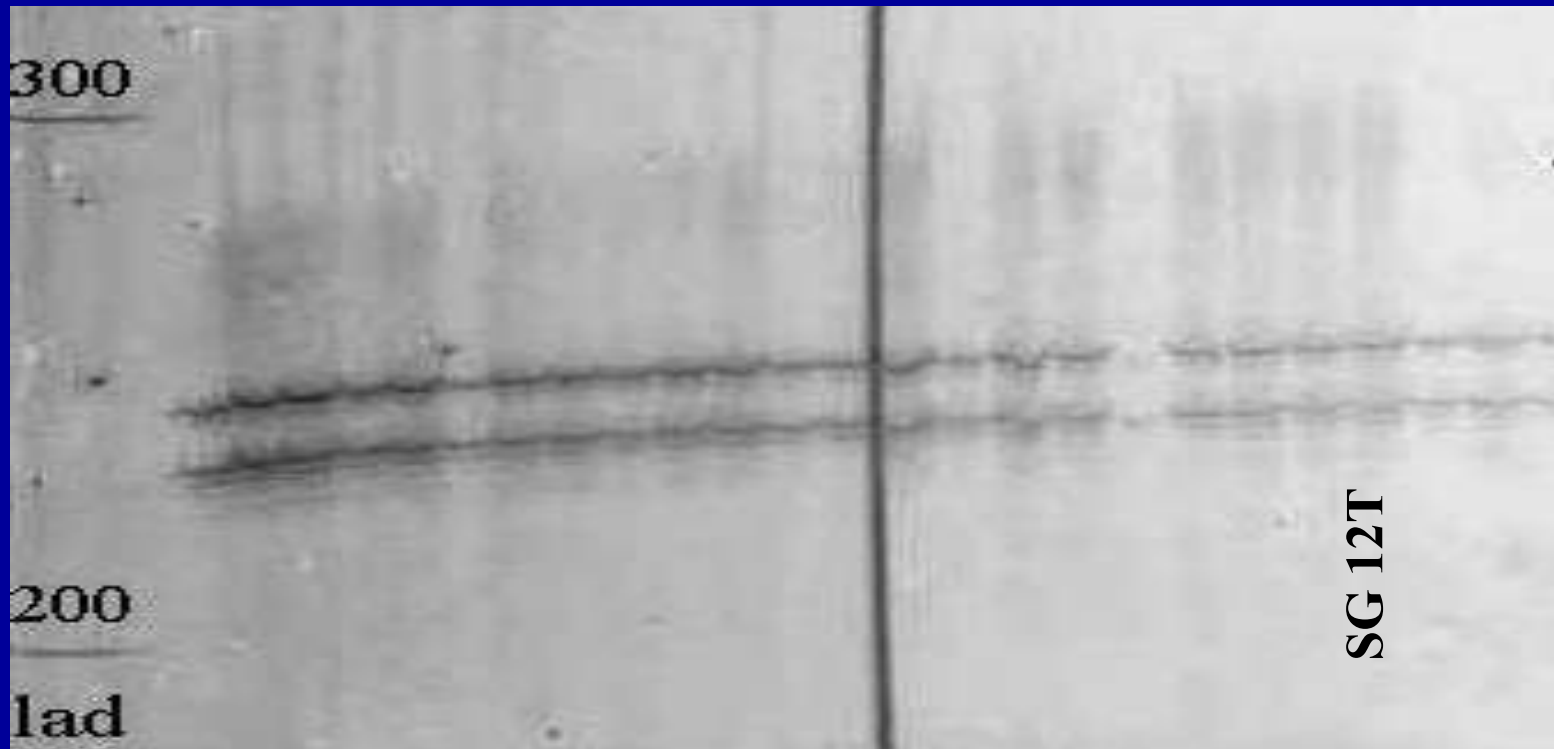
Gouais blanc x Pinot (Bowers e Meredith, 1999);

Silvaner = Traminer x Osterreichish weiss (Sefc et al, 1998)

Analisi della variabilità intravarietale

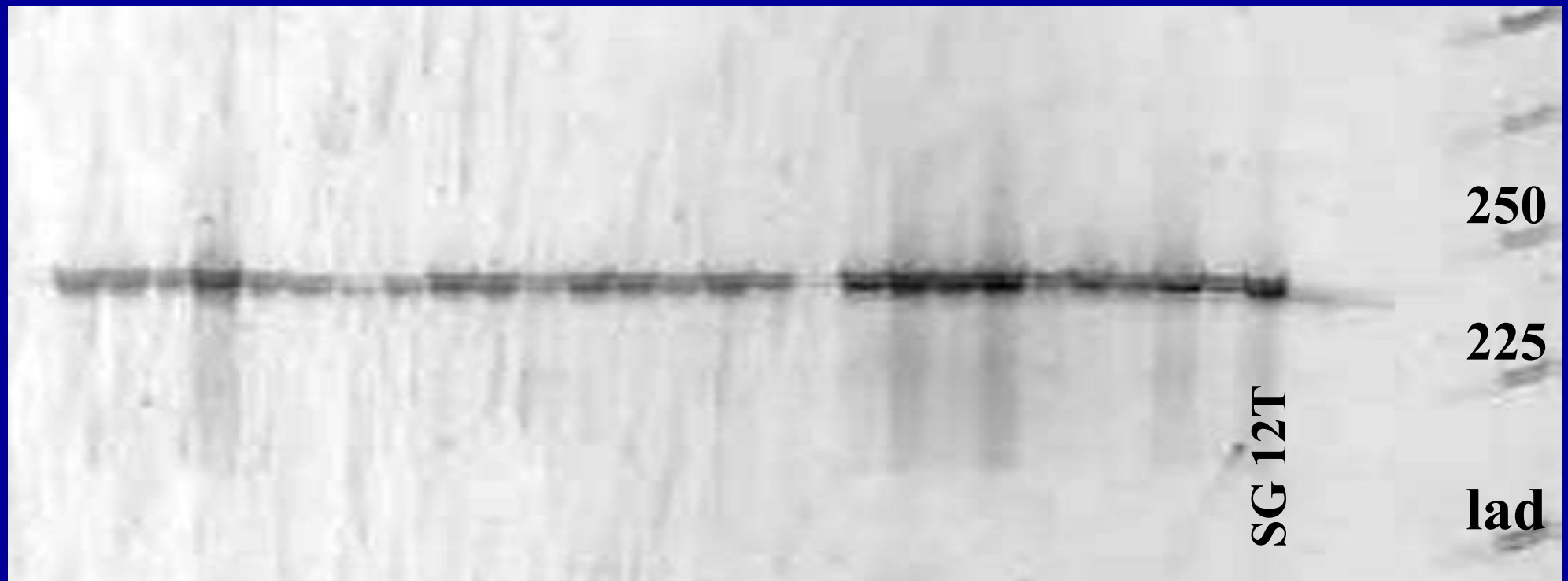
**Es. 39 cloni di Sangiovese omologati e iscritti al
Catalogo Nazionale delle Varietà di Vite con
sigle diverse**

Profili genetici dei cloni di Sangiovese Montalcino 42, U.S. FI-PI 3, U.S. FI-PI 172, Peccioli 1, AP-SG 1, AP-SG 2, SG VCR 4, SG VCR 19, SG VCR 5, SG VCR 6, SG VCR 30, SG VCR 23, SG VCR 16, SG VCR 103, SG VCR 102, SG BF 10, SG BF 30, TIN-10, TIN-50, SG 2T, SG4T, B-BS-11 e SG 12T al *locus* microsatellite VVMD5



I cloni analizzati sono risultati tutti identici al Sg di riferimento

Profili genetici dei cloni di Sangiovese FEDITH 20-CH, FEDITH 21-CH, FEDITH 22-CH, Peccioli 1, AP-SG 1, AP-SG 2, SG VCR 4, SG VCR 19, SG VCR 5, SG VCR 6, SG VCR 30, SG VCR 23, SG VCR 16, SG VCR 103, SG VCR 102, UBA 74/C, UBA 79/C, UBA 63/C, B-BS-11, TIN-10, TIN-50, SG 2T, SG4T e SG 12T al *locus* microsatellite VVMD25



I cloni analizzati sono risultati tutti identici al Sg di riferimento

Cloni di Sangiovese	VVMD5	VVMD6	VVMD7	VVMD17	VVMD25	VVS16
Sg di riferimento (SG 12T)	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
SG VCR 5	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
SG VCR 6	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
SG VCR 30	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
SG VCR 23	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
SG VCR 16	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
SG VCR 103	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
SG VCR 102	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
SG BF 10	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
SG BF 30	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
TIN-10	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
TIN-50	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
JANUS-10	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
JANUS-20	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
SG 2T	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
SG 4T	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
B-BS-11	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
UBA 74/C	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
UBA 79/C	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
UBA 63/C	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287

Cloni di Sangiovese	VVMD5	VVMD6	VVMD7	VVMD17	VVMD25	VVS16
Sg di riferimento (SG 12T)	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
Montalcino 42	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
U.S. FI-PI 3	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
U.S. FI-PI 172	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
Chianti classico 2000/1	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
Chianti classico 2000/2	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
Chianti classico 2000/3	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
Chianti classico 2000/4	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
Peccioli 1	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
AP-SG 1	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
AP-SG 2	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
SS-FP-A5-48	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
CSV-AP-SG5	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
FEDITH 20-CH	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
FEDITH 21-CH	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
FEDITH 22-CH	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
SG Rauscedo 10	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
SG Rauscedo 24	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
SG VCR 4	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287
SG VCR 19	224-234	190-208	239-263	212-221	242	281-287

L'assenza di polimorfismo rilevata tra cloni di Sg ai 6 loci microsatellite analizzati permette di :

- Avvalorare la teoria che le ridotte differenze morfologiche presenti tra i cloni esaminati siano originate da eventi mutageni puntiformi (verificatisi nel corso della loro propagazione agamica), e come tali non rilevabili da questo tipo di analisi.**
- Escludere l'ipotesi di una loro origine policlonale a partire da capostipiti costituiti da semenzali strettamente imparentati**

Caratteristiche dei marcatori microsatellite

- + alti livelli di polimorfismo tra specie e varietà di vite
- + codominanza ed ereditabilità mendeliana
- + alta ripetibilità
- + possibilità di attribuire ai singoli alleli un valore assoluto (bp) con elevata precisione attraverso tecniche semi-automatizzate e realizzazione di una banca dati con i profili delle cultivar o specie
- + possibilità di analisi multiple per ridurre i costi
- + accettabilità in campo forense
- conoscenza della sequenza dei primers specifici:
(necessità di isolare, clonare e sequenziare un microsatellite per usarlo come marcatore)
- non in grado di distinguere differenze tra cloni determinate da eventi mutageni.