

**PROGRAMMA DI COOPERAZIONE EUROPEA INTERREG V-A GRECIA - ITALIA  
2014/2020 – PROGETTO BEST. PROCEDURA EX ART. 1 DEL D.L. N. 76 DEL 16/07/2020  
CONVERTITO IN LEGGE N. 120 DEL 11/09/2020 ED EX ART. 95, COMMA 3 DEL D.LGS.  
50/2016 PER L’AFFIDAMENTO DEL SERVIZIO DI “ANALISI  
DELL’AGROBIODIVERSITÀ E STUDIO DELLE SPECIE VEGETALI COLTIVATE A  
RISCHIO DI ESTINZIONE NELL’AREA DELL’AZIONE PILOTA 1 DEL PROGETTO  
BEST E RELATIVO PIANO DI AZIONE”. CUP: B38H19005670006 – CIG: 8730686601.**

**Relazione sullo svolgimento delle attività dell’affidataria del servizio GAL SEB scarl di cui al punto  
b) dell’art. 4 – TERMINI PER LO SVOLGIMENTO DELLE ATTIVITA’ del contratto:**

**elaborati descrittivi contenenti le risultanze dell’analisi di valutazione dell’erosione  
genetica/estinzione, la definizione delle metodologie di conservazione in situ ed ex situ del  
germoplasma delle specie e varietà agricole a maggiore rischio di estinzione individuate,  
nonché i protocolli operativi di conservazione e gestione di cui all’art. 1 punto 2 lett. a) b)**

Testo a cura di Vincenzo Fucilli (capoprogetto), Arcangelo Cirone, Alessandro Petrontino,  
Giacomo Maringelli, Cinzia Montemurro.



REGION OF  
IONIAN  
ISLANDS



HELLENIC REPUBLIC  
REGION OF EPIRUS



REGION  
OF WESTERN  
GREECE  
*full of contrast!*



**PUGLIA  
REGION**

DEPARTMENT OF MOBILITY,  
URBAN QUALITY, PUBLIC WORKS,  
ECOLOGY AND LANDSCAPE

## Sommario

1.0 Materiali e Metodi.....	4
1.1 Analisi di valutazione dell’erosione genetica/estinzione .....	4
1.2 Definizione delle metodologie di conservazione in situ ed ex situ del germoplasma delle specie e varietà agricole a maggiore rischio di estinzione individuate .....	7
2.0 Risultati .....	12
2.1 Analisi di valutazione dell’erosione genetica/estinzione .....	12
2.2 Protocolli di conservazione .....	31
2.2.1 Protocollo di conservazione del seme ex situ per piante erbacee .....	31
2.2.2 Protocolli di conservazione delle specie arboree .....	34
2.2.3 Protocollo di conservazione in vitro e crioconservazione .....	39
2.3 Risultanze sintetiche dell’analisi di rischio e conservazione per le varietà selezionate .....	47

## 1.0 Materiali e metodi

### 1.1 Analisi di valutazione dell'erosione genetica/estinzione

Per ognuna delle specie individuate si provvede a delineare scenari di rischio connessi ad elementi di valutazione che di volta in volta saranno individuati a partire da caratteristiche interne ed esterne al sistema di analisi. Nello specifico, grazie anche all'impostazione di una analisi SWOT relativa alla tutela/conservazione della singola specie agronomica, vengono valutate: le caratteristiche intrinseche della varietà/cultivar analizzata, le caratteristiche del territorio di maggiore diffusione, la capacità del sistema regionale/locale di provvedere alla loro tutela e conservazione o addirittura allo sfruttamento produttivo, alle evoluzioni e tendenze del mercato e delle preferenze dei consumi di prodotti locali e di nicchia, alle pressioni derivanti da urbanizzazione e razionalizzazione dei sistemi produttivi. L'analisi contribuisce così a valutare il rischio di erosione genetica da differenti prospettive, dando un quadro completo delle emergenze e delle leve da utilizzare nella formulazione del Piano di Azione.

RGV	NOME VARIETA'	C. RIPAGNOLA	DUNE COSTIERE	MAR PICCOLO
ERBACEE	1 Fava Viola		X	
ERBACEE	2 Grano duro San Pasquale			X
ERBACEE	3 Grano tenero Bianchetta	X	X	X
FORAGGERE	4 Trifoglio sotterraneo	X		
FORAGGERE	5 Trifoglio incarnato	X		
FRUTTIFERI	6 Fico Petrelli	X	X	
FRUTTIFERI	7 Fico Verdesca		X	X
FRUTTIFERI	8 Pero Gentile reale	X		X
FRUTTIFERI	9 Pero Recchia falsa	X	X	
FRUTTIFERI	10 Susino S. Anna Ovale		X	
ORTIVE	11 Carciofo Bianco di Taranto			X
ORTIVE	12 Cima di Cola	X		
ORTIVE	13 Fagiolino dall'occhio Occhiopinto	X		X
ORTIVE	14 Fagiolino pinto	X		
VITE	15 Cigliola			X
VITE	16 Notardomenico	X	X	
VITE	17 Santa Teresa			X

L'analisi SWOT si riferisce sia al mantenimento che alla reintroduzione delle varietà selezionate nei tre areali di progetti. Rimandando ad alcuni sintetici cenni metodologici relativi alla realizzazione di una analisi SWOT, si ricorda che l'individuazione degli elementi di analisi segue i due principi del segno (positivo o negativo) e della posizione (interna o esterna) dell'elemento considerato. Pertanto, considereremo i punti di forza e le opportunità come elementi positivi provenienti rispettivamente dall'interno e dall'esterno al sistema di analisi. Al contrario, considereremo i punti di debolezza e le minacce come elementi negativi provenienti rispettivamente dall'interno e dall'esterno al sistema di analisi. Il sistema di analisi considerato in questo caso presenta dei limiti interni individuabili nelle

caratteristiche delle varietà e nella capacità del territorio considerato di ospitare il tipo di coltura in esame. Gli elementi esterni sono invece riconducibili ad aspetti legati al mercato, alle tendenze di consumo, ai possibili rapporti commerciali e ad aspetti climatici o di interazione con il tessuto urbano e l'ambiente naturale.

La realizzazione della SWOT è utile per individuare sia la plausibilità di un eventuale progetto di recupero e mantenimento delle varietà in esame, sia per individuare le leve di valorizzazione che a seconda della provenienza, possono essere controllabili o meno. Si individueranno quindi progetti di recupero con prevalenza di elementi positivi, negativi (neutri in caso di equità) le cui leve sono controllabili (interne al sistema) o non controllabili (maggioranza di leve esterne al sistema). Questa modalità di analisi contribuisce a formulare un giudizio sullo **scenario di valorizzazione** della varietà considerata.

La seconda finalità della SWOT è quella di organizzare e sistematizzare gli elementi di conoscenza delle singole varietà al fine di determinare il grado di rischio di erosione genetica. La scheda che segue rappresenta il format utilizzato per determinare il **rischio di erosione genetica o estinzione**.

I fattori di rischio sono stati stimati a partire da alcuni degli elementi della SWOT, facendo corrispondere a livelli più elevati di rischio un punteggio pari a 3, medio 2 e basso 1. La sommatoria dei punteggi ottenuti determina il grado di rischio che quindi può essere **basso** quando complessivamente è inferiore o uguale a 9, **medio** quando è compreso tra 9 e 18, **alto** quando è superiore a 18.

Fattori di rischio Descrizione	Livello (grado) di rischio
<b>1. Numero coltivatori</b>	Maggiore di 30
	Compreso fra 10 e 30
	Minore di 10
<b>2. Età media dei coltivatori</b>	Minore di 40 anni
	Compreso fra 40 e 70 anni
	Maggiore di 70 anni
<b>3. Superfici (% su superficie regionale del settore)</b>	Superiore al 1%
	Compresa fra 0,1 e l'1%
	Inferiore a 0,1 % o superfici inferiori
	Piante isolate o coltivazioni in orti e giardini familiari
<b>4. Distribuzione delle superfici coltivate e tipologie aziendali</b>	Areali molto diversi, con diverse caratteristiche agro-climatiche
	Areali limitati, con stesse caratteristiche agro-climatiche e medesime tecniche colturali
	Stessa azienda/stesso areale/unica tecnica di coltivazione
<b>5. Tipologia di mercato del prodotto</b>	Mercati e/o cooperative di produttori Varietà principali in Indicazioni Geografiche (IG)
	Disponibile in piccole superfici a livello locale Varietà secondarie in IG
	Autoconsumo o a scopo di studio.
<b>6. Ruolo dell'innovazione varietale</b>	Assenza di varietà migliorate competitive con quella locale
	Persistenza della varietà locale solo per autoconsumo
	Rapida sostituzione varietà locale con varietà migliorate
<b>7. Trend nuovi impianti</b>	Presenza nuovi impianti
	Assenza nuovi impianti
<b>8. Presenza dei Registri/Cataloghi nazionali</b>	Frutticole: varietà presenti nelle liste varietali delle diverse regioni e varietà iscritte al Registro Nazionale delle Varietà
	Vite: vitigni iscritti all'albo regionale
	Orticole e piante agrarie: varietà iscritte al Registro Nazionale delle varietà da conservazione e/o prive di valore intrinseco
	Vite: in corso di iscrizione all'albo regionale Materiale disponibile presso pochi riproduttori e vivaisti
	Frutticole: varietà non inserite nelle liste varietali e non iscritte al Registro Nazionale delle Varietà
	Vite: vitigni non iscritti all'albo regionale
	Orticole e piante agrarie: non iscritte al Registro Nazionale delle Varietà da conservazione e/o prive di valore intrinseco
Nessuna riproduzione per distribuzione extraziendale	
<b>9. Conservazione ex situ</b>	Presenza di collezioni replicate almeno due volte
	Presenza di una sola collezione
	Assenza di collezioni

## 1.2 Definizione delle metodologie di conservazione in situ ed ex situ del germoplasma delle specie e varietà agricole a maggiore rischio di estinzione individuate

### **Linee guida per la conservazione e la caratterizzazione della biodiversità vegetale, animale e microbica di interesse per l'agricoltura (Piano nazionale sulla biodiversità di interesse agricolo-PNBA)**

Le linee guida elaborate dal PNBA definiscono il concetto di varietà locale, che deriva dalla traduzione inglese di *landraces*. Sebbene fossero già state proposte diverse definizioni di varietà locale, si può definire una varietà locale come: una coltura che si riproduce per seme o per via vegetativa che è una popolazione variabile, che è identificabile e usualmente ha un nome locale. La coltura, non è stata oggetto di miglioramento genetico “formale”, ed è caratterizzata da un adattamento specifico alle condizioni ambientali di un'area di coltivazione (tollerante a stress biotici e abiotici di quell'area), ed è strettamente associata con gli usi, le conoscenze, le abitudini, i dialetti e le ricorrenze di una popolazione che sviluppa e continua la sua coltivazione”.

Come riportato nel PNBA, questa definizione viene integrata da quelle fornite dalle varie leggi regionali italiane in materia di tutela delle risorse genetiche autoctone (di fatto le razze e varietà locali), che, in sintesi, vengono indicate come specie, razze, varietà, cultivar, popolazioni, ecotipi e cloni originari di un territorio regionale, oppure di origine esterna, purché introdotte da almeno 50 anni in esso ed integrate tradizionalmente nell'agricoltura e nell'allevamento di quel territorio. Rientrano in tale ambito anche le varietà locali attualmente scomparse dal territorio regionale, ma conservate presso orti botanici, allevamenti o centri di ricerca presenti in altre Regioni.

È piuttosto evidente che la varietà locale non può e non deve, essere slegata dal territorio di origine (bioterritorio) inteso, quest'ultimo, come luogo nel quale essa, grazie all'azione degli agricoltori, ha manifestato nel tempo il proprio adattamento.

### **Specie coltivate e selvatiche**

Generalmente nell'individuare le tecniche di conservazione del germoplasma si fa riferimento a due classi di risorse genetiche: le specie selvatiche e quelle domestiche. Le prime sono meglio conservate nei loro habitat naturali e all'interno delle comunità vegetali di cui fanno parte. Nei casi in cui questi siano in pericolo è necessario ricorrere a forme specifiche di protezione. Questa può avvenire nelle riserve forestali, in aree protette, in speciali riserve genetiche oppure ex situ, per esempio nelle banche del germoplasma.

Tutte le specie coltivate, al contrario, richiedono misure attive sul territorio per la loro conservazione. La conservazione ex situ si distingue da quella in situ perché il materiale vegetale viene conservato in luoghi diversi da quelli di origine. L'ex situ può essere un sistema dinamico se le popolazioni delle specie domestiche o selvatiche sono mantenute in habitat dove sono comunque esposte ad una pressione selettiva, mentre risulta statico nel caso in cui la ricombinazione con materiale esterno sia impedita e l'erosione genetica di ciascuna accessione minimizzata, come pure minimizzata è la pressione selettiva.

Per molti anni si è adottata principalmente la conservazione ex situ, mantenendo le Risorse Genetiche Vegetali (RGV) in ambienti controllati lontani dal luogo di origine e sottraendole alla loro logica

evoluzione nel tempo e alla pressione selettiva di fattori antropici e ambientali. Si è trascurata così la possibilità che fossero proprio gli agricoltori, nei loro campi, a svolgere questa importante funzione di conservatori della diversità di interesse agrario. Nel rapido processo di modernizzazione, il mantenimento in coltivazione delle vecchie varietà tradizionali, spesso poco produttive, era visto dagli agricoltori più giovani come una sorta di legaccio che imbrigliava la comunità rurale ad un passato da cui stava cercando di emanciparsi. In realtà, si è poi visto che molto si è perso, ma molto si è conservato in situ proprio grazie al mantenimento in coltivazione di alcune vecchie varietà per l'autoconsumo familiare e all'interno di comunità rurali più rivolte alla tradizione, in areali spesso marginali.

In sintesi si ricordano le caratteristiche dei sistemi di conservazione *ex situ* ed *in situ/on farm*. La prima è una conservazione in apposite strutture e con mezzi diversi a seconda della specie. Ad eccezione che per i campi collezione, si tratta di un sistema praticamente statico, almeno durante la fase di conservazione, anche se è possibile l'insorgenza di variazioni o la perdita di diversità genetica in fase di rigenerazione del materiale in campo, quando gli standard non vengano rispettati. La conservazione *in situ* è una conservazione degli ecosistemi e degli habitat naturali e il mantenimento delle popolazioni e delle specie sia selvatiche sia coltivate al loro interno, ovvero all'interno degli ambienti dove, esse hanno evoluto le loro caratteristiche distintive. Si tratta di un sistema di conservazione dinamico: le diverse popolazioni si adattano continuamente alle pressioni selettive biotiche (inclusa la pressione antropica) e abiotiche. La conservazione *in situ* delle specie coltivate è definita generalmente *on farm*.

I due sistemi - *ex situ* e *in situ/on farm* - non devono essere visti come alternativi, ma come possibili azioni complementari di salvaguardia della diversità. Infatti, quando non sia possibile attuare la conservazione *in situ/on farm* di una certa risorsa genetica, almeno quella *ex situ* ne garantisce la sopravvivenza. In particolare, si ritiene comunque che la conservazione *in situ/on farm* si adatti meglio alle varietà locali, che sono state selezionate e conservate per centinaia di anni dagli agricoltori e sono, di fatto, un "sistema" biologico-culturale-territoriale e non solo un'entità biologica. Siccome in tal caso l'agricoltore è la figura centrale di questo sistema, sicuramente egli rappresenta l'attore principale dell'attività di conservazione e ne deriva, quindi, che tale centralità debba essere opportunamente tenuta in considerazione in tutti i progetti di conservazione *on farm*. In alcuni contesti è opportuno dare risalto alla conservazione fatta dagli agricoltori e sostenere le iniziative presenti sul territorio che operano in questo senso, anche per sviluppare responsabilità e consapevolezza nei detentori locali delle risorse.

### **La conservazione *ex situ***

In definitiva, i programmi di conservazione *ex situ* non solo sono complementari di quelli *in situ*, ma talvolta sono gli unici che possono essere adottati in alcune situazioni. Da un punto di vista genetico la conservazione *ex situ* mantiene una situazione genetica statica, mentre la conservazione *in situ* consente l'evoluzione. Evoluzione significa cambiamento della ricchezza di varianti genetiche, ma non è dato sapere a priori se in aumento o in diminuzione. Per le piccole popolazioni, l'evoluzione generalmente va verso una riduzione di diversità genetica, che potrebbe culminare nella definitiva estinzione della popolazione. In tal caso la conservazione *ex situ* è in grado di garantire il mantenimento di un più elevato livello di diversità rispetto all'*in situ*. Inoltre, per le specie di interesse



agrario ed agroalimentare, dove l'intensità del rischio di erosione/ estinzione può drasticamente mutare, anche in tempi molto brevi, la conservazione ex situ garantisce il mantenimento di specifici genotipi, popolazioni, varietà, razze, ceppi, ecc. e/o la loro reintroduzione in coltivazione ove siano andati persi.

In sintesi, la conservazione ex situ diventa lo strumento obbligatorio di conservazione quando:

- le popolazioni sono sottoposte agli effetti fortemente impattanti dell'attività antropica, quali ad esempio la sostituzione di razze e varietà locali con altre aliene al territorio (come l'introduzione di varietà moderne);
- i cambiamenti delle condizioni ambientali o socio-economiche mutano radicalmente la struttura e la vocazione di un territorio, con abbandono dell'agricoltura;
- l'area di coltivazione di una determinata popolazione si riduce costantemente per cause diverse e c'è un alto rischio di estinzione.

Per individuare le tecniche di conservazione più adeguate ed efficaci, occorre conoscere bene la biologia della specie (soprattutto quella riproduttiva) e la struttura genetica delle sue popolazioni e può essere realizzata con modalità differenti, sinteticamente raggruppate come segue:

- collezioni di piante in pieno campo, in vaso, in serra;
- collezioni di semi mantenute in banche di semi o banche del germoplasma (modalità molto diffusa);
- collezioni di materiale di propagazione, plantule, tessuti e altro, mantenute in vitro o in crioconservazione.

Tutto il materiale conservato ex situ dovrebbe essere gestito in modo da minimizzare i rischi in caso di catastrofi naturali, problemi tecnici, danni biologici, problemi socio-economici, ecc. Le procedure di protezione, quindi, devono prevedere continui monitoraggi del materiale e, in particolare, la conservazione di duplicati del germoplasma in differenti località.

La gestione delle popolazioni ex situ, inoltre, deve essere attenta a evitare qualsiasi intervento che possa minare l'integrità genetica e la vitalità del materiale (riduzione della diversità genetica, selezione artificiale, trasmissione di agenti patogeni, ibridazioni non controllate, ecc.). Altresì, va posta particolare attenzione alla raccolta del numero minimo di genotipi in grado di garantire la massima diversità della popolazione, ovviamente in rapporto ai limiti logistici e finanziari.

### **La conservazione *in situ***

La conservazione in situ/on farm. Questa modalità di conservazione è dinamica, le popolazioni cambiano continuamente in risposta alle pressioni selettive cui sono sottoposte e dall'ambiente pedoclimatico in cui si trovano, consentendo la possibilità di adattamento delle specie o popolazioni ed è anche possibile una co-evoluzione fra diversi esseri viventi. Ne deriva, quindi, che sarebbe più opportuno parlare di "salvaguardia" invece che di "conservazione", in quanto quest'ultimo termine ha una connotazione di staticità.

In quest'ottica, la conservazione in situ/on farm risulta avere un approccio olistico alla salvaguardia della biodiversità dell'agro-ecosistema, ovvero tende a salvaguardare tutte le forme viventi presenti in questa situazione, siano esse coltivate o spontanee, ma soprattutto non trascura il mantenimento, se non il potenziamento, del complesso di relazioni che fra esse si vengono a sviluppare. In un tale contesto ben si inquadra la conservazione delle varietà locali, che sono state a lungo, senza soluzione

temporale, coltivate in una certa località e da una certa comunità umana, così da poter essere definite nel gergo comune “autoctone”, ovvero “da sempre” li coltivate. In merito alla presenza “da sempre” in un dato territorio è opportuna una precisazione. Per le specie annuali propagate per seme cinquanta cicli riproduttivi (50 anni circa) di continuato mantenimento di una popolazione in un certo areale può essere considerato un tempo sufficiente perché una varietà abbia sviluppato quelle caratteristiche di adattamento e di legame con l’ambiente (includendo anche l’ambiente antropico) tali da poterla definire “locale”. Va rilevata comunque la difficoltà ad individuare un arco temporale preciso e definito, trascorso il quale una varietà si possa considerare “adattata” e pertanto la soglia dei 50 anni fornita è da considerare del tutto indicativa. Per alcune specie poliennali arboree o arbustive, inoltre, 50 anni sono un periodo insufficiente a ritenerle adattate ad un certo luogo e dunque “locali”.

Dalle considerazioni sui tempi ne segue che azioni di reintroduzione di varietà locali in un territorio o di sviluppo/selezione di nuove popolazioni a partire da varietà locali (azioni che pure contribuiscono a mantenere diversità utile all’uomo) non dovrebbero essere considerate sotto il termine di “conservazione on farm”. Infatti, la “reintroduzione” – argomento di particolare attualità - quando si riferisce a popolazioni conservate per decenni ex situ, può portare alla coltivazione di soggetti mancanti di quell’adattamento alle condizioni fisiche, biologiche e culturali dell’areale di reintroduzione che contraddistingue le varietà locali. In altre parole, il momento della reintroduzione fa partire un nuovo processo di adattamento che, col tempo, porterà queste popolazioni a diventare vere e proprie varietà locali, diverse da quelle originali.

È pur vero che spesso il confine tra reintroduzione e scambio di materiale di propagazione in un areale (soprattutto se questo è di grandi dimensioni e con variabili condizioni pedo-climatiche) è piuttosto labile. Ed è altrettanto vero che far evolvere materiale genetico non perfettamente adattato ad un determinato ambiente può essere comunque utile alla conservazione (es. spostamento delle frequenze di alleli rari o poco rappresentati nell’ambiente originario, ecc.). Inoltre, la reintroduzione (anche in areali contigui) è talvolta necessaria quando la varietà sia completamente scomparsa dalla coltivazione e non sia possibile reintrodurla nello stesso areale per mutamenti dell’ambiente o del tessuto sociale. La conservazione in situ/on farm deve essere svolta in modo da permettere alla popolazione/varietà locale di mantenere tutta la variabilità che la contraddistingue e di rimanere in equilibrio con l’ambiente di coltivazione in cui ha evoluto le proprie caratteristiche distintive, in modo tale che queste ultime non vengano perse. A tale scopo è particolarmente importante pianificare l’attività di produzione del materiale di moltiplicazione, che deve avvenire nell’areale di origine e in condizioni tali da evitare inquinamenti sia di tipo meccanico (inquinamenti durante la semina, la raccolta, lo stoccaggio) sia di tipo genetico.

I primi sono più semplici da controllare, i secondi, invece, possono essere più problematici e dipendono dalla specie (se autogama o allogama e in quest’ultimo caso se l’impollinazione è anemofila o entomofila), dalle condizioni orografiche dell’area di moltiplicazione, dalle superfici moltiplicate, dalle condizioni climatiche, ecc.

Per quanto riguarda azioni di sviluppo di nuove popolazioni/varietà tramite incrocio con altre varietà o azioni di selezione volte a individuare, mantenere e propagare solo alcuni genotipi, è ovvio che queste azioni possano stravolgere la costituzione genetica e quindi le caratteristiche delle varietà locali.

La variabilità genetica è la base di ogni lavoro di miglioramento genetico e le varietà locali sono state la materia prima da cui è iniziato il lavoro della ricerca scientifica fin dall'inizio del XX secolo per produrre le varietà migliorate o "moderne" e ancora oggi molte varietà di ortive e di foraggiere (graminacee e leguminose) sono ottenute da selezione entro varietà locali. In quest'ottica ogni processo di selezione porta a una riduzione di diversità rispetto al materiale originario, perché si attuano scelte specifiche dettate dagli obiettivi del programma di miglioramento. Recentemente un approccio interessante per l'utilizzo di tale variabilità nel miglioramento genetico è offerto dal breeding partecipativo (Participatory Plant Breeding), il cui scopo resta - al pari del breeding classico - l'ottenimento di varietà migliorate, ma prevedendo la partecipazione degli agricoltori al processo di selezione e puntando all'ottenimento di varietà a larga base genetica.

## 2.0 Risultati

### 2.1 Analisi di valutazione dell'erosione genetica/estinzione

RGV	NOME VARIETA'	C. RIPAGNOLA	DUNE COSTIERE	MAR PICCOLO
ERBACEE	1 Fava Viola		X	

Punti di Forza	Punti di debolezza
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Apprezzata per le caratteristiche organolettiche in quanto più tenera e saporita rispetto alle più diffuse varietà commerciali.</li> <li>✓ Vocazione del territorio per la produzione di leguminose/cereali e foraggiere</li> <li>✓ Interesse di alcuni giovani imprenditori per l'avvio dell'attività legata alla diffusione della filiera corta</li> <li>✓ Imprese-filiera capaci di valorizzare piccoli quantitativi su segmenti di nicchia</li> <li>✓ Agricoltura contadina, non intensiva, tecniche tradizionali</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Bassa produttività rispetto alle moderne varietà commerciali</li> <li>✓ Numero di coltivatori molto basso</li> <li>✓ Superficie agricola coltivata con la varietà molto bassa</li> <li>✓ Persistenza della varietà locale solo per autoconsumo</li> <li>✓ Scarsa vocazione alla diversificazione delle produzioni e scarsa integrazione tra i settori produttivi</li> </ul>
Opportunità	Minacce
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Offerta turistica diversificata (turismo balneare, rurale, culturale, naturalistico)</li> <li>✓ Connessione delle aziende produttrici con attività turistiche in un'area in cui il settore è sviluppato e rilevante</li> <li>✓ Esperienze consolidate di turismo e agricoltura sostenibile in linea con la tutela dell'agrobiodiversità</li> <li>✓ Piatti tipici a base di legumi</li> <li>✓ Sviluppo delle forme di commercializzazione di filiera corta</li> <li>✓ Crescente interesse dei consumatori per i prodotti locali e tipici</li> <li>✓ Interesse della GDO per l'approvvigionamento e/o la valorizzazione di prodotti locali</li> <li>✓ Domanda crescente di prodotti alimentari legati ai territori di origine</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Età avanzata degli imprenditori nel settore e insufficiente interesse dei giovani</li> <li>✓ Cambiamenti climatici che provocano eventi meteorologici estremi</li> <li>✓ Mercato ortofrutticolo con fluttuazioni elevate</li> <li>✓ Danni da fauna selvatica</li> <li>✓ Caratteristiche del prodotto non sufficienti per la commercializzazione con la GDO</li> </ul>

Scenario SWOT	<b>Progetto di recupero con possibilità di successo, tuttavia influenzato eccessivamente da elementi di analisi esterni.</b>
Grado di rischio di erosione genetica:	<b>22 - rischio alto</b>

RGV	NOME VARIETA'	C. RIPAGNOLA	DUNE COSTIERE	MAR PICCOLO
ERBACEE	2 Grano duro San Pasquale			X

Punti di Forza	Punti di debolezza
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Varietà già localmente diffusa sul territorio in passato nell'arco Ionico.</li> <li>✓ In passato molto apprezzato per la produzione di pasta</li> <li>✓ Dati relativi ai caratteri degli sfarinati integrali già rilevati e conosciuti: proteine, indice di giallo, indice di bruno, indice di glutine, carotenoidi, polifenoli.</li> <li>✓ Vocazione del territorio per la produzione di cereali e foraggiere</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Varietà di grano con scarsa produttività</li> <li>✓ Attualmente risulta coltivata e conservata solo presso enti pubblici.</li> <li>✓ Produzioni tipiche valorizzate e poco integrate con l'offerta turistica</li> <li>✓ Invecchiamento del tessuto imprenditoriale agricolo poco avvezzo all'innovazione e al recupero di varietà antiche.</li> </ul>
Opportunità	Minacce
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Crescente interesse dei consumatori per i prodotti locali e tipici</li> <li>✓ Buona propensione dei giovani al lavoro nei settori agricolo e artigianale.</li> <li>✓ Forte presenza di strutture e aziende per la trasformazione dei prodotti agro-alimentari</li> <li>✓ Presenza di un'agricoltura contadina non intensiva e tecniche tradizionali.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Età avanzata degli imprenditori nel settore e insufficiente interesse dei giovani</li> <li>✓ Cambiamenti climatici che provocano eventi meteorologici estremi</li> <li>✓ Abbandono delle campagne</li> <li>✓ Danni da fauna selvatica</li> </ul>

Scenario SWOT	<b>Progetto di recupero incerto a causa di una neutralità degli elementi in analisi. Il controllo delle leve di valorizzazione può essere difficile per la numerosità di quelle esterne.</b>
Grado di rischio di erosione genetica:	<b>23 - rischio alto</b>

RGV	NOME VARIETA'	C. RIPAGNOLA	DUNE COSTIERE	MAR PICCOLO
ERBACEE	3 Grano tenero Bianchetta	X	X	X

Punti di Forza	Punti di debolezza
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Varietà già localmente diffusa in passato in tutta la Puglia quindi adattabile alle tre aree del progetto.</li> <li>✓ Coltivazione associata alla preparazione di pietanze tipiche (Grano dei morti, ciccecuotte, colva)</li> <li>✓ Coltivazione della Bianchetta anche per l'utilizzo in campo zootecnico</li> <li>✓ Si adatta alla coltivazione sia in pianura sia in collina, succede bene al grano duro e sopportava i ringrani.</li> <li>✓ Dati relativi ai caratteri degli sfarinati integrali già rilevati e conosciuti: proteine, indice di giallo, indice di bruno, indice di glutine, carotenoidi, polifenoli.</li> <li>✓ Vocazione del territorio per la produzione di cereali e foraggiere</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Varietà di grano con scarsa produttività Attualmente risulta coltivato e conservato solo presso Enti pubblici.</li> <li>✓ Produzioni tipiche valorizzate e poco integrate con l'offerta turistica</li> <li>✓ Invecchiamento del tessuto imprenditoriale agricolo poco avvezzo all'innovazione e al recupero di varietà antiche.</li> <li>✓ Dati relativi alle caratteristiche produttive rilevati e conosciuti solo in parte: componenti della produzione e resistenze alle fiosiopatie</li> </ul>
Opportunità	Minacce
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Crescente interesse dei consumatori per i prodotti locali e tipici</li> <li>✓ Buona propensione dei giovani al lavoro nei settori agricolo e artigianale.</li> <li>✓ Forte presenza di strutture e aziende per la trasformazione dei prodotti agro-alimentari</li> <li>✓ Presenza di un'agricoltura contadina non intensiva e tecniche tradizionali.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Età avanzata degli imprenditori nel settore e insufficiente interesse dei giovani</li> <li>✓ Cambiamenti climatici che provocano eventi meteorologici estremi</li> <li>✓ Abbandono delle campagne</li> <li>✓ Danni da fauna selvatica</li> </ul>

Scenario SWOT	<b>Progetto di recupero con esito plausibilmente positivo. Valorizzazione dipendente in maniera consistente da elementi esterni di analisi.</b>
Grado di rischio di erosione genetica:	<b>19 - rischio alto</b>

RGV	NOME VARIETA'	C. RIPAGNOLA	DUNE COSTIERE	MAR PICCOLO
FORAGGERE	4 Trifoglio sotterraneo	X		

Punti di Forza	Punti di debolezza
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Varietà foraggera tradizionalmente coltivata in Puglia</li> <li>✓ Vocazione del territorio per la produzione di leguminose/cereali e foraggiere</li> <li>✓ Presenza di tre varietà botaniche o sottospecie con conseguente maggiore ampiezza della tolleranza agro-climatica e pedologica</li> <li>✓ Cresce bene anche lì dove è difficile operare speditamente con i mezzi meccanici</li> <li>✓ Il trifoglio sotterraneo si adatta a tutti i tipi di terreno e, in funzione del pH e del grado di umidità, si può scegliere la sottospecie più adatta alla particolare situazione edafica.</li> <li>✓ Forte e rapido accrescimento</li> <li>✓ Cotico erboso molto denso e compatto adatto al pascolamento</li> <li>✓ Per la sua preziosa caratteristica di autorisemina, questa sottospecie, se ben utilizzata, diventa perennante e può risultare utilissima per il miglioramento del cotico erboso dei pascoli naturali e dei terreni arabili</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Il forte geocarpismo può rendere difficile la raccolta e il pascolamento</li> <li>✓ Utilizzo ai fini esclusivamente zootecnici</li> </ul>
Opportunità	Minacce
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Buona propensione dei giovani al lavoro nei settori agricolo e artigianale.</li> <li>✓ Presenza di un'agricoltura contadina non intensiva e tecniche tradizionali.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Subisce la concorrenza dei foraggi commerciali selezionati per l'alimentazione animale</li> <li>✓ Numero di coltivatori molto basso</li> <li>✓ Cambiamenti climatici che provocano eventi meteorologici estremi</li> <li>✓ Danni da fauna selvatica</li> </ul>

Scenario SWOT	<b>Progetto di recupero con esito plausibilmente positivo. È possibile far leva su una quantità elevata di elementi interni del sistema di analisi.</b>
Grado di rischio di erosione genetica:	<b>23 - rischio alto</b>

RGV	NOME VARIETA'	C. RIPAGNOLA	DUNE COSTIERE	MAR PICCOLO
FORAGGERE	5 Trifoglio incarnato	X		

Punti di Forza	Punti di debolezza
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Varietà foraggera tradizionalmente coltivata in Puglia</li> <li>✓ Vocazione del territorio per la produzione di leguminose/cereali e foraggiere</li> <li>✓ adattata al clima mediterraneo,</li> <li>✓ interessante produzione su terreni sciolti e asciutti.</li> <li>✓ alimento zootecnico molto palatabile e digeribile purché la raccolta sia effettuata con piante in fioritura.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Utilizzo ai fini esclusivamente zootecnici</li> <li>✓ Raccolte tardive possono causare problemi agli animali a causa dei numerosi peli ispidi del calice dei fiori</li> </ul>
Opportunità	Minacce
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Buona propensione dei giovani al lavoro nei settori agricolo e artigianale.</li> <li>✓ Presenza di un'agricoltura contadina non intensiva e tecniche tradizionali.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Subisce la concorrenza dei foraggi commerciali selezionati per l'alimentazione animale</li> <li>✓ Numero di coltivatori molto basso</li> <li>✓ Cambiamenti climatici che provocano eventi meteorologici estremi</li> <li>✓ Danni da fauna selvatica</li> </ul>

Scenario SWOT	<b>Progetto di recupero con esito incerto. È possibile far leva su una quantità elevata di elementi interni del sistema di analisi.</b>
Grado di rischio di erosione genetica:	<b>24 - rischio alto</b>



RGV	NOME VARIETA'	C. RIPAGNOLA	DUNE COSTIERE	MAR PICCOLO
FRUTTIFERI	6 Fico Petrelli	X	X	

Punti di Forza	Punti di debolezza
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Varietà conosciuta, caratterizzata e conservata in 3 enti di ricerca</li> <li>✓ Particolarmente diffuso in Puglia, specificatamente nelle aree di progetto, dove rappresenta una specificità territoriale.</li> <li>✓ Per via della variabilità intravarietale è possibile ritrovare anche cloni particolarmente precoci.</li> <li>✓ Presenza di tecniche tradizionali consolidate (inoleazione, caprificazione, attrazione dei pronubi con frutta matura)</li> <li>✓ Interesse di alcuni giovani imprenditori per l'avvio dell'attività legata alla diffusione della filiera corta di prodotti freschi</li> <li>✓ Imprese-filiera capaci di valorizzare piccoli quantitativi su segmenti di nicchia</li> <li>✓ Agricoltura contadina, non intensiva, tecniche tradizionali</li> <li>✓ Vigoria elevata della pianta</li> <li>✓ Elevata produttività</li> <li>✓ Pianta non particolarmente esigente</li> <li>✓ Media scalarità di maturazione</li> <li>✓ facile distacco del frutto dal peduncolo</li> <li>✓ elevata succosità e dolcezza</li> <li>✓ Resistente alla siccità e ai terreni salsi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Elevata variabilità intravarietale ne rende difficile il riconoscimento univoco</li> <li>✓ Numero di coltivatori molto basso</li> <li>✓ Persistenza della varietà locale solo per autoconsumo</li> <li>✓ Scarsa resistenza alle manipolazioni, soprattutto dei forniti</li> <li>✓ Vivai locali non ancora pronti a produrre materiale vegetale di varietà locali</li> </ul>
Opportunità	Minacce
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Connessione delle aziende produttrici con attività turistiche in un'area in cui il settore è sviluppato e rilevante</li> <li>✓ Sviluppo delle forme di commercializzazione di filiera corta</li> <li>✓ Crescente interesse dei consumatori per i prodotti locali e tipici</li> <li>✓ Interesse della GDO per l'approvvigionamento e/o la valorizzazione di prodotti locali</li> <li>✓ Domanda crescente di prodotti alimentari legati ai territori di origine</li> <li>✓ Offerta turistica diversificata nell'area di possibile coltivazione (turismo balneare, rurale, culturale, naturalistico)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Età avanzata degli imprenditori nel settore e insufficiente interesse dei giovani</li> <li>✓ Cambiamenti climatici che provocano eventi meteorologici estremi</li> <li>✓ Mercato ortofrutticolo con fluttuazioni elevate</li> <li>✓ Danni da fauna selvatica</li> <li>✓ Caratteristiche del prodotto non sufficienti per la commercializzazione con la GDO</li> <li>✓ Scarsa vocazione alla diversificazione delle produzioni e scarsa integrazione tra i settori produttivi</li> </ul>

Scenario SWOT	<b>Progetto di recupero con esito plausibilmente positivo, tuttavia sono molti gli elementi esterni che</b>
---------------	---

	<b>influiscono sulla riuscita del percorso di valorizzazione.</b>
Grado di rischio di erosione genetica:	<b>11 - rischio medio</b>

RGV	NOME VARIETA'	C. RIPAGNOLA	DUNE COSTIERE	MAR PICCOLO
FRUTTIFERI	7 Fico Verdesca		X	X

Punti di Forza	Punti di debolezza
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Varietà conosciuta, caratterizzata e conservata in 2 enti di ricerca</li> <li>✓ Particolarmente diffuso in provincia di Brindisi e Taranto, dove rappresenta una specificità territoriale.</li> <li>✓ Interesse di alcuni giovani imprenditori per l'avvio dell'attività legata alla diffusione della filiera corta di prodotti freschi e trasformati (fichi secchi, marmellata di fichi)</li> <li>✓ Imprese-filiera capaci di valorizzare piccoli quantitativi su segmenti di nicchia</li> <li>✓ Agricoltura contadina, non intensiva, tecniche tradizionali</li> <li>✓ Vigoria elevata</li> <li>✓ Facile distacco del peduncolo</li> <li>✓ Varietà dal sapore acidulo e aromatico, molto gradevole, sapore intenso ed elevata succosità e dolcezza</li> <li>✓ Non presenta particolari esigenze agronomiche.</li> <li>✓ Elevata resistenza alle manipolazioni.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ media scalarità di maturazione.</li> <li>✓ Numero di coltivatori molto basso</li> <li>✓ Pochi individui isolati della varietà</li> <li>✓ Persistenza della varietà locale solo per autoconsumo</li> <li>✓ Scarsa resistenza alle manipolazioni, soprattutto dei forniti</li> <li>✓ Vivai locali non ancora pronti a produrre materiale vegetale di varietà locali</li> </ul>
Opportunità	Minacce
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Connessione delle aziende produttrici con attività turistiche in un'area in cui il settore è sviluppato e rilevante</li> <li>✓ Sviluppo delle forme di commercializzazione di filiera corta</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Età avanzata degli imprenditori nel settore e insufficiente interesse dei giovani</li> <li>✓ Cambiamenti climatici che provocano eventi meteorologici estremi</li> <li>✓ Mercato ortofrutticolo con fluttuazioni elevate</li> </ul>

<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Crescente interesse dei consumatori per i prodotti locali e tipici</li> <li>✓ Interesse della GDO per l'approvvigionamento e/o la valorizzazione di prodotti locali</li> <li>✓ Domanda crescente di prodotti alimentari legati ai territori di origine</li> <li>✓ Offerta turistica diversificata nell'area di possibile coltivazione (turismo balneare, rurale, culturale, naturalistico)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Danni da fauna selvatica</li> <li>✓ Caratteristiche del prodotto non sufficienti per la commercializzazione con la GDO</li> <li>✓ Scarsa vocazione alla diversificazione delle produzioni e scarsa integrazione tra i settori produttivi</li> </ul>
--	--

Scenario SWOT	<p><b>Progetto di recupero con esito plausibilmente positivo, tuttavia sono molti gli elementi esterni che influiscono sulla riuscita del percorso di valorizzazione.</b></p>
Grado di rischio di erosione genetica:	<p><b>20 - rischio alto</b></p>

<b>RGV</b>	<b>NOME VARIETA'</b>	<b>C. RIPAGNOLA</b>	<b>DUNE COSTIERE</b>	<b>MAR PICCOLO</b>
<b>FRUTTIFERI</b>	<b>8 Pero Gentile reale</b>	<b>X</b>		<b>X</b>

<b>Punti di Forza</b>	<b>Punti di debolezza</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Varietà conosciuta, caratterizzata e conservata in un ente di ricerca</li> <li>✓ Particolarmente diffuso in Puglia. Soprattutto nel barese e tarantino.</li> <li>✓ Interesse di alcuni giovani imprenditori per l'avvio dell'attività legata alla diffusione della filiera corta di prodotti freschi e trasformati (succo, purea, confettura)</li> <li>✓ Imprese-filiera capaci di valorizzare piccoli quantitativi su segmenti di nicchia</li> <li>✓ Agricoltura contadina, non intensiva, tecniche tradizionali</li> <li>✓ Caratteristiche organolettiche apprezzabili</li> <li>✓ Caratteristiche agronomiche discrete</li> <li>✓ Si adatta a tutti gli ambienti pedoclimatici regionali, varietà rustica,</li> <li>✓ mediamente resistente a ticchiolatura.</li> <li>✓ Buona pezzatura,</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Produttività elevata</li> <li>✓ Numero di coltivatori molto basso</li> <li>✓ Pochi individui isolati della varietà</li> <li>✓ Persistenza della varietà locale solo per autoconsumo e al mercato interno</li> <li>✓ scarsa resistenza alle manipolazioni</li> <li>✓ Vivai locali non ancora pronti a produrre materiale vegetale di varietà locali</li> </ul>
<b>Opportunità</b>	<b>Minacce</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Connessione delle aziende produttrici con attività turistiche in un'area in cui il settore è sviluppato e rilevante</li> <li>✓ Sviluppo delle forme di commercializzazione di filiera corta</li> <li>✓ Crescente interesse dei consumatori per i prodotti locali e tipici</li> <li>✓ Interesse della GDO per l'approvvigionamento e/o la valorizzazione di prodotti locali</li> <li>✓ Domanda crescente di prodotti alimentari legati ai territori di origine</li> <li>✓ Offerta turistica diversificata nell'area di possibile coltivazione (turismo balneare, rurale, culturale, naturalistico)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Età avanzata degli imprenditori nel settore e insufficiente interesse dei giovani</li> <li>✓ Cambiamenti climatici che provocano eventi meteorologici estremi</li> <li>✓ Mercato ortofrutticolo con fluttuazioni elevate</li> <li>✓ Danni da fauna selvatica</li> <li>✓ Caratteristiche del prodotto non sufficienti per la commercializzazione con la GDO</li> <li>✓ Scarsa vocazione alla diversificazione delle produzioni e scarsa integrazione tra i settori produttivi</li> </ul>

Scenario SWOT	<b>Progetto di recupero con esito plausibilmente positivo, tuttavia sono molti gli elementi esterni che influiscono sulla riuscita del percorso di valorizzazione.</b>
Grado di rischio di erosione genetica:	<b>18 - rischio medio</b>

<b>RGV</b>	<b>NOME VARIETA'</b>	<b>C. RIPAGNOLA</b>	<b>DUNE COSTIERE</b>	<b>MAR PICCOLO</b>
<b>FRUTTIFERI</b>	<b>9 Pero Recchia falsa</b>	<b>X</b>	<b>X</b>	

<b>Punti di Forza</b>	<b>Punti di debolezza</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Varietà conosciuta, caratterizzata e conservata in 2 enti di ricerca</li> <li>✓ Particolarmente diffuso in Puglia: soprattutto nel barese e tarantino.</li> <li>✓ citata fra le migliori pere estive della Regione perché matura in un periodo in cui non ci sono le varietà straniere sul mercato</li> <li>✓ molto precoce</li> <li>✓ descritta come ottima varietà da tavola.</li> <li>✓ Elevata produttività e caratteristiche agronomiche discrete</li> <li>✓ Si adatta a tutti gli ambienti pedoclimatici regionali, varietà rustica, mediamente resistente a ticchiolatura</li> <li>✓ Sapore molto buono, dolce, con retrogusto leggermente acidulo.</li> <li>✓ Adatta per il consumo fresco, ma anche per la trasformazione in succo, purea, confettura (molto zuccherina, nella trasformazione necessita di poco zucchero)</li> <li>✓ Interesse di alcuni giovani imprenditori per l'avvio dell'attività legata alla diffusione della filiera corta di prodotti freschi e trasformati (purea, confettura)</li> <li>✓ Imprese-filiera capaci di valorizzare piccoli quantitativi su segmenti di nicchia</li> <li>✓ Agricoltura contadina, non intensiva, tecniche tradizionali</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Media vigoria</li> <li>✓ L'elevata varietà intravarietale ne rende difficile il riconoscimento univoco anche a causa dei diversi casi di sinonimia</li> <li>✓ Numero di coltivatori molto basso</li> <li>✓ Pochi individui isolati della varietà</li> <li>✓ Persistenza della varietà locale solo per autoconsumo e al mercato interno</li> <li>✓ Vivai locali non ancora pronti a produrre materiale vegetale di varietà locali</li> </ul>
<b>Opportunità</b>	<b>Minacce</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Connessione delle aziende produttrici con attività turistiche in un'area in cui il settore è sviluppato e rilevante</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Età avanzata degli imprenditori nel settore e insufficiente interesse dei giovani</li> <li>✓ Cambiamenti climatici che provocano eventi</li> </ul>

<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Sviluppo delle forme di commercializzazione di filiera corta</li> <li>✓ Crescente interesse dei consumatori per i prodotti locali e tipici</li> <li>✓ Interesse della GDO per l'approvvigionamento e/o la valorizzazione di prodotti locali</li> <li>✓ Domanda crescente di prodotti alimentari legati ai territori di origine</li> <li>✓ Offerta turistica diversificata nell'area di possibile coltivazione (turismo balneare, rurale, culturale, naturalistico)</li> </ul>	<p>meteorologici estremi</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Mercato ortofrutticolo con fluttuazioni elevate</li> <li>✓ Danni da fauna selvatica</li> <li>✓ Caratteristiche del prodotto non sufficienti per la commercializzazione con la GDO</li> <li>✓ Scarsa vocazione alla diversificazione delle produzioni e scarsa integrazione tra i settori produttivi</li> </ul>
--	--

Scenario SWOT	<b>Progetto di recupero con esito probabilmente positivo e notevoli elementi esterni in grado di condizionare l'evolversi del percorso di valorizzazione.</b>
Grado di rischio di erosione genetica:	<b>15 - rischio medio</b>

<b>RGV</b>	<b>NOME VARIETA'</b>	<b>C. RIPAGNOLA</b>	<b>DUNE COSTIERE</b>	<b>MAR PICCOLO</b>
<b>FRUTTIFERI</b>	<b>10 Susino S. Anna Ovale</b>		<b>X</b>	

<p><b>Punti di Forza</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Selezionato e conservato presso un ente pubblico</li> <li>✓ Origine molto antica</li> <li>✓ Elevata produttività</li> <li>✓ Imprese-filiera capaci di valorizzare piccoli quantitativi su segmenti di nicchia</li> <li>✓ Agricoltura contadina, non intensiva, tecniche tradizionali</li> <li>✓ Non presenta particolari esigenze agronomiche.</li> <li>✓ Varietà dal sapore acidulo e aromatico, molto gradevole.</li> </ul>	<p><b>Punti di debolezza</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Numero di coltivatori molto basso</li> <li>✓ Pochi individui isolati della varietà</li> <li>✓ Persistenza della varietà locale solo per autoconsumo e al mercato interno</li> <li>✓ Media resistenza alle manipolazioni.</li> <li>✓ Vivai locali non ancora pronti a produrre materiale vegetale di varietà locali</li> </ul>
<p><b>Opportunità</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Connessione delle aziende produttrici con attività turistiche in un'area in cui il settore è sviluppato e rilevante</li> <li>✓ Interesse di alcuni giovani imprenditori per l'avvio dell'attività legata alla diffusione della filiera corta</li> <li>✓ Imprese-filiera capaci di valorizzare piccoli quantitativi su segmenti di nicchia</li> <li>✓ Crescente interesse dei consumatori per i prodotti locali e tipici</li> <li>✓ Interesse della GDO per l'approvvigionamento e/o la valorizzazione di prodotti locali</li> <li>✓ Domanda crescente di prodotti alimentari legati ai territori di origine</li> <li>✓ Offerta turistica diversificata nell'area di possibile coltivazione (turismo balneare, rurale, culturale, naturalistico)</li> </ul>	<p><b>Minacce</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Età avanzata degli imprenditori nel settore e insufficiente interesse dei giovani</li> <li>✓ Cambiamenti climatici che provocano eventi meteorologici estremi</li> <li>✓ Mercato ortofrutticolo con fluttuazioni elevate</li> <li>✓ Danni da fauna selvatica</li> <li>✓ Caratteristiche del prodotto non sufficienti per la commercializzazione con la GDO</li> <li>✓ Scarsa vocazione alla diversificazione delle produzioni e scarsa integrazione tra i settori produttivi</li> </ul>

Scenario SWOT	<b>Progetto di recupero con esito incerto, tuttavia sono molti gli elementi esterni che influiscono sulla riuscita del percorso di valorizzazione.</b>
Grado di rischio di erosione genetica:	<b>23 - rischio alto</b>

<b>RGV</b>	<b>NOME VARIETA'</b>	<b>C. RIPAGNOLA</b>	<b>DUNE COSTIERE</b>	<b>MAR PICCOLO</b>
<b>ORTIVE</b>	<b>11 Carciofo Bianco di Taranto</b>			<b>X</b>

<p><b>Punti di Forza</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Varietà conservata presso 2 enti pubblici</li> <li>✓ tecniche e metodi di coltivazione, impianto e moltiplicazione della carciofaia, concimazione e miglioramento genetico già conosciuti e riportati in letteratura.</li> <li>✓ Produttività maggiore di 3 anni</li> <li>✓ Varietà ormai poco presente nella zona del tarantino</li> </ul>	<p><b>Punti di debolezza</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Antica varietà di carciofo coltivata solo sporadicamente negli orti della provincia di Taranto</li> <li>✓ Non rimarchevole per il contenuto di composti antiossidanti rispetto ad altre varietà locali pugliesi.</li> <li>✓ Produzioni tipiche valorizzate e poco integrate con l'offerta turistica</li> <li>✓ Invecchiamento del tessuto imprenditoriale agricolo poco avvezzo all'innovazione e al recupero di varietà antiche.</li> </ul>
<p><b>Opportunità</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Crescente interesse dei consumatori per i prodotti locali e tipici</li> <li>✓ Buona propensione dei giovani al lavoro nei settori agricolo e artigianale.</li> <li>✓ Forte presenza di strutture e aziende per la trasformazione dei prodotti agro-alimentari</li> <li>✓ Presenza di un'agricoltura contadina non intensiva e tecniche tradizionali.</li> </ul>	<p><b>Minacce</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Età avanzata degli imprenditori nel settore e insufficiente interesse dei giovani</li> <li>✓ Cambiamenti climatici che provocano eventi meteorologici estremi</li> <li>✓ Abbandono delle campagne</li> <li>✓ Danni da fauna selvatica</li> </ul>

Scenario SWOT	<b>Progetto di recupero con esito incerto, dettato prevalentemente da debolezze interne e da un consistente numero di elementi esterni di incertezza.</b>
Grado di rischio di erosione genetica:	<b>25 - rischio alto</b>



<b>RGV</b>	<b>NOME VARIETA'</b>	<b>C. RIPAGNOLA</b>	<b>DUNE COSTIERE</b>	<b>MAR PICCOLO</b>
<b>ORTIVE</b>	<b>12 Cima di Cola</b>	<b>X</b>		

<b>Punti di Forza</b>	<b>Punti di debolezza</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Varietà conservata in un ente pubblico</li> <li>✓ Produzione associata alla preparazione di pietanze tipiche</li> <li>✓ Vocazione del territorio per la produzione di ortive</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Invecchiamento del tessuto imprenditoriale agricolo poco avvezzo all'innovazione e al recupero di varietà antiche.</li> <li>✓ Caratteristiche organolettiche non sempre apprezzate (odore intenso durante la cottura e consistenza spugnosa)</li> </ul>
<b>Opportunità</b>	<b>Minacce</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Crescente interesse dei consumatori per i prodotti locali e tipici</li> <li>✓ Buona propensione dei giovani al lavoro nei settori agricolo e artigianale.</li> <li>✓ Forte presenza di strutture e aziende per la trasformazione dei prodotti agro-alimentari</li> <li>✓ Presenza di un'agricoltura contadina non intensiva e tecniche tradizionali.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Età avanzata degli imprenditori nel settore e insufficiente interesse dei giovani</li> <li>✓ Cambiamenti climatici che provocano eventi meteorologici estremi</li> <li>✓ Abbandono delle campagne</li> <li>✓ Danni da fauna selvatica</li> </ul>

Scenario SWOT	<b>Progetto di recupero con esito incerto con elementi esterni che condizionano l'esito del percorso di valorizzazione.</b>
Grado di rischio di erosione genetica:	<b>22 - rischio alto</b>

RGV	NOME VARIETA'	C. RIPAGNOLA	DUNE COSTIERE	MAR PICCOLO
ORTIVE	13 Fagiolino dall'occhio Occhiopinto	X		X

Punti di Forza	Punti di debolezza
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Varietà conservata presso un ente pubblico.</li> <li>✓ Il Fagiolino pinto viene coltivato in Puglia da tempi immemorabili ed appartiene alla tradizione agronomica che adotta tecniche di coltivazione consolidate nel tempo e riferimenti culturali tipici</li> <li>✓ Possibile reintroduzione in due aree di progetto.</li> <li>✓ Vocazione del territorio per la produzione di ortive</li> <li>✓ è molto apprezzato in Puglia e viene utilizzato in ricette legate alla tradizione locale.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Invecchiamento del tessuto imprenditoriale agricolo poco avvezzo all'innovazione e al recupero di varietà antiche.</li> <li>✓ Le citazioni rinvenute non riportano precisi riferimenti territoriali.</li> <li>✓ La produzione è medio-bassa.</li> </ul>
Opportunità	Minacce
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Crescente interesse dei consumatori per i prodotti locali e tipici</li> <li>✓ Buona propensione dei giovani al lavoro nei settori agricolo e artigianale.</li> <li>✓ Forte presenza di strutture e aziende per la trasformazione dei prodotti agro-alimentari</li> <li>✓ Presenza di un'agricoltura contadina non intensiva e tecniche tradizionali.</li> <li>✓ Interesse della GDO per l'approvvigionamento e/o la valorizzazione di prodotti locali</li> <li>✓ Domanda crescente di prodotti alimentari legati ai territori di origine</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Età avanzata degli imprenditori nel settore e insufficiente interesse dei giovani</li> <li>✓ Cambiamenti climatici che provocano eventi meteorologici estremi</li> <li>✓ Abbandono delle campagne</li> <li>✓ Danni da fauna selvatica</li> <li>✓ Caratteristiche del prodotto non sembrano sufficienti per la commercializzazione con la GDO.</li> </ul>

Scenario SWOT	<b>Progetto di recupero con esito tendenzialmente positivo con elementi esterni e interni in grado di condizionare l'esito del percorso di valorizzazione.</b>
Grado di rischio di erosione genetica:	<b>19 - rischio alto</b>

<b>RGV</b>	<b>NOME VARIETA'</b>	<b>C. RIPAGNOLA</b>	<b>DUNE COSTIERE</b>	<b>MAR PICCOLO</b>
<b>ORTIVE</b>	<b>14 Fagiolino pinto</b>	<b>X</b>		

<p><b>Punti di Forza</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Varietà conservata presso un ente pubblico.</li> <li>✓ Vocazione del territorio per la produzione di ortive</li> <li>✓ presente in Puglia da tempi antichi.</li> <li>✓ Diffuso un tempo in provincia di Bari e probabilmente anche in altre province pugliesi.</li> <li>✓ Impiegato in preparazioni culinarie tradizionali regionali.</li> <li>✓ appartiene alla tradizione agronomica che adotta tecniche di coltivazione consolidate nel tempo e riferimenti culturali tipici</li> <li>✓ pianta molto rustica</li> </ul>	<p><b>Punti di debolezza</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Invecchiamento del tessuto imprenditoriale agricolo poco avvezzo all'innovazione e al recupero di varietà antiche.</li> <li>✓ Oggi molto raro, viene coltivato quasi esclusivamente in piccoli appezzamenti di terra o in orti familiari.</li> <li>✓ Le citazioni relative alla varietà non riportano precisi riferimenti territoriali.</li> </ul>
<p><b>Opportunità</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Crescente interesse dei consumatori per i prodotti locali e tipici</li> <li>✓ Buona propensione dei giovani al lavoro nei settori agricolo e artigianale.</li> <li>✓ Forte presenza di strutture e aziende per la trasformazione dei prodotti agro-alimentari</li> <li>✓ Presenza di un'agricoltura contadina non intensiva e tecniche tradizionali.</li> <li>✓ Interesse della GDO per l'approvvigionamento e/o la valorizzazione di prodotti locali</li> <li>✓ Domanda crescente di prodotti alimentari legati ai territori di origine</li> </ul>	<p><b>Minacce</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Età avanzata degli imprenditori nel settore e insufficiente interesse dei giovani</li> <li>✓ Cambiamenti climatici che provocano eventi meteorologici estremi</li> <li>✓ Abbandono delle campagne</li> <li>✓ Danni da fauna selvatica</li> <li>✓ Caratteristiche del prodotto non sembrano sufficienti per la commercializzazione con la GDO.</li> </ul>

Scenario SWOT	<p><b>Progetto di recupero con esito plausibilmente positivo, tuttavia gli elementi al di fuori del sistema di analisi hanno una consistenza elevata pertanto in grado di condizionare l'esito del percorso di valorizzazione.</b></p>
Grado di rischio di erosione genetica:	<b>19 - rischio alto</b>

<b>RGV</b>	<b>NOME VARIETA'</b>	<b>C. RIPAGNOLA</b>	<b>DUNE COSTIERE</b>	<b>MAR PICCOLO</b>
<b>VITE</b>	<b>15 Cigliola</b>			<b>X</b>

<p><b>Punti di Forza</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Conservato presso un ente di ricerca</li> <li>✓ caratterizzata da fasi fenologiche precoci, già a partire dal germogliamento;</li> <li>✓ le fasi di fioritura, invaiatura e infine di maturazione avvengono in epoca precoce.</li> <li>✓ La produttività è regolare e costante, la fertilità buona.</li> <li>✓ si presta molto bene come base per vini da pasto</li> <li>✓ Vino con profilo olfattivo caratterizzato da discreta intensità soprattutto per le note floreali ed erbacee</li> <li>✓ buona alcolicità e struttura sono accompagnate da un ottimo equilibrio e persistenza gustativa</li> </ul>	<p><b>Punti di debolezza</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Vari casi di sinonimia nelle diverse aree regionali rendono poco conosciuto il nome della varietà</li> <li>✓ Vinificazione in scala aziendale non ancora testata.</li> <li>✓ vivai locali non ancora pronti a produrre materiale vegetale di varietà locali</li> </ul>
<p><b>Opportunità</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Connessione delle aziende produttrici con attività turistiche in un'area in cui il settore è sviluppato e rilevante</li> <li>✓ Crescente interesse dei consumatori per i prodotti locali e tipici</li> <li>✓ Domanda crescente di prodotti legati ai territori di origine</li> </ul>	<p><b>Minacce</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Età avanzata degli imprenditori nel settore e insufficiente interesse dei giovani</li> <li>✓ Cambiamenti climatici che provocano eventi meteorologici estremi</li> <li>✓ Danni da fauna selvatica</li> </ul>

Scenario SWOT	<b>Progetto di recupero con esito plausibilmente positivo con possibile coinvolgimento di leve interne positive per influenzare la buona riuscita della valorizzazione</b>
Grado di rischio di erosione genetica:	<b>19 - rischio alto</b>

<b>RGV</b>	<b>NOME VARIETA'</b>	<b>C. RIPAGNOLA</b>	<b>DUNE COSTIERE</b>	<b>MAR PICCOLO</b>
<b>VITE</b>	<b>16 Notardomenico</b>	<b>X</b>	<b>X</b>	

<p><b>Punti di Forza</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Conservato presso un ente di ricerca</li> <li>✓ Varietà da vino testata con microvinificazione a livello aziendale.</li> <li>✓ Possibile reintroduzione in due areali</li> <li>✓ Presente nel disciplinare di produzione del D.O.C. Ostuni.</li> <li>✓ Caratteri tecnologici conosciuti: medio tenore in zucchero del mosto; media acidità totale del mosto; basso pH del mosto;</li> <li>✓ elevata produzione di uva per m<sup>2</sup></li> <li>✓ Elevata la fertilità, sia basale, che distale, e la produttività.</li> <li>✓ si presta molto bene all'ottenimento di un vino rosato di pregio</li> <li>✓ se vinificato in rosso possiede buona complessità aromatica con prevalenza di note di frutta matura</li> </ul>	<p><b>Punti di debolezza</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Presente fin dai tempi antichi, con superfici sempre piuttosto modeste</li> <li>✓ Scarsa specializzazione delle produzioni: diffuso in vecchi vigneti promiscui</li> <li>✓ spesso mescolato ad altre varietà bianche, rosse e nere pertanto i caratteri varietali non sono particolarmente riconoscibili ad oggi.</li> <li>✓ Alta sinonimia: presente con altre denominazioni in differenti aree vitivinicole della regione Puglia</li> <li>✓ Vino con struttura debole pertanto non adatto all'invecchiamento</li> <li>✓ vivai locali non ancora pronti a produrre materiale vegetale di varietà locali</li> </ul>
<p><b>Opportunità</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Connessione delle aziende produttrici con attività turistiche in un'area in cui il settore è sviluppato e rilevante</li> <li>✓ Crescente interesse dei consumatori per i prodotti locali e tipici</li> <li>✓ Domanda crescente di prodotti legati ai territori di origine</li> </ul>	<p><b>Minacce</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Età avanzata degli imprenditori nel settore e insufficiente interesse dei giovani</li> <li>✓ Cambiamenti climatici che provocano eventi meteorologici estremi</li> <li>✓ Danni da fauna selvatica</li> </ul>

Scenario SWOT	<b>Progetto di recupero con esito tendenzialmente positivo con elementi negativi superabili grazie a leve di valorizzazione interne al sistema di analisi.</b>
Grado di rischio di erosione genetica:	<b>19 - rischio alto</b>

<b>RGV</b>	<b>NOME VARIETA'</b>	<b>C. RIPAGNOLA</b>	<b>DUNE COSTIERE</b>	<b>MAR PICCOLO</b>
<b>VITE</b>	<b>17 Santa Teresa</b>			<b>X</b>

<p><b>Punti di Forza</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Conservato presso un ente di ricerca</li> <li>✓ Varietà che in passato “accompagnava” il primitivo nei vigneti del tarantino.</li> <li>✓ elevata vigoria del tralcio</li> <li>✓ elevata produzione di uva per m<sup>2</sup></li> <li>✓ Caratteri tecnologici del mosto già conosciuti: basso tenore in zucchero del mosto; media acidità totale del mosto; medio valore di pH del mosto</li> <li>✓ Buona la fertilità, sia basale, che distale, e la produttività</li> <li>✓ Di gradazione abbastanza contenuta, rivela un buon tenore in acidità totale: giusto equilibrio tra il sapore acido e una discreta pienezza del corpo</li> </ul>	<p><b>Punti di debolezza</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ maturazione delle uve, abbastanza tardiva quindi aumenta il rischio per nebbie ed eccesso idrico ecc.</li> <li>✓ struttura del vino un po' scarsa</li> <li>✓ vivai locali non ancora pronti a produrre materiale vegetale di varietà locali</li> </ul>
<p><b>Opportunità</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Connessione delle aziende produttrici con attività turistiche in un'area in cui il settore è sviluppato e rilevante</li> <li>✓ Crescente interesse dei consumatori per i prodotti locali e tipici</li> <li>✓ Domanda crescente di prodotti legati ai territori di origine</li> </ul>	<p><b>Minacce</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Età avanzata degli imprenditori nel settore e insufficiente interesse dei giovani</li> <li>✓ Cambiamenti climatici che provocano eventi meteorologici estremi</li> <li>✓ Danni da fauna selvatica</li> </ul>

Scenario SWOT	<b>Progetto di recupero con esito probabilmente positivo con numerosi elementi su cui far leva per la valorizzazione.</b>
Grado di rischio di erosione genetica:	<b>20 - rischio alto</b>

## 2.2 Protocolli di conservazione

### 2.2.1 Protocollo di conservazione del seme ex situ per piante erbacee

**1. Ventilare e setacciare** i campioni per allontanare semi estranei, frammenti vegetali, terreno ed altre impurità grossolane.

**2. I lotti o campioni raccolti in campo, prima dell'invio alla banca, vanno conservati in un luogo fresco, asciutto ed ombreggiato. In particolare:**

- Evitare di lasciare il germoplasma in auto o in qualsiasi altro luogo ove vi siano alte temperature. L'esposizione ad alte temperature e all'irraggiamento diretto può, infatti, danneggiarlo o compromettere l'accessione.
- Mantenere sempre elevata la ventilazione intorno al germoplasma; avvalersi solo ed esclusivamente di buste di carta o di sacchetti in cotone, in grado di garantire una corretta traspirazione.
- Verificare sempre la corretta chiusura delle buste e dei sacchetti al fine di evitare la perdita e/o la contaminazione del germoplasma raccolto.
- Chiudere le buste preferibilmente con spilli o graffette; se si usa nastro adesivo avere cura di applicarlo solo all'esterno dell'involucro. Nel caso di semi molto piccoli può infatti accadere che all'apertura della busta questi aderiscano alla colla divenendo inutilizzabili.
- In nessun caso congelare il germoplasma prima di averlo consegnato alla banca.

**3. Accertamento dello stato fitosanitario** del materiale raccolto: è necessario documentare la presenza di patologie e lo stato sanitario della popolazione dove si sta effettuando il prelievo, nonché gli eventuali trattamenti cui è stato sottoposto il germoplasma (es.: fumigazioni, pretrattamenti fungicidi o insetticidi). Le patologie presenti nel germoplasma movimentato andrebbero sempre annotate, così come le malattie presenti nella regione di campionamento. E' altresì importante indicare se le piante sono sane in un'area notoriamente o storicamente conosciuta come soggetta ad infestazioni. Prima di una eventuale spedizione del materiale per fini scientifici e di conservazione, accertarsi che non sia necessario allegare un certificato fitosanitario; attualmente le normative comunitarie consentono la libera circolazione del germoplasma all'interno di tutti i territori dell'Unione Europea, mentre prevedono certificazioni di provenienza e documentazione fitosanitaria per i paesi terzi.

**4. Quarantena:** Prima che il materiale raccolto venga introdotto nei locali della banca è opportuno rispettare un periodo di quarantena, variabile nel tempo, durante il quale il germoplasma viene stoccato in un ambiente esterno ed isolato dalle strutture della banca. Tale procedura permette di valutare lo stato fitosanitario del materiale raccolto ed in particolare di accertare l'eventuale presenza di micosi e di parassiti fitofagi o dannosi. Non è infatti raro trovare, anche in accessioni perfettamente pulite e trattate, materiale che presenta danneggiamenti o organismi dannosi in grado di compromettere il germoplasma.

**5. Test iniziali finalizzati alla valutazione dei lotti in entrata:** se il lotto lo consente, si possono eseguire una serie di test (germinazione, vitalità, vigore, calcolo dell'umidità interna, calcolo del numero e del peso iniziale dei semi, etc.) per disporre di dati utili al fine di pianificare la destinazione dell'accessione, il numero di repliche dei test e il numero di semi per replica, nonché per monitorare la produttività del popolamento. I risultati di ogni test vengono registrati in una scheda specifica che sarà allegata a tutta la documentazione relativa all'accessione.

**6. Quantificazione dell'accessione e analisi del germoplasma:** i semi vengono contati rapportando al peso totale dei semi puliti il peso medio di un seme. Esistono diversi sistemi d'analisi d'immagine che consentono la misura del peso e del numero di semi di un campione senza che questo venga contato previamente, per fare ciò il lotto non deve però presentare impurezze. Contestualmente devono essere eseguite una serie di osservazioni sul germoplasma (tegumenti, endosperma, cotiledoni, embrione, etc.) al microscopio, allo stereoscopio o al negatoscopio in modo da poter individuare anomalie o evidenziare caratteri peculiari dell'unità tassonomica analizzata. Viene inoltre determinato il contenuto di umidità interna dei semi (mc%), indispensabile per individuare i tempi e i modi della deidratazione per la successiva conservazione.

**7. Disidratazione dei semi** mediante almeno uno dei seguenti metodi: ▪ Disidratazione ad aria forzata Armadi o celle di disidratazione: T 10-20°C

*N.B: fortemente sconsigliate, l'essiccazione a caldo (>40°C) e l'essiccazione al sole in quanto si può correre il pericolo di sovraesporre i semi a temperatura alta dopo il raggiungimento del livello desiderato di umidità. Inoltre, i semi grandi possono fessurarsi o subire distacchi dell'embrione se disidratati ad alta temperatura o troppo rapidamente.*

- Contenitori sigillati e sostanze disseccanti (es. gel di silice/cloruro di litio)
- Incubatori essiccanti
- Celle di disidratazione
- Non rilasciare sostanze che possano alterare la fisiologia del seme
- Resistere all'attacco di patogeni e saprofiti (la carta in nessuna delle sue forme è quindi idonea)
- Impedire il passaggio di umidità e gas

Si raccomanda di disidratare i semi, equilibrandoli in un ambiente con 15-20% di UR (umidità relativa) e temperatura di 15°C, provvisto di circolazione d'aria sufficiente ad evitare che si formino micro-zone con parametri diversi. L'obiettivo finale è di raggiungere un contenuto d'acqua del seme compreso tra 3,5 e 6,5%, a seconda del contenuto di olio dei semi (più olio più acqua), se il successivo stoccaggio è previsto a temperature inferiori a 0°C.

**8. Confezionamento** dei campioni per la conservazione. I contenitori adoperati per lo stoccaggio devono presentare le seguenti caratteristiche: È consigliabile utilizzare buste in triplice strato (PVP-alluminio-PVP), barattoli d'acciaio (del tipo di quelli usati per le conserve alimentari, barattoli di vetro con coperchio ermetico).



**9. Conservazione** i campioni. Le modalità di conservazione variano a seconda che avvenga nel: ▪ Medio-breve periodo (scambio di materiale con l'esterno, sperimentazione e ricerca, rigenerazione periodica, ecc.): è consigliabile conservare circa 10 buste di materiale per ciascun campione. La cella deve essere mantenuta ad una temperatura prossima a 0°C ed UR di circa 35% (per evitare gocciolamento o brinatura dovuti alla condensa dell'umidità esterna). Le buste devono essere aperte solo per le necessità sopra esposte. Questo tipo di conservazione garantisce la vitalità dei semi per un periodo superiore a 10 anni.

Lungo periodo: temperature intorno a -20°C. In queste condizioni i semi dovrebbero teoricamente avere un *lifespan* (durata della vita) superiore agli stessi campioni conservati a 0°C di un fattore attorno a 4, cioè dovrebbero mantenersi ben vitali per tempi di circa 40 anni o più.

Le **informazioni** rilevanti relative al campione devono essere riportate in **etichetta** su ogni contenitore recante semi, al fine di facilitare l'attività degli operatori. Inoltre, occorre mantenere un **database** riportante le informazioni relative al campione. Ciascun campione deve essere identificato da un numero (**numero di accessione**) che lo identifichi univocamente. Tutte le informazioni relative a questo campione debbono fare riferimento a questo numero.

**10. Gestione** dei campioni in conservazione: è necessaria una **rigenerazione periodica dei campioni in campo**, dovuta a perdita di vitalità del seme, a depauperamento del campione per motivi di scambio o attività di ricerca, al troppo lungo periodo di conservazione rispetto ai modelli previsionali, o qualsiasi altro motivo che ponga in pericolo l'integrità del campione stesso.

Attraverso un programma di campionamento, è necessario monitorare periodicamente la vitalità delle collezioni effettuando screening a random periodici. Occorre porre in atto precauzioni al fine di minimizzare effetti intrinseci di questo processo che potrebbero alterare l'integrità genetica del materiale.

Occorre moltiplicare un numero di individui rappresentativo (circa 400-500) della variabilità genetica presente nel campione.

Per le specie autogame non sono necessarie speciali precauzioni

- Per le specie allogame occorre mettere in atto misure di isolamento opportune per evitare flusso genico non desiderato
- Per le piante ad impollinazione entomofila si possono disporre tunnel o isolatori costruiti con strutture metalliche o di legno e tessuto-non-tessuto o rete anti-afidi, per impedire che pronubi provenienti da altre parcelle si diffondano. Può essere necessario inserire pronubi negli isolatori per favorire l'impollinazione. Occorre installare gli isolatori quando i primi fiori sono ancora in boccio e rimuoverli solo dopo la fine della fioritura
- Per le piante ad impollinazione anemofila occorre predisporre uno schema di campo in cui le parcelle di piante allogame siano sufficientemente spaziate per evitare la fecondazione incrociata. La distanza varia da specie a specie e da altri fattori quali la presenza di barriere naturali, come siepi frangivento, l'abito delle specie che si frappongono fra le parcelle, ecc.

### ***Riferimenti:***

LINEE GUIDA per la conservazione e la caratterizzazione della biodiversità vegetale di interesse per l'agricoltura - Piano nazionale sulla biodiversità di interesse agricolo. 2013. Allegato 4.1. ISBN 978-88-8145-261-3

Linee guida conservazione ex situ regione Puglia (bozza)

#### **2.2.2 Protocolli di conservazione delle specie arboree**

La selezione sanitaria viene effettuata in frutteti adulti, con osservazioni di campo ripetute per più volte nell'arco dell'anno in concomitanza dei periodi di massima estrinsecazione sintomatologica delle singole malattie e per più cicli vegetativi. All'indagine visiva segue sempre una indagine diagnostica per verificare il reale stato sanitario delle piante selezionate.

L'accertamento dello stato sanitario può essere effettuato mediante saggi immunoenzimatici (ELISA), trasmissioni meccaniche su ospiti erbacei differenziali, trasmissione per innesto su piante indicatrici, con tecniche di diagnosi molecolare. Alla selezione sanitaria nei programmi di miglioramento sanitario si accompagna sempre il risanamento.

Il risanamento consiste in una serie di tecniche utilizzate da sole o in combinazione tra loro che applicate alle piante malate sono in grado di liberarle in toto o in parte dall'infezione e così ottenere, per espianto e propagazione dei soli tessuti sani (gemme e/o apici meristematici) individui virus esenti.

Per le principali specie frutticole tra cui drupacee, agrumi e vite le tecniche più largamente utilizzate con le quali si sono ottenuti validi risultati sono la termoterapia, la coltura in vitro di apici meristematici e il microinnesto da sole o in combinazione tra loro.

### **Termoterapia**

La termoterapia è applicata con successo nel risanamento del materiale infetto da virus, fitoplasmi e batteri xilematici. L'impiego del calore è il metodo terapeutico più antico, più semplice e soprattutto più pratico rispetto alle altre pratiche utilizzate.

La termoterapia consiste nell'esporre il materiale vegetale infetto a fonti di calore umido o secco, per un tempo determinato sufficiente a garantire lo scopo terapeutico cercato senza compromettere irreversibilmente le funzioni vitali della pianta.

Attualmente la termoterapia viene effettuata impiegando aria calda alla temperatura di 35-38 °C. Possono essere sottoposte a trattamento termoterapico sia piante in attività vegetativa sia organi quiescenti (talee, bulbi tuberi, rizomi). Il materiale infetto viene sottoposto alle alte temperature per periodi di tempo prolungati (oltre 4 settimane).

La maggior parte dei fitovirus esclusi i viroidi, si replicano con difficoltà a temperature superiori a 32°C e si bloccano a 38°C.

Alle alte temperature pare si assista ad un blocco o rallentamento della replicazione virale; inoltre, alle alte temperature aumenterebbero i processi di senescenza che sembra sfavoriscano la sintesi virale. Tutto ciò determina una minore capacità di migrazione del virus nella pianta ed in particolare una riduzione della capacità di invasione dei tessuti in attiva crescita che in conseguenza risultano privi di virus. Il risanamento pertanto in seguito al trattamento termico interessa per lo più gli apici vegetativi e le gemme. Questi vengono asportati dalla pianta madre e propagati a parte (innestati su portinnesti sani, micropropagati o fatti radicare singolarmente) originando nuovi individui probabilmente virus esenti. Il risanamento, quindi, interessa soprattutto gli apici vegetativi e le gemme anche se non mancano esempi di risanamento totale;

Il trattamento è di facile attuazione non richiedendo strutture particolarmente complesse. Viene eseguito in camere calde fornite di lampade fluorescenti che garantiscono una luminosità intorno ai 5000 lux, un fotoperiodo di 16 ore luce e 8 buio. L'umidità ottimale è facilmente mantenuta attraverso l'acqua utilizzata per l'irrigazione. La temperatura è mantenuta costante per tutto il periodo di trattamento.

L'efficacia della termoterapia può essere aumentata con l'alternanza della temperatura fra 30 e 40 °C e con una variazione di temperatura tra parte aerea e parte basale. A condizionare il successo del trattamento saranno inoltre le caratteristiche intrinseche della specie virale coinvolta nell'infezione (grado di inattivazione termica) e quelle dell'ospite (limite di sopravvivenza delle diverse varietà alle alte temperature).

Per quel che riguarda la sensibilità della specie è da considerare che le pomacee tollerano meglio il calore delle drupacee e che tra queste il ciliegio è particolarmente sensibile; al contrario la maggior parte delle varietà di vite sopportano bene le alte temperature. In alcune specie la resistenza al calore può essere aumentata con il preconditionamento ottenuto attraverso la esposizione graduale a temperature crescenti.

Questa tecnica trova notevole utilizzazione in combinazione ad altre tecniche di risanamento quali la coltura in vitro di meristemi apicali e il microinnesto di cui esalta notevolmente l'efficacia.

### **Coltura in vitro di apici meristematici**

La coltura in vitro di apici meristematici è una tecnica che prevede la coltura asettica di espianti di tessuto meristematico (0,2-0,6mm) prelevati da gemme apicali e/o ascellari. La possibilità di ottenere piante esenti da virus sembra sia dovuto ad una serie di fattori:

- nel meristema verrebbe esaltato l'antagonismo tra il normale metabolismo cellulare e i processi di infezione virale

- in alcune combinazioni virus-ospite esisterebbe un blocco nella migrazione di componenti virali nelle cellule meristematiche
- disturbi che avvengono nelle cellule dopo la dissezione.

La coltura in vitro è caratterizzata da fondamentali fasi che caratterizzano un ciclo standard:

**Fase 0** (allevamento delle piante madri): vengono preparate le piante madri per essere sottoposte al prelievo dei germogli da cui prelevare gli apici. Le piante, sulle quali sono stati effettuati i saggi diagnostici, sono solitamente allevate in serra in condizioni di T 24°C considerate ottimali per la crescita.

**Fase 1** (sterilizzazione e insediamento degli espianti): prevede la sterilizzazione dei germogli con ipoclorito di sodio al 10% per 20 min, il lavaggio con acqua distillata sterile e il prelievo dell'apice meristematico. Il germoglio prelevato con pinza sterile è asciugato su carta da filtro sterile e si procede alla pulizia della gemma con l'ausilio dello stereomicroscopio. L'espianto di dimensioni di 0,4 mm circa viene posto su un idoneo mezzo di coltura e conservato in camera di crescita.

**Fase 2** (moltiplicazione): dopo circa 30-40 giorni l'espianto viene trasferito su un mezzo di coltura rinnovato e sottoposto a moltiplicazione.

**Fase 3** (radicazione): la radicazione dell'espianto può essere effettuata in vivo o in vitro su idoneo substrato colturale contenente auxine.

**Fase 4** (ambientamento): è la fase più delicata in cui il materiale passa da condizioni ottimali di temperatura umidità e luce ottenuti in vitro a condizioni più scadenti in serra. Pertanto, in questa fase è molto importante seguire le piantine diminuendo gradatamente la umidità e sottoponendole a trattamenti preventivi contro gli agenti di marciumi.

Particolare attenzione in questa tecnica merita il mezzo di coltura in quanto da esso l'espianto trarrà tutte le sostanze nutritive per la sua sopravvivenza ed il suo accrescimento, oltre alle sostanze ormonali che determinano ed orientano le diverse fasi della morfogenesi e dello sviluppo.

La percentuale di successo di risanamento di questa tecnica dipende da vari fattori, quali dimensione dell'espianto, tipo di virus, genotipo dell'ospite. Quanto più piccolo è l'espianto tanto maggiore sarà la probabilità di ottenere risanamento ma nello stesso tempo è più difficile la rigenerazione

dell'espianto stesso. Non bisogna confondere la coltura in vitro di espianti meristematici con la micropropagazione, per la quale vengono in genere prelevati espianti di dimensioni maggiori (1-10 mm) che, non solo non consentono di risanare le piante, ma, al contrario, determinano una rapida moltiplicazione e diffusione di piante infette.

## **Microinnesto**

Una ulteriore applicazione alla coltura in vitro che ha avuto successo principalmente per il risanamento degli agrumi è il microinnesto. La principale applicazione del microinnesto è nel risanamento da malattie virali e virus simili.

Questa tecnica consiste nell'innestare sterilmente in vitro su un portinnesto sano un espianto di 0,4-1,5 mm. Si differenzia dalla coltura di meristemi in quanto l'espianto una volta reciso non viene posto direttamente sul substrato di coltura. Le fasi sono le stesse della coltura di apici meristemati.

Un esempio di applicazione su larga scala è il microinnesto degli agrumi. Esso può essere così brevemente descritto: si esegue una sterilizzazione dei semi (es. portinnesti di arancio trifogliato o suoi ibridi) con ipoclorito di sodio allo 0,5% per 10 minuti e lavaggio con acqua distillata sterile. Insemediamento degli stessi su un mezzo di coltura sterile e incubazione al buio per 15 giorni. Il microinnesto avviene con apici prelevati da germogli precedentemente sterilizzati. Con l'ausilio di uno stereomicroscopio si effettua il taglio dell'apice che viene posto sul portinnesto capitozzato. La piantina innestata insediata su un mezzo di coltura sterile viene conservata in camera di crescita a 24°C, intensità luminosa di 1000 lux e fotoperiodo di 16 ore luce e 8 buio.

Questa tecnica pur essendo più complessa presenta dei vantaggi dovuti all'assenza di contatto tra l'espianto e il mezzo di coltura che garantisce una riduzione dei rischi di instabilità genetica, maggiore rapidità di ottenimento delle piantine e superamento di problemi di giovanilità.

## **Riferimenti**

Alskieff J., Villemur P., 1978. Greffage in vitro d'apex sur des plantules decapitées de pommier (*Malus pumila* Mill.). C.R. Acad. sc. Paris, serie D 287, 1115-1118.

Barba M., Cupidi A. and Lauretti F., 1990a. Experiences of thermotherapy and micrografting to obtain virus free plum trees. Atti 23 th International Horticultural Congress. Firenze 27 Agosto-1 settembre, 3232.

Barba M., Cupidi A. e Ammirabile A., 1990. Uso del microinnesto in vitro per il risanamento del mandorlo. Frutticoltura, 3, 73-75.

Boxus P., 1984. Assainissement des arbres fruitiers et du fraiser par culture de meristemes. Parasittica, 40, 139-155.

Calavan E.C., Roistacher C.N., Nauer E.M., 1972. Thermotherapy of citrus for inactivation of certain viruses. Plant Disease Reporter, 56, 11, 976-980

Cupidi A., 1991. Il microinnesto in vitro dei fruttiferi. Petria 2, suppl.1, 7-15.

Cupidi A., Barba M., 1988. Microinnesto in vitro per la produzione di piante virus esenti. Frutticoltura, 5, 25-28.

- Deogratias J.M., Lutz A, Dosba F., 1985. In vitro micro grafting of shoot tips from juvenile and adult *Prunus avium* L. and *Prunus persica* (L). Batsch to produce virus free plants. *Acta Horticulturae*, 193,139-145.
- Deogratias J.M., Lutz A., Dosba F., 1986. Micrograffage d'apex de cerisiers ( *Prunus avium* L.) multiplies in vitro en vue de l'élimination de trois types de particules virales ( CLSV, PDV and NRSV). *Fruits* vol. 40, n° 11, 675-680.
- Deogratias J.M., Dosba F., Lutz A., 1989a. Eradication of prune dwarf virus, prunus necrotic ringspot virus, and apple chlorotic leaf spot virus in tissue cultured sweet cherries, *Canad. J. of Plant Pathol.*, 11, 332-337.
- Deogratias J.M., Dosba F., Lutz A., 1989. Eradication of prune dwarf virus, prunus necrotic ringspot virus, and apple chlorotic leaf spot virus in sweet cherries by a combination of chemotherapy, thermotherapy and in vitro culture. *Canad. J. of Plant Pathol.*, 11, 337-342.
- Juarez J., Camarasa E., Ortega C., Ortega V., Arregui J.M., Cambra M., Lla'cer G., Navarro L., 1992. Recovery of virus free almond plants by shoot tip grafting in vitro. *Acta Horticulturae*, 309, 393-400.
- Lenz F., Bauman G., and Kornkamhaeng P., 1983. Hight temperature treatment of *Prunus avium* L. "F12/1" for virus elimination: *Phitopath. z.*, 106,373-375.
- Martino L., 1991. Il microinnesto in vitro della vite. *Petria* 2, suppl., 1,17-25.
- Mosella C.L, Riedel M. and Jonard R., 1979. Sur les amèlioration apportées aux techniques de micrograffage dex apex in vitro chez les arbres fruitiers. cas du pècher ( *Prunus persica* B.). *C.R. Acad. Sc. Paris, serie D.* 289, 505-508.
- Mosella C.L, Signoret P.A. et Jonard R., 1980. Sur la mise au point de technique de microgreffage d'apex en vue de l'élimination de deux types de particules virales chez le pecher ( *Prunus persica* Batsch). *C.R. Acad. Sci.* 290, serie D, 287-290.
- Murashige T., Bitters W.P., Rangan T.R., Mauwr E.M., Roistacher C.N., Holliday P.B., 1972. A technique for shoot apex grafting and its utilization towards recovering virus-free citrus clones. *Hort Sci.*, 7,118-119.
- Navarro L., 1982. Application of shoot tip grafting in vitro to woody species. *Acta Horticulturae*, 227,43-55.
- Navarro L., Llacer M., Cambra M., Arrequi J.M., Juarez J., 1982. Shoot-tip grafting in vitro for elimination of viruses in peach plants (*Prunus persica* Batsch). *Acta Horticulturae*,130, 185-191.
- Navarro L., Roistacher C.N., Murashige T., 1975. Improvement of shoot tip grafting in vitro for virus free citrus. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 100 (5), 471-479
- Quacquarelli A., Martelli G.P., 1972. A note of mosaic virus and on the heat therapy of diseased stocks. *Actas III Congr. Un. Medit., Oerias*, 1972, 421-427.

Refatti E., Carraro L., Osler R. e Soligo S., 1999. Alcuni dati sul risanamento mediante calore di moltiplicazione per pomacee affetto da agenti virali. *Frutticoltura*,4, 91-95.

Roistacher C.N e Calavan E.C.1972. Heat tolerance of preconditioned citrus budwood for virus inactivation.

Proc. 5th conf.Inter. Organization Citrus VI Rol,256-261, WC price Univ. Fla. Press., Gainesville  
Roistacher C.N., Navarro L. and Murashige T., 1976. Recovery of citrus selections free of several viruses,

Exocortis viroid and Spiroplasma citri by shoot-tip grafting in vitro. Proc. Int. Organ. Citrus Virol.,IOCV, 183-193.

Roistacher C.N., 1977. Elimination of citrus pathogens in propagative budwood. I. Budwood selection, indexing and thermotherapy. Proc. Int. Soc. Citriculture, 1977, Vol.3, 965-972.

Russo F., Starrantino A., 1973. Ricerche sulla tecnologia dei microinnesti nel quadro del miglioramento genetico sanitario degli agrumi. *Annali Istituto Sperimentale Agrumicoltura*, 6,209-222.

Saponari M, Bottalico G. e Savino V.,1999. In vitro propagation of Prunus mahaleb and its sanitation from Prune dwarf virus. *Adv. Hort. Sci.* 13, 56-60

Savino V., Di terlizzi B., Martelli G.P., 1990. Risanamento di cultivar di mandorlo affette da mosaico attraverso la termoterapia. *Atti Convegno "Virosi ed entomofauna del mandorlo"*.Quaderno n°1 IAM 1989,167-172.

Snir I. e A. Stein, 1985. In vitro detection and elimination of Prunus necrotic ring spot virus in sweet chrry(*Prunus avium* L.). *Riv. Ortoflorofrutticoltura Italiana*, 69,191-194.

Starrantino A., 1991. Il microinnesto degli agrumi: Petria 2, suppl. 1,27-35.

Vertesy J.,1980. In vitro propagation of prunus persica and Prunus persica davidiana shoot tips in order to get virus free plants. *Acta Horticulturae*, 94, 261-264.

### 2.2.3 Protocollo di conservazione in vitro e crioconservazione

Le risorse genetiche delle specie orticole e frutticole sono generalmente conservate (ex situ) come seme, come piante in campi di conservazione, e a queste si aggiunge la conservazione in vitro.

Per quanto riguarda la conservazione in vitro del germoplasma, sono state sviluppate diverse tecniche:

- coltura in vitro di organi o parti di pianta (sfrutta il principio della micropropagazione)
- tecniche basate sulla crescita rallentata (slow growth), dove il materiale vegetale viene mantenuto a breve e medio termine, come tessuti vegetali o plantule su substrato di coltura gelificato;



- crioconservazione, mediante la quale le accessioni vegetali, dopo essere state opportunamente trattate, vengono conservate a temperature basse o ultrabasse (immersione in azoto liquido) (Bacchetta et Al., 2008).

#### Coltura in vitro (micropropagazione)

Per la conservazione delle risorse genetiche vegetali la tecnica di coltura in vitro maggiormente utilizzata prevede il ricorso a gemme preformate nelle piante madri (Bacchetta et Al., 2008).

Le tecniche che sfruttano l'organogenesi e l'embriogenesi indirette passando dallo stadio di callo, ossia da tessuto indifferenziato, non sono applicabili per la conservazione del germoplasma in quanto possono comportare l'insorgenza di eventuali mutazioni e, quindi, una non rispondenza genetica del materiale conservato.

Il processo di micropropagazione può essere suddiviso in differenti fasi:

**Fase 0:** selezione delle piante madri dalle quali prelevare gli espianti da stabilizzare in coltura asettica.

Le piante madri devono presentare i caratteri tipici della specie da propagare e devono essere prive di segni evidenti di fitopatie. Nel caso di specie a rischio di estinzione, qualora si disponga di semi, è bene farli germinare in vitro così da ottenere plantule sterili da utilizzare successivamente per il prelievo degli espianti.

**Fase 1:** questa fase è caratterizzata dal passaggio del materiale dal vivo al vitro del materiale da conservare; prevede la sterilizzazione degli espianti in modo da renderli idonei alla coltivazione in vitro.

Dopo un breve periodo di incubazione gli espianti che mostrano sintomi di contaminazione vengono scartati. Lo stadio I sarà soddisfacente se si riuscirà ad ottenere un adeguato numero di espianti non contaminati (Bacchetta et Al., 2008).

**Fase 2:** fase di moltiplicazione. Obiettivo di questa fase è l'ottenimento di materiale di propagazione da utilizzare nelle fasi successive per l'ottenimento di piante intere. La moltiplicazione viene ottenuta regolando il rapporto dei fattori di crescita nel mezzo di coltura. Normalmente si utilizzano dei mezzi con rapporto tra citochinine ed auxine spostato in favore delle prime che sono responsabili dell'eliminazione della dominanza apicale e, quindi, dello sviluppo di germogli laterali (Bacchetta et Al., 2008). Alcuni dei propaguli prodotti durante questa fase possono essere utilizzati come base per ulteriori cicli di moltiplicazione (subcolture) che consentono di incrementare in modo esponenziale il numero di piante ottenute (Bacchetta et Al., 2008).

**Fase 3:** fase di allungamento e radicazione. Il materiale di propagazione ottenuto dallo stadio 2 è solitamente di dimensioni ridotte per tal motivo è necessario provvedere al suo allungamento ed alla sua radicazione. Allungamento e radicazione vengono ottenuti incrementando il contenuto in auxine nel mezzo di coltura (Bacchetta et Al., 2008).

**Fase 4:** è una fase critica che consiste nel passaggio delle piante ottenute in vitro in condizioni ex vitro. Se il trasferimento all'ambiente esterno non viene eseguito con cautela si può avere una notevole



perdita del materiale propagato a causa della sua ridotta capacità di regolare la traspirazione, di effettuare la fotosintesi e di assorbire nutrienti dal suolo.

Conservazione in condizioni di crescita controllata (slow growth)

Alcune colture necessitano di condizioni particolari per ridurre la velocità di crescita ed il numero di trasferimenti da un mezzo di crescita all'altro (eccessiva velocità di crescita e necessità di trasferimento rientrano negli svantaggi della propagazione in vitro). La tecnica di slow growth costituisce un importante strumento per la conservazione a medio termine.

La riduzione della velocità di accrescimento può essere ottenuta mediante trattamenti fisici o chimici oppure integrando le due tipologie di trattamento (Hawkes, 2000; Shibli et Al., 2006, Paunescu, 2009).

Relativamente ai fattori fisici si può ridurre la crescita degli espianti intervenendo sulle condizioni termiche e luminose dell'ambiente di coltivazione. La temperatura di conservazione può essere ridotta a livelli compresi tra 0 e 5°C per le specie resistenti al freddo mentre per le specie tropicali, sensibili a tale fattore, la riduzione può essere effettuata fino a livelli di 15-20°C. L'accrescimento può essere influenzato anche riducendo la luminosità o il numero di ore di luce dell'ambiente di coltivazione fino, in alcuni casi, alla completa oscurità. Normalmente l'umidità relativa deve essere mantenuta tra il 40 ed il 50% (Hawkes, 2000; Shibli et Al., 2006, Paunescu, 2009).

La crescita può essere ridotta chimicamente intervenendo sulla presenza di fattori essenziali nel mezzo, quali ad esempio gli zuccheri, fonte di carbonio per le piante coltivate in vitro. Altra tecnica chimica prevede la somministrazione di ritardanti di crescita, come l'acido abscissico, o di sostanze che agiscono osmoticamente sull'accrescimento delle plantule, tra cui mannitolo, sorbitolo o saccarosio, se somministrato in concentrazioni eccessive. L'applicazione di sostanze osmoticamente attive riduce il potenziale osmotico delle cellule e la capacità di distensione cellulare; tale stress riduce il tasso di crescita degli espianti (Hawkes, 2000; Shibli et Al., 2006).

Altro approccio alla conservazione in condizioni di slow growth prevede la riduzione dell'ossigeno disponibile mediante coltivazione in atmosfera controllata o trattamento con oli che riducono la capacità di scambio gassoso delle plantule (Paunescu, 2009).

Un esempio di protocollo da adottare può essere il seguente (approccio adottato dalla Regione Umbria):

- stoccaggio del materiale micropropagato per tempi di 3, 6, 9 e 12 mesi in un armadio climatico (fitotrone) settato a  $4,3 \pm 0,3^\circ\text{C}$  e con fotoperiodo di 12 ore di luce.
- Al termine di ciascuno di questi periodi di frigoconservazione gli espianti sono trasferiti in cella climatica (a  $23^\circ\text{C}$ ) per un normale ciclo di proliferazione, per poi essere nuovamente reinseriti in fitotrone per un nuovo periodo di frigoconservazione pari al precedente.
- Questo ciclo viene ripetuto fintantoché gli espianti si mostrano capaci non solo di resistere alle basse temperature ma anche di riprendere a svilupparsi una volta riportati alle normali condizioni di crescita.

## Crioconservazione

Per tempi di conservazione più lunghi è bene bloccare completamente lo sviluppo delle plantule ricorrendo alla tecnica di crioconservazione (Hawkes, 2000).

La crioconservazione consente la conservazione di materiale vivente (cellule e tessuti) a temperature ultrabasse, normalmente in azoto liquido a  $-196^{\circ}\text{C}$ , per più anni, mantenendo la capacità del materiale di riprendere le normali attività biologiche allo scongelamento (Day *et Al.*, 2008). Durante la crioconservazione i vari processi fisiologici vengono bloccati a causa delle temperature ultrabasse e, conseguentemente, le cellule possono mantenere inalterate le loro caratteristiche (Shibli *et Al.*, 2006). Le ricerche messe in atto negli ultimi anni hanno permesso di sviluppare la conservazione di differenti tipologie di materiale vegetale, nonostante ciò, gli espianti maggiormente utilizzati per la crioconservazione sono gli apici vegetativi di lunghezza compresa tra 1 e 3 mm; essi sono preferiti in quanto caratterizzati da adattabilità alle temperature ultrabasse ed elevata stabilità genetica, garanzia non fornita nel caso si conservino colture cellulari o di callo. Gli apici vegetativi, inoltre, sono caratterizzati dalla presenza di un elevato numero di cellule in divisione attiva che consentono una pronta ripresa dell'accrescimento successivamente allo scongelamento (Shibli *et Al.*, 2006).

Principio fondamentale della crioconservazione è quello di evitare la formazione di ghiaccio intracellulare che potrebbe danneggiare irreparabilmente le cellule. Ciò viene attuato mediante la disidratazione delle cellule ad un livello tale da impedire la nucleazione dei cristalli di ghiaccio e la solidificazione dell'acqua intracellulare in uno stato vetroso.

La formazione di ghiaccio intracellulare può essere evitata mediante il ricorso a due approcci:

- Crioconservazione con formazione di ghiaccio extracellulare o **controlled rate cooling**;
- Crioconservazione basata sulla **vitrificazione** in assenza di ghiaccio extracellulare (Day *et Al.*, 2008; Gonzalez-Arno, 2008).

Particolare importanza è rivestita dall'applicazione di un'adeguata **strategia crioprotettiva** (Day *et Al.*, 2008). I **soluti crioprotettivi** sono degli additivi che somministrati alle cellule prima del loro congelamento, consentono un incremento della loro sopravvivenza post-scongelamento (Fuller, 2004).

Le sostanze crioprotettive generalmente adoperate sono (Benson, 2008):

- Glicerolo
- dimetilsolfossido (DMSO)
- metanolo
- glicoli a ridotto peso molecolare
- oligosaccaridi
- amminoacidi (prolina)
- polimeri a ridotto peso molecolare (PEG1000)
- polimeri ad elevato peso molecolare (PEG6000, PVP)

**Crioconservazione mediante Controlled rate cooling:** si basa sul raffreddamento controllato del materiale vegetale immerso in una soluzione crioprotettiva fino ad una temperatura di circa  $-40^{\circ}\text{C}$  (Day *et Al.*, 2008; Gonzalez-Arno *et Al.*, 2008). Il raffreddamento controllato viene messo in atto mediante il ricorso a congelatori con tasso di raffreddamento programmabile (Benson, 2008). Il tasso

di raffreddamento maggiormente adottato è di 0,5-1°C min<sup>-1</sup> fino al raggiungimento di -40°C (Gonzalez-Arno et Al., 2008). Al raggiungimento dei -40°C gli espianti possono essere immersi direttamente in azoto liquido oppure essere mantenuti a tale temperatura per 30-45 minuti (hold) prima dell'immersione (Benson, 2008).

Anche nella fase di scongelamento è importante che la formazione di ghiaccio intracellulare sia ostacolata; ciò viene messo in atto riscaldando i campioni in bagnomaria a 40°C per qualche minuto. L'elevata velocità di scongelamento fa sì che il lasso di tempo a disposizione non sia sufficiente per l'aggregazione delle molecole di acqua in cristalli di ghiaccio (Gonzalez-Arno et Al., 2008).

**Crioconservazione basata sulla vitrificazione in assenza di ghiaccio extracellulare:** La vitrificazione è un processo fisico che si verifica alla cosiddetta temperatura di transizione vetrosa, consistente nella solidificazione di un liquido senza cristallizzazione, sotto forma di vetro amorfo (Benson, 2008). Tale stato mantiene la disposizione delle molecole tipica dello stato liquido ma possiede delle caratteristiche fisiche e meccaniche tipiche di quello solido (Benson, 2008; Gonzalez-Arno et Al., 2008). Vista l'elevata viscosità dello stato vetroso tutte le reazioni chimiche che richiedono la diffusione in mezzo acquoso vengono bloccate, consentendo di mantenere le condizioni di stabilità per lunghi intervalli temporali (Benson, 2008; Gonzalez-Arno et Al., 2008). Tale stato, grazie all'assenza di una struttura organizzata, risulta molto meno dannoso per le cellule rispetto a quello di ghiaccio e, conseguentemente, consente di incrementare il tasso di ripresa post-scongelamento (Benson, 2008).

Lo stato vetroso è metastabile, ovvero in grado di ritornare più o meno facilmente allo stato liquido e/o di dare origine a cristallizzazione nel caso in cui vengano modificate le condizioni termiche pertanto, anche nella fase di scongelamento, bisogna adottare degli accorgimenti atti a prevenire la formazione di cristalli di ghiaccio intracellulare di dimensioni sufficientemente grandi da determinare danni strutturali al materiale crioconservato, il quale inoltre risulta caratterizzato da maggiore delicatezza dovuta all'incrementata rigidità cellulare. Questo rischio viene normalmente evitato ricorrendo ad un riscaldamento rapido. (Benson, 2008; Day et al., 2008).

Quando il protocollo di crioconservazione risulta ottimizzato tutte o la maggior parte delle strutture meristematiche rimangono intatte, consentendo la ripresa diretta dell'accrescimento senza passare dalla formazione di callo indifferenziato; ciò costituisce un vantaggio in termini di stabilità genetica del materiale conservato (Gonzalez-Arno et Al., 2008). Un notevole vantaggio della vitrificazione senza formazione di cristalli extracellulari è quello di non richiedere un raffreddamento controllato e le tecnologie ad esso collegate, conseguentemente tale tecnica può essere applicata anche presso laboratori non specializzati (Day et Al., 2008).

La tecnica di crioconservazione mediante vitrificazione si basa sulla disidratazione delle cellule mediante l'applicazione di soluzioni vitrificanti, ovvero soluzioni estremamente concentrate (7-8 M) di crioprotettivi che consentono il passaggio dell'acqua presente nei tessuti allo stato vetroso (Sakai et Al., 2008).

Un protocollo di vitrificazione si compone delle seguenti fasi:

1. precondizionamento, avente come obiettivo quello di incrementare la resistenza degli espianti alle successive fasi di crioconservazione. Trattamenti attuabili sono la coltivazione delle piante madri a basse temperature, dissezione degli espianti dopo un determinato periodo di coltura ed in un determinato stato fisiologico (Gonzalez-Arno e Engelmann, 2006; Sakai e Engelmann, 2007).
2. Precoltura degli espianti successivamente alla loro dissezione. La precoltura degli espianti su mezzo solido arricchito in saccarosio con concentrazione da 0,3 a 0,7 M per uno o due giorni consente di incrementare nettamente la loro sopravvivenza al termine della crioconservazione. Durante la precoltura si registra un incremento notevole del contenuto in saccarosio nei tessuti e l'accumulo di crioprotettivi endogeni quali zuccheri e alcool, che consentono di incrementare la stabilità delle membrane nel corso della successiva disidratazione spinta (Sakai e Engelmann, 2007).
3. Osmoprotezione mediante trattamento con soluzione di loading. Questa fase riduce la tossicità dovuta a destabilizzazione delle membrane cellulari che potrebbe aversi nel caso di esposizione diretta alla soluzione vitrificante. L'esposizione alla soluzione di loading consente, inoltre, di incrementare la concentrazione di soluti presente nella soluzione citoplasmatica così che essa subisca la vitrificazione quando immersa in azoto liquido. Normalmente per il loading vengono utilizzate delle soluzioni altamente concentrate a base di glicerolo (1-2,5 M) e saccarosio (0,4-0,7M) (Kim et Al., 2009a).
4. Disidratazione mediante soluzione vitrificante, Le soluzioni vitrificanti sono delle soluzioni che possono essere raffreddate lentamente al di sotto della temperatura di transizione dello stato vetroso senza che si abbia produzione apprezzabile di cristalli di ghiaccio. Esse pertanto consentono di ottenere la produzione dello stato vetroso amorfo intracellulare durante il congelamento ed il suo mantenimento durante il riscaldamento. Le soluzioni di vitrificazione sono costituite da una miscela di elementi penetranti e non. Gli additivi penetranti riescono ad entrare rapidamente all'interno delle cellule incrementando la concentrazione in soluti e la viscosità e proteggendo dallo stress osmotico che può verificarsi nel corso della disidratazione. Elementi penetranti maggiormente utilizzati sono DMSO, Etilen glicole (EG) e glicerolo. Come detto vengono somministrati anche degli elementi non penetranti, costituiti principalmente da zuccheri, aventi la funzione di disidratare gli espianti e di costituire un tampone osmotico (Kim et Al., 2009b). Le soluzioni vitrificanti maggiormente utilizzate sono la cosiddetta plant vitrification solution 2 (PVS 2), costituita da 30% (peso/volume) glicerolo, 15% (peso/volume) DMSO, 15% (peso/volume) EG e 13,7% (peso/volume) saccarosio, e la PVS 3, costituita da 50% (peso/volume) glicerolo e 50% (peso/volume) saccarosio (Sakai et Al., 2008). Il tempo di trattamento deve essere opportunamente calibrato in funzione della specie e del tipo e della dimensione degli espianti utilizzati (Sakai e Engelmann, 2007). I tempi di immersione in soluzione vitrificante possono essere ridotti trattando a 0°C anziché a temperatura ambiente, visto che in tal modo si ridurrà la velocità di diffusione degli elementi penetranti attraverso la parete (Sakai et Al., 2008).
5. Congelamento attuato ponendo gli espianti in crioprovette riempite con 0,5 ml di PVS e immergendo direttamente queste ultime in azoto liquido; in tal modo si raggiunge un tasso di raffreddamento di circa 200°C/min (Sakai e Engelmann, 2007; Sakai et Al., 2008).

6. Riscaldamento. Per scongiurare danni da devitrificazione e cristallizzazione deve essere attuato rapidamente. Questo si ottiene mediante immersione dei campioni in bagnomaria a 37-40°C. Mediante tale procedura si riesce ad ottenere un tasso di riscaldamento di circa 250°C/min, sufficientemente elevato da evitare la formazione di cristalli di ghiaccio intracellulare (Sakai e Engelmann, 2007).
7. Diluizione attuata mediante la cosiddetta soluzione di unloading, una soluzione arricchita in saccarosio, ed ha lo scopo di eliminare gli elementi crioprotettivi potenzialmente letali per le cellule (Day et Al., 2008).
8. Successivamente a tali fasi è possibile ultimare il protocollo di crioconservazione mediante la messa in coltura degli espianti scongelati, i quali è bene che siano mantenuti in condizioni di oscurità per qualche giorno col fine di evitare danni da stress fotossidativo.

### **Riferimenti**

G. Bacchetta, A. Bueno Sanchez, G. Fenu, B. Jiménez-Alfaro, E. Mattana, B. Piotta e M. Virevaire (a cura di), 2008 – Conservacion ex situ de plantas silvestres – Principado de Asturias, Spagna.

E.E. Benson, 2008 – Cryopreservation theory – da B.M. Reed, Plant cryopreservation a practical guide, Springer, Olanda.

J.G. Day, K.C. Harding, J. Nadarajan e E.E. Benson, 2008 – Cryopreservation: conservation of bioresources at ultra low temperature – da Molecular biotechnology 2nd edition, Humana Press, Totowa, Stati Uniti.

M.T. Gonzalez-Arno e F. Engelmann, 2006 – Cryopreservation of plant germoplasm using the encapsulation-dehydration technique: review and case study on sugar cane – Cryoletters 27 (3): 155-168.

M.T. Gonzalez-Arno, A. Panta, W.M. Roca, R.M. Escobar e F. Engelmann, 2008 – Development of large scale application of cryopreservation techniques for shoot and somatic embryo cultures of tropical crops – Plant cells tissues organs culture 92: 1-13, Springer, Olanda.

J.G. Hawkes, N. Maxted e B.V. Ford-Lloyd, 2000 – The ex situ conservation of plant genetic resources – Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, Paesi Bassi.

H.H. Kim, Y.G. Lee, S.U. Park, S.C. Lee, H.J. Baek, E.G. Cho e F. Engelmann, 2009a – Development of alternative loading solutions in droplet-vitrification procedures – Cryoletters 30 (3): 291-299.

H.H. Kim, Y.G. Lee, D.J. Shin, H.C. Ko, J.G. Gwag, E.G. Cho e F. Engelmann, 2009b – Development of alternative plant vitrification solutions in droplet vitrification procedures – Cryoletters 30 (5): 320-334.

M.F. Laverty, E.J. Sterling, A. Chiles e G. Cullmann, 2008 – Biodiversity 101 – Greenwood press, Londra, Gran Bretagna.

A. Paunescu, 2009 – Biotechnology for endangered plant conservation: a critical overview – Romanian Biotechnological Letters Vol. 14 N°1: 4095-4103, Bucarest, Romania.

A. Sakai e F. Engelmann, 2007 – Vitriification, encapsulation-vitriification and droplet-vitriification: a review – Cryoletters 30 (3): 291-299.

A. Sakai, D. Hirai e T. Niino, 2008 – Development of PVS based vitriification and encapsulation-vitriification protocols – da B.M. Reed, Plant Cryopreservation: a practical guide, Springer, Olanda.

R.A. Shibli, M.A. Shatnaw, W.S. Subaim e M.M. Ajlouni, 2006 – In vitro conservation of plant genetic resources: a review – World Journal of Agricultural Sciences 2 (4): 372-382.

<https://biodiversita.umbria.parco3a.org/attivita/registro-regionale/conservazione-ex-situ/#2>

### 2.3 Risultanze sintetiche dell'analisi di rischio e conservazione per le varietà selezionate

<b>Percorso di valorizzazione gestibile e priorità elevata</b>	SCENARIO SWOT POSITIVO
	GRADO DI RISCHIO ALTO

<b>Risorsa genetica</b>	<b>Conservazione in vivo</b>	<b>Conservazione in vitro/banche del germoplasma</b>
Fava Viola	Campi prova	Banche del germoplasma
Grano tenero Bianchetta	Campi prova	Banche del germoplasma
Trifoglio sotterraneo	Campi prova	Banche del germoplasma
Fico Verdesca	Campi collezione	Crioconservazione apici meristemati
Fagiolino dall'occhio Occhiopinto	Campi prova	Banche del germoplasma
Fagiolino pinto	Campi prova	Banche del germoplasma
Vite Cigliola	Campi collezione	Crioconservazione apici meristemati
Vite Notardomenico	Campi collezione	Crioconservazione apici meristemati
Vite Santa Teresa	Campi collezione	Crioconservazione apici meristemati

<b>Percorso di valorizzazione incerto e priorità elevata</b>	SCENARIO SWOT INCERTO
	GRADO DI RISCHIO ALTO

<b>Risorsa genetica</b>	<b>Conservazione in vivo</b>	<b>Conservazione in vitro/banche del germoplasma</b>
Grano duro San Pasquale	Campi prova	Banche del germoplasma
Trifoglio incarnato	Campi prova	Banche del germoplasma
Susino S. Anna Ovale	Campi collezione	Crioconservazione apici meristemati
Carciofo Bianco di Taranto	Campi prova	Banche del germoplasma
Cima di Cola	Campi prova	Banche del germoplasma

<b>Percorso di valorizzazione gestibile e priorità media</b>	SCENARIO SWOT POSITIVO
	GRADO DI RISCHIO MEDIO

<b>Risorsa genetica</b>	<b>Conservazione in vivo</b>	<b>Conservazione in vitro/banche del germoplasma</b>
Fico Petrelli	Campi collezione	Crioconservazione apici meristemati
Pero Gentile reale	Campi collezione	Crioconservazione apici meristemati
Pero Recchia falsa	Campi collezione	Crioconservazione apici meristemati