

**ACCADEMIA NAZIONALE DELLE SCIENZE**  
**detta dei XL**

---

**SCRITTI E DOCUMENTI**  
**XLIV**

**Trasferimento di geni  
dalla specie selvatica *D. villosum* al frumento  
per aumentarne l'adattamento ai sistemi agrari sostenibili**

*Risultati ottenuti dalla collaborazione scientifica  
tra Università italiane e l'Università della California*

---

**Transferring genes  
from the wild species *D. villosum* to wheat  
for increasing adaptation to sustainable agricultural systems**

*Results from the research collaboration between  
Italian Universities and the University of California*

a cura di  
CIRO DE PACE



ROMA 2011

---

© Copyright 2011

ACCADEMIA NAZIONALE DELLE SCIENZE DETTA DEI XL  
ROMA

---

ISSN 03-91-4666

---

ACCADEMIA NAZIONALE DELLE SCIENZE DETTA DEI XL  
00161 Roma - Via L. Spallanzani, 7



### Convegno per la presentazione dei risultati del progetto:

*Workshop for the presentation and disussion of the results obtained from the MiPAAF Project:*

#### FRUMIGEN\*

**Ottimizzazione, diversificazione ed incremento della produttività del frumento tenero: costituzione di anfiploidi e linee derivate da ibridazione intergenerica**

***Triticum sp. x Dasypyrum villosum***

*Diversification and optimization of bread wheat productivity through the synthesis of amphiploids and introgression inbred lines from Triticum sp. x Dasypyrum villosum intergeneric hybridization.*



**La biodiversità del *Dasypyrum villosum* per il miglioramento genetico del frumento e per la tutela dell'ambiente rurale**

*Role of Dasypyrum villosum in bread wheat genetic improvement and rural landscape ecology*



**Roma, 8 maggio 2009**

**Biblioteca dell'Accademia Nazionale delle Scienze detta dei XL,  
Via L. Spallanzani 1/A**

*Rome, May 8th 2009*

*Library of the National Academy of Sciences 'of the Forty'  
Via L. Spallanzani 1/A*

\* Programma triennale svolto grazie al contributo finanziario da parte del MiPAAF (DM 292/7303/05 del 12/10/2005), ultimato il 30/06/2009, dopo proroga concessa con DM 13533/7303/08 del 21/10/2008.

*Research carried-out thanks to the financial contribution of MiPAAF (Italian Ministry for Agricultural Environmental and Forestry Policy (Decree 292/7303/05 issued October 12, 2005)*

MARINA PASQUINI<sup>1</sup> – MARCO BIZZARRI<sup>2</sup> – FRANCESCA NOCENTE<sup>1</sup>  
ANTONIO MATERE<sup>1</sup> – LORIANA SERENI<sup>1</sup> – FAUSTO CASINI<sup>1</sup>  
ALESSIA L'AURORA<sup>1</sup> – PATRIZIA VACCINO<sup>3</sup> – MARIA CORBELLINI<sup>3</sup>  
TANIA COPPA<sup>3</sup> – DORIANO VITTORI<sup>2</sup> – CIRO DE PACE<sup>2</sup>

***Dasypyrum villosum* come fonte di geni  
di resistenza a oidio e ruggine bruna  
per il miglioramento dei frumenti coltivati\***

**Summary** – The wild species of cereals comprised in the secondary gene pool (GP 2) of wheat have received specific attention mainly with a view to widening the narrow genetic basis of cultivated wheats. *Dasypyrum villosum* Candargy (syn. *Haynaldia villosa*) (Dv) is an annual, diploid (2n=14), allogamous grass species, belonging to the GP 2 of wheat. This species, originating from Southern Europe and South-Western Asia, is widespread in the Mediterranean region and has been reported as carrying genes for enhancing agronomic and grain quality traits. A study has been carried out on two wheat aneuploid lines (CS×V32 and CS×V63) obtained after introgression of chromosome 6V#4 into the *T. aestivum* cv. Chinese Spring (CS) nuclear genome by interspecific hybridization with a *D. villosum* population collected in Latium. The disomic addition line CS+6V carrying chromosome 6V#1 and bred by the late E.R. Sears, was also included in the study. The two aneuploid lines resulted completely resistant to *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* (Bgt) at adult and seedling plant stage. The CS×V63 line was crossed to the susceptible disomic addition line 6V#1 and a suitable map-

<sup>1</sup> CRA-QCE Unità di Ricerca per la Valorizzazione Qualitativa dei Cereali, Via Cassia 176, 00176 Roma-Italia, [marina.pasquini@entecra.it](mailto:marina.pasquini@entecra.it); tel. 06-3295705/6/7; fax: 06-36306022.

<sup>2</sup> Dipartimento di Agrobiologia ed Agrochimica, Università della Tuscia, Via S. Camillo de Lellis, 01100 Viterbo-Italia.

<sup>3</sup> CRA-SCV Unità di ricerca per la selezione dei cereali e la valorizzazione delle varietà vegetali, Via R. Forlani, 3 – 26866 S. Angelo Lodigiano (Lodi)-Italia.

\* Paper presented at the Workshop organized for the discussion of the results obtained from the MiPAAF Project: FRUMIGEN, Diversification and optimization of bread wheat productivity through the synthesis of amphiploids and introgression inbred breeding lines from *Triticum* sp. × *Dasypyrum villosum* intergeneric hybridization. Friday May 8<sup>th</sup> 2009, Library of the National Academy of Sciences “of the Forty”, Scuderie Vecchie di Villa Torlonia, Via L. Spallanzani 1/A, Rome, Italy.

ping population, segregating for powdery mildew resistance, was produced. The  $F_{2,3}$  progenies were studied both by phytopathological (with selected pathotypes of *Bgt*) and molecular (PCR marker) analyses in order to assess the genetic basis of resistance. The observed resistant: susceptible phenotypic ratio fitted the 3:1 ratio expected for the segregation of the resistance/susceptible alleles at one locus named "*PmVt*", presumably located in 6VS. The resistant phenotype was dominant. Molecular analyses using the RAPD marker *OPH17*<sub>1900</sub> were carried out to confirm the location of this gene on 6VS and to verify its relationship with the *Pm21* locus and association to the gliadin-encoding locus *Gli-V2*. The line CS × V63 was tested also for resistance to *Puccinia triticina* (*Pt*): it resulted susceptible in the experiments carried out at the seedling stage with different selected *Pt* pathotypes. When tested with the same pathotypes in controlled infection at the adult plant stage, and in the field, in multilocation epidemiological trials, the line showed a complete or moderate resistance to this disease, thus indicating the possible presence in 6V #4 of gene(s) for adult plant resistance to *Pt*.

**Parole chiave:** ruggine bruna, oidio, linee di introgressione, gliadine, resistenza, marcatori genetici, frumento tenero, *Dasypyrum villosum*.

## 1. INTRODUZIONE

La qualità dei frumenti è strettamente condizionata dagli aspetti fitopatologici in quanto i patogeni costituiscono un fattore limitante per la produzione cerealicola. Da anni vengono condotte indagini sul territorio nazionale, attraverso una rete di monitoraggio epidemiologico organizzata sia in coltura convenzionale che in coltura biologica. Lo scopo è quello di valutare l'incidenza e la diffusione delle malattie, identificare e analizzare, in serra e in laboratorio, i diversi patogeni e verificare la struttura delle loro popolazioni in relazione al comportamento di vecchie e nuove varietà di frumento duro e tenero, di nuovi genotipi in selezione nonché di linee e varietà differenziali portatrici di geni di resistenza, noti o ancora da identificare [14].

Ogni anno vengono collezionati dai vari campi di prova, campioni di materiale infetto e in serra vengono caratterizzate le diverse popolazioni patogene, con l'identificazione di patotipi, sulla base delle reazioni di appositi ospiti differenziali. Soprattutto nel caso di patogeni estremamente specializzati come gli agenti causali di oidio (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*) (*Bgt*) e ruggini (in particolare ruggine bruna causata da *Puccinia triticina*) (*Pt*), entro le loro popolazioni vengono continuamente selezionati nuovi geni di virulenza che rendono inefficaci, nel giro di pochi anni, i corrispondenti geni di resistenza di volta in volta introdotti nelle varietà coltivate.

Queste malattie necessitano, quindi, di un costante monitoraggio, oltreché di una continua ricerca di nuovi geni di resistenza da utilizzare nel breeding, al fine di aumentare la diversificazione genetica tra le varietà di frumento e ridurre le condizioni di omogeneità varietale che favorirebbero la diffusione dei patogeni.

Il "gene pool" rappresentato da specie di cereali primitive o selvatiche ha ricevuto un'attenzione particolare, perché queste specie comprendono "popolazioni bilanciate" per geni che conferiscono adattamento all'ambiente e resistenza verso

patogeni che evolvono rapidamente varianti con nuovi geni di virulenza. L'adattamento alle variazioni ambientali favorisce la diffusione delle specie vegetali selvatiche negli ecosistemi naturali, dove i genotipi che prevalgono sono quelli più competitivi, anche nei riguardi delle specie di patogeni e parassiti. Spesso i genotipi più competitivi diventano serbatoi di geni che trasferiti nelle specie coltivate conferiscono resistenza "durevole" ad agenti di stress biotici [7, 20].

*Dasypyrum villosum* Candargy (syn. *Haynaldia villosa*) (*Dv*) è una specie diffusa nel Mediterraneo, in particolar modo lungo il versante tirrenico della penisola italiana, dotata di ampia variabilità genetica, essendo una specie allogama, e contiene geni utili per il miglioramento del frumento per caratteri agronomici, qualitativi, nonché di resistenza alle malattie [6, 16]. La sua resistenza alle ruggini e all'oidio è stata confermata in diverse parti del mondo, compresa l'Italia [1, 2, 5, 11, 21, 22], ma è altresì resistente ad altre malattie fungine come carbone, mal del piede, rizottoniosi, fusariosi della spiga e "complesso della septoriosi" [8]. *Dv* ha mostrato resistenza nei confronti di diversi virus, ed in qualche caso anche nei confronti del vettore del virus.

Molti di questi geni sono stati individuati e localizzati nei cromosomi di *Dv*. In particolare il cromosoma 6V sembra coinvolto nel conferimento di resistenza a diversi patogeni: sul braccio corto del cromosoma 6V sono stati infatti localizzati diversi geni di resistenza, in particolare un gene di resistenza alle infestazioni da parte dell'acaro *Aceria tosichella*, vettore del virus del mosaico striato del frumento (Wheat streak mosaic virus); il gene *Yr26* che conferisce resistenza a *Puccinia striiformis*, agente causale della ruggine gialla, nonché il gene *Pm21* che conferisce resistenza a *Bgt*. Questo gene è stato molto studiato presso il Cytogenetic Institute of Nanjing Agricultural University [3, 9, 17, 19].

In questo lavoro è stato analizzato il comportamento di linee di introgressione, derivate dall'incrocio tra la cv. di frumento tenero Chinese Spring e una accessione di *Dv* proveniente da Viterbo, nei confronti di *Bgt* e *Pt*.

## 2. MATERIALI E METODI

Le analisi sono state effettuate sul materiale descritto in Tabella 4. Le linee aneuploidi CS×V32 e CS×V63 sono state ottenute presso l'Università degli studi della Tuscia, Viterbo, mediante ibridazione *Triticum aestivum* cv. Chinese Spring (CS)×*Dv* e reincrocio a CS. Entrambe le linee hanno nel genoma nucleare il cromosoma 6V#4 sottoforma di sostituzione disomica 6B-6V (CS×V32), o come addizione disomica (CS×V63) [10, 23]. Inoltre sono state saggiate le progenie F<sub>2</sub> e F<sub>3</sub> derivate dall'incrocio, realizzato a Viterbo, tra la linea di addizione (CS×V63#4) e la linea CS+6V di addizione disomica del cromosoma 6V#1 al genoma di CS. La linea CS+6V venne fornita nel 1985 da E.R. Sears, University Missouri, Columbia, USA. I materiali sono stati valutati sia nei campi sperimentali del CRA-QCE (Montelibretti-RM), che in quelli dell'Azienda Didattico Sperimentale dell'Università

degli Studi della Tuscia (Viterbo) (AzDS-UTV). Le linee CS×V32, CS×V63 e la cv. CS sono state anche inserite per due anni (2006-07 e 2007-08) nella Rete Prove Epidemiologiche Nazionali [13, 14].

I dati epidemiologici di campo sono stati rilevati utilizzando osservazioni basate su due scale di valutazione la prima (valutazioni da 1 a 9), relativa all'altezza della pianta ove si riscontra la presenza della malattia (nel caso delle ruggini) o all'altezza raggiunta dalla malattia sulla pianta, nel caso di malattie il cui sviluppo procede generalmente dal basso verso l'alto (oidio, septoriosi, stagonosporiosi, alternariosi ed altre); la seconda, indicativa dell'intensità media di infezione sugli organi attaccati, secondo la scala di Cobb 0-100%, modificata da Peterson *et al.*, 1948 [15], con i valori percentuali riportati in forma abbreviata (10% = 1, 20% = 2 etc.) [12].

Sono stati rilevati anche i sintomi, allo stadio di plantula, delle linee in esame infettate artificialmente in serra con 2 patotipi di *Bgt* (O-1 e O-2, Tabella 3) e con 3 patotipi di *Pt* (B-1, B-2 e B-3, Tabella 5) selezionati per le loro caratteristiche di virulenza e/o diffusione sul territorio. Le inoculazioni sono state effettuate su plantule (circa 7 giorni dopo la semina) con la prima foglia completamente espansa. Le plantule sono state incubate in camera umida per 24h al buio ad una temperatura di 20°C e, successivamente, sono state poste su bancali in serra ad una temperatura di 20° ± 2°C, con un fotoperiodo di 14h. Le reazioni sulle plantule sono state classificate secondo la scala 0-4 per ruggine e oidio, dove i valori da 0 a 2 indicano effetti di patotipi che inducono soltanto infezione di basso livello (Low Infection Type, LIT), corrispondenti ad un ospite resistente o moderatamente resistente; mentre i valori da 3 a 4 indicano effetti di patotipi che inducono infezione di elevata intensità (High Infection Type, HIT), corrispondenti ad un ospite moderatamente o completamente suscettibile [12].

L'ibridazione tra due linee di addizione disomica per il cromosoma 6V (la linea CS×V63, resistente a *Bgt*, contiene il cromosoma 6V#4 e la linea Cs+6V, suscettibile a *Bgt*, contiene il 6V#1), ha consentito di ottenere progenie F<sub>2</sub> ed F<sub>3</sub>. Le progenie F<sub>2</sub> sono state utilizzate per studiare la base genetica della resistenza ad oidio in CS×V63 e per stabilire la distanza di mappa con il gene di resistenza e marcatori genetici biochimici (gliadine). Le progenie F<sub>3</sub> sono state utilizzate per identificare marcatori molecolari (RAPD e SSR) associati al fenotipo di resistenza all'oidio evidenziato nella progenie F<sub>2</sub>.

Le analisi molecolari sono state condotte sul DNA genomico estratto da plantule allo stadio di prima foglia. I DNA dei campioni sono stati preparati da 100 mg di tessuto fogliare, precedentemente triturato in N<sub>2</sub> liquido, utilizzando il kit DNeasy (Qiagen). I DNA delle progenie F<sub>3</sub> sono stati ottenuti riunendo in bulk il tessuto di 12 plantule per progenie. Circa 30 ng di DNA genomico sono stati utilizzati per le reazioni di amplificazione PCR con il marcatore RAPD *OPH17*<sub>1900</sub>. Tale marcatore, costituito da un unico primer con sequenza 5'-CACTCTCCTC-3', amplifica un frammento di 1900 bp in linee resistenti all'oidio, che invece risulta

assente in quelle suscettibili. Le condizioni di amplificazione sono quelle indicate da Qi *et al.*, 1996 [18].

I protocolli sperimentali per le PCR volte ad amplificare marcatori SSR sono stati adattati da quelli riportati nei riferimenti bibliografici richiamati in Tabella 8. I prodotti di amplificazione sono stati visualizzati mediante elettroforesi su gel di agarosio 1% utilizzando il tampone di corsa TAE 1X.

### 3. RISULTATI E DISCUSSIONE

#### 3.1. Prove Epidemiologiche Nazionali

Non sempre le condizioni climatiche e di semina nei campi sperimentali dislocati su tutto il territorio italiano, nell'ambito delle Prove Epidemiologiche Nazionali, sono state favorevoli allo sviluppo di patogeni fungini. Ciò ha limitato in qualche modo la possibilità di operare rilievi rappresentativi delle reali risposte medie parcellari in condizioni di inoculo naturale. Per tali motivi, in alcuni campi, come quelli di Montelibretti e AzDS-UTV, CS e le linee CS×V32 e CS×V63 sono state anche sottoposte ad inoculazione artificiale, in particolare con isolati di ruggine bruna allo stadio adulto. Il rilievo dei sintomi causati dalle infezioni di *Bgt* e *Pt* sulle varietà di controllo suscettibili Fortunato, Novosadska, Irnerio e CS, ha comunque consentito di monitorare l'intensità di inoculo naturale presente in ciascuna località.

Per quanto riguarda l'oidio, le due linee CS×V32 e CS×V63 sono risultate resistenti in tutte le località dove la malattia è stata rilevata ma, soprattutto, in quelle località dove gli attacchi del patogeno sono stati più consistenti (in particolare al Nord Italia: Lonigo (VI), S. Angelo Lodigiano (LO), S. Lazzaro di Savena (BO) ma anche nel Lazio, campo di Viterbo), come dimostrato dalle percentuali di infezione rilevate sulle varietà di controllo suscettibili (Tab. 1).

In Tab. 2 è stato riportato il comportamento delle stesse linee e varietà di controllo nei confronti della ruggine bruna. Anche in questo caso le linee di addizione e sostituzione disomica per il cromosoma 6V hanno mostrato un buon comportamento in campo, anche in quelle località dove sia i controlli suscettibili, ma anche CS, hanno subito attacchi più evidenti. Questo farebbe pensare alla presenza di uno o più geni specifici che determinano resistenza in pianta adulta. La localizzazione di tali geni dovrebbe essere nel cromosoma 6V, in quanto la varietà parentale CS (già portatrice dei geni *Lr12* e *Lr34*, condizionanti resistenza di pianta adulta), è risultata più sensibile alla malattia in campo, laddove le linee di introgressione derivate da CS hanno subito infezioni più lievi.

#### 3.2. Valutazione dei sintomi di oidio dopo infezioni controllate con isolati di *Bgt*

Inoculazioni artificiali, in condizioni controllate di serra, sono state eseguite con patotipi isolati entro la popolazione di *Bgt*, risultati più diffusi in Italia o più

TAB. 1 – Infezioni di oidio rilevate in campo, in differenti località, sulle linee aneuploidi e su varietà di controllo nel 2007 e 2008.

| Linee/Varietà                       | Lonigo<br>(VI) |      | S. Angelo<br>(LO) |      | S. Lazzaro<br>(BO) |      | Viterbo<br>(VT) |      | Foggia<br>(FG) |      | Libertinia<br>(CT) | Caltagirone<br>(CT) |
|-------------------------------------|----------------|------|-------------------|------|--------------------|------|-----------------|------|----------------|------|--------------------|---------------------|
|                                     | 2007           | 2008 | 2007              | 2008 | 2007               | 2008 | 2007            | 2008 | 2007           | 2008 |                    |                     |
| CS×V32 V616-1                       | 0              | 1-2  | 8-3               | 0    | 0                  | 0    | 0               | 0    | 0              | 0    | 1-Tr               | 1-3                 |
| CS×V63                              | 0              | 0    | 8-1               | 8-1  | 1-1                | 0    | 0               | 0    | 0              | 0    | Tr                 | 1-3                 |
| Chinese Spring<br>(CS)              | –              | 7-6  | –                 | 7-6  | –                  | 1-Tr | 6-6             | 6-5  | –              | 0    | 0                  | –                   |
| Fortunato: varietà<br>di controllo  | 6-4            | 6-6  | 8-4               | 8-3  | 9-6                | 7-4  | 7-6             | 7-5  | 0              | 5-3  | 1-Tr               | 5-3                 |
| Novosadska:<br>varietà di controllo | 8-5            | 7-7  | 8-5               | 8-5  | 9-4                | 7-5  | 8-4             | 8-5  | 5-1            | 5-3  | 5-3                | 1-2                 |
| Irnerio: varietà di<br>controllo    | 8-7            | 7-7  | 8-5               | 8-4  | 9-7                | 7-7  | –               | 8-6  | 1-2            | 7-5  | 7-8                | 1-4                 |

I dati indicano l'altezza relativa (valutazioni da 1 a 9) raggiunta dalla malattia sulla pianta (1° cifra) e l'intensità media di infezione sugli organi attaccati secondo la scala di Cobb modificata (0 - 100%) da Peterson *et al.* (1948), con i valori percentuali riportati in forma abbreviata (10% = 1, 20% = 2 ecc.) (2° cifra); Tr = tracce; – = dato mancante.

TAB. 2 – Infezioni di ruggine bruna rilevate in campo, in differenti località, sulle linee aneuploidi e su varietà di controllo nel 2007 e 2008.

| Linee / Varietà                  | S. Angelo Lodigiano (LO) |      | Grosseto (GR) | Montelibretti (RM) |      | Ussana (CA) |      | Foggia (FG) |      | Gela (CL) |      |
|----------------------------------|--------------------------|------|---------------|--------------------|------|-------------|------|-------------|------|-----------|------|
|                                  | 2007                     | 2008 |               | 2007               | 2008 | 2007        | 2008 | 2007        | 2008 | 2007      | 2008 |
| CS×V32 V616-1                    | –                        | 0    | 3             | 0                  | 5-1  | 0           | 0    | –           | 0    | –         | 7-3  |
| CS×V63                           | –                        | 8-2  | 3             | Tr                 | Tr   | 0           | 0    | –           | 0    | –         | 8-2  |
| Chinese Spring (CS)              | –                        | 8-4  | –             | –                  | 8-4  | –           | 8-4  | –           | 0    | –         | 8-4  |
| Fortunato: varietà di controllo  | 7-3                      | 8-7  | 8             | 8-5                | 8-4  | 8-6         | 8-5  | 8-3         | 5-2  | 7-5       | 7-4  |
| Novosadska: varietà di controllo | 7-2                      | 8-5  | 2             | 1-1                | 5-1  | 0           | 8-Tr | 0           | 0    | 1-1       | 5-4  |
| Irnerio: varietà di controllo    | 8-3                      | 8-8  | 8             | 8-2                | 8-5  | 8-6         | 8-3  | 8-2         | 0    | 8-6       | 8-7  |

I dati indicano l'altezza relativa (valutazioni da 1 a 9) raggiunta dalla malattia sulla pianta (1° cifra) e l'intensità media di infezione sugli organi attaccati secondo la scala di Cobb modificata (0 - 100%) da Peterson *et al.* (1948), con i valori percentuali riportati in forma abbreviata (10% = 1, 20% = 2 ecc.) (2° cifra); Tr = tracce; – = dato mancante.

interessanti per le loro caratteristiche di virulenza. In particolare sono stati utilizzati i patotipi O1 e O2, la cui formula di avirulenza/virulenza viene riportata in Tab. 3. C'è da sottolineare in generale la maggiore virulenza del patotipo O2, verso il quale sono risultati inefficaci parecchi geni di resistenza tra cui *Pm1* e *Pm2*.

TAB. 3 – Formule di avirulenza/virulenza dei patotipi di *Blumeria graminis* utilizzati per le inoculazioni artificiali.

|     |                                                                     |
|-----|---------------------------------------------------------------------|
| O-1 | <i>Pm1, Pm2, Pm3a, Pm3b, Pm3c, Pm3d / Pm4a, Pm4b, Pm5, Pm6, Mli</i> |
| O-2 | <i>Pm3a, Pm3b, Pm3d / Pm1, Pm2, Pm3c, Pm4a, Pm4b, Pm5, Pm6, Mli</i> |

Le inoculazioni realizzate sulle linee in esame (Tab. 4) hanno evidenziato la completa ed uniforme resistenza delle piante della linea di addizione disomica CS×V63, mentre la linea di sostituzione CS×V32 ha mostrato una certa instabilità, segregando fenotipi resistenti e suscettibili nei riguardi di entrambi gli isolati. Tutte le altre linee saggiate, che sono linee di sostituzione o di addizione per uno degli altri cromosomi di *Dv* (in particolare 3V, 4V, 5V e 7V) sono risultate suscettibili ai due patotipi di *Bgt*, indicando quindi l'assenza sugli altri cromosomi di *Dv* di geni di resistenza nei confronti dei patotipi impiegati. Solo una delle linee portatrici del cromosoma 1V è risultata segregante rispetto al patotipo O1, facendo ipotizzare la presenza, anche su questo cromosoma, di qualche fattore di resistenza all'oidio.

È interessante sottolineare che l'anfiploide M×V, anch'esso portatore del cromosoma 6V, derivato dall'incrocio tra il *T. turgidum* var. *durum* cv Modoc (risultato suscettibile ai due patotipi di oidio esaminati) e un'accessione di *Dv* proveniente dalla Puglia, è risultato resistente all'oidio. Al contrario, la linea CS+6V ottenuta dal Prof. E.R. Sears a partire da un'altra accessione italiana di *Dv*, è invece risultata suscettibile ad entrambi i patotipi di oidio. Questi dati hanno anche confermato l'estrema variabilità presente nelle accessioni di *Dv* utilizzate.

L'attenzione è stata poi focalizzata sul controllo genetico della resistenza all'oidio osservata nelle linee di introgressione, allo scopo di verificare se questa resistenza era da attribuire al locus *Pm21*, già identificato sul braccio corto del cromosoma 6V di *Dv* [19]. Recentemente il gene *Pm21*, inizialmente localizzato nel tratto di DNA corrispondente al 58% prossimale del braccio cromosomico 6VS, è stato poi mappato nella regione compresa tra il 45% e 58% (FL0.45-FL0.58) della regione prossimale al centromero del 6VS [4].

Sulle piantine allo stadio di prima foglia della progenie F<sub>2</sub> dell'incrocio (CS+6V)×(CS×V63) realizzato a Viterbo, sono state effettuate sia analisi fitopatologiche, mediante inoculazioni artificiali con il patotipo O2 di *Bgt* (risultato il più virulento su linee di controllo), e sia analisi elettroforetiche di marcatori molecolari

TAB. 4 – Reazioni in serra, allo stadio di plantula, di linee di introgressione e genotipi di controllo, inoculati artificialmente con patotipi di *B. graminis*.

| Linee                                       | O-1 <sup>a</sup> | O-2 <sup>a</sup> |
|---------------------------------------------|------------------|------------------|
| CS × V.63 95-97 2n = 44                     | 0                | 0                |
| CS × V63 1.95 2n = 44                       | 0                | 0                |
| CS × V32 v616-1 2n = 42                     | 0/3              | 0/3-             |
| CS × V32 v623-3 2n = 42                     | 0/1++3=          | 0/3-             |
| Chinese Spring (CS)                         | 3/3+             | 3+               |
| CS + 1V (1A) 2n = 42                        | 1++/3            | 3                |
| CS + 1V (2.98) 2n = 44                      | 3+               | 3                |
| CS × V11 1.2 2n = 44 (1V)                   | 3                | 3                |
| CS × V11/2.98 2n = 44 (1V)                  | 3+               | 3                |
| CS × V11/2.95 2n = 44 (1V)                  | 3+               | 3                |
| CS + 2V 554-2 2n = 44                       | 3                | 3                |
| A18 r87 v640-3 (3VLt <sup>+</sup> ) 2n = 40 | 3                | 3                |
| CS + 4V/1.98 2n = 44                        | 3+               | 3                |
| CS + 5V 2n = 44                             | 3+               | 3                |
| CS + 7V/2.98 2n = 44                        | 3                | 3                |
| Modoc ( <i>T. durum</i> )                   | 3+               | 3+               |
| Anf. M × V                                  | 0                | 0                |
| CS + 6V (Sears)                             | 3+               | 3+               |
| DvT v330                                    | 0                | 0                |
| Dv 200 v346                                 | 0                | 0                |

<sup>a</sup> scala di lettura 0-4

e biochimici (proteine di riserva). Su un totale di 356 piante F<sub>2</sub>, 270 sono risultate resistenti e 86 suscettibili in accordo con l'ipotesi di una segregazione di tipo monogenico dominante 3:1 (Tab. 5). L'analisi ha quindi dimostrato che il controllo della resistenza è dovuto ad un unico gene dominante che è stato momentaneamente denominato *PmVt*. Questo gene potrebbe risultare allelico al gene *Pm21*, già individuato sul braccio corto del cromosoma 6V di *Dv*.

TAB. 5 – Segregazione per la resistenza al patotipo O-2 di oidio nelle piante F<sub>2</sub>.

| Combinazione di incroci      | Numero di piante F <sub>2</sub> | Resistenti | Suscettibili | $\chi^2$ (3:1)        |
|------------------------------|---------------------------------|------------|--------------|-----------------------|
| “CS × V63 #4” × “CS + 6V #1” | 356                             | 270        | 86           | 0,284 ns <sup>a</sup> |

<sup>a</sup> ns = non significativo

### 3.3. Valutazione dei sintomi di ruggine bruna dopo infezioni controllate con isolati di *Pt*

Le inoculazioni sono state realizzate con 3 patotipi di *Pt*, B-1, B-2 e B-3, la cui formula di avirulenza/virulenza viene riportata in Tab. 6. Le linee differenziali portatrici dei geni *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr9*, *Lr19*, *Lr29* e *Lr47* hanno evidenziato la loro resistenza nei confronti di tutti e tre gli isolati e nell'arco di molti anni, mentre altre linee, in particolare quelle portatrici dei geni *Lr3*, *Lr10* e *Lr24*, hanno mostrato un comportamento variabile.

Le linee aneuploidi per il cromosoma 6V sono risultate completamente suscettibili dopo infezione allo stadio di plantula con i tre patotipi di *Pt*, mentre le due accessioni di *Dv* sono risultate resistenti (Tab. 7). Questo comportamento sarebbe indicativo dell'assenza di geni di resistenza efficaci, allo stadio di plantula, nei confronti dello spettro di virulenza considerato e confermerebbe la resistenza in pianta adulta delle stesse linee, sia rispetto ad infezioni naturali del patogeno che ad infezioni indotte artificialmente.

### 3.4. Associazione tra fenotipi di resistenza e marcatori genetici

Per stabilire la localizzazione del gene di resistenza a *Bgt* sul cromosoma 6V, sono state eseguite analisi di marcatori genetici nelle progenie F<sub>2</sub> ed F<sub>3</sub> derivate dall'ibridazione (CS + 6V) × (CS × V63).

TAB. 6 – Formule di avirulenza/virulenza dei patotipi di *Puccinia triticina* utilizzati per le inoculazioni artificiali.

|     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| B-1 | <i>Lr1</i> , <i>Lr2a</i> , <i>Lr2b</i> , <i>Lr9</i> , <i>Lr10</i> , <i>Lr19</i> , <i>Lr20</i> , <i>Lr23</i> , <i>Lr24</i> , <i>Lr29</i> , <i>Lr47</i> /<br><i>Lr2c</i> , <i>Lr3</i> , <i>Lr15</i> , <i>Lr16</i> , <i>Lr17</i> , <i>Lr21</i> , <i>Lr25</i> , <i>Lr26</i> , <i>Lr28</i> , <i>Lr30</i> , <i>Lr32</i> , <i>Lr33</i> |
| B-2 | <i>Lr1</i> , <i>Lr2a</i> , <i>Lr2b</i> , <i>Lr2c</i> , <i>Lr9</i> , <i>Lr10</i> , <i>Lr16</i> , <i>Lr19</i> , <i>Lr20</i> , <i>Lr21</i> , <i>Lr24</i> , <i>Lr29</i> , <i>Lr32</i> , <i>Lr47</i> /<br><i>Lr3</i> , <i>Lr15</i> , <i>Lr17</i> , <i>Lr23</i> , <i>Lr25</i> , <i>Lr26</i> , <i>Lr28</i> , <i>Lr30</i> , <i>Lr33</i> |
| B-3 | <i>Lr1</i> , <i>Lr2a</i> , <i>Lr2b</i> , <i>Lr3</i> , <i>Lr9</i> , <i>Lr19</i> , <i>Lr21</i> , <i>Lr20</i> , <i>Lr23</i> , <i>Lr29</i> , <i>Lr47</i> /<br><i>Lr2c</i> , <i>Lr10</i> , <i>Lr15</i> , <i>Lr16</i> , <i>Lr17</i> , <i>Lr24</i> , <i>Lr25</i> , <i>Lr26</i> , <i>Lr28</i> , <i>Lr30</i> , <i>Lr32</i> , <i>Lr33</i> |

TAB. 7 – Reazioni in serra <sup>(a)</sup>, allo stadio di plantula, di linee di introgressione e genotipi di controllo, inoculati artificialmente con patotipi di *P. triticina*.

| Linee            | B-1  | B-2  | B-3   |
|------------------|------|------|-------|
| Chinese Spring   | 3+   | 3+   | 4     |
| CS x V63 A 2n=44 | 3+   | 3+ 4 | 4     |
| CS x V32 S 2n=42 | 3+ 4 | 3    | 4     |
| CS 1BL/1VS       | 3+   | 3+   | 3+ 4  |
| CS + 6V          | 3+   | 3+   | 3+ 4  |
| <i>Dv</i> T      | 1-   | 0    | 0; 1= |
| <i>Dv</i> 200    | 1=   | 1-   | 1-    |
| CS x V58 2n=42   | 3+   | 3+   | 3+    |
| CS x V59 2n=42   | 3+   | 3+   | 3+    |
| CS x V60 2n=42   | 3+   | 3+   | 3+    |

<sup>a</sup> scala di lettura 0-4.

Le cariossidi della progenie  $F_2$  sono state analizzate, per evidenziare la segregazione dei marcatori biochimici rappresentati dalle gliadine controllate al locus *Gli-V2* nel 6V#4S. Le analisi elettroforetiche delle proteine di riserva (A-PAGE) hanno confermato l'eredità monogenica del blocco delle gliadine  $\alpha/\beta$  codificate al locus *Gli-V2*, ma ulteriori analisi sono tuttora in corso per verificare l'eventuale associazione tra il locus *PmVt* e il locus *Gli-V2*.

Per procedere all'analisi delle progenie  $F_3$  derivate dalle piante  $F_2$  nate dalle cariossidi analizzate per le gliadine, sono stati saggiati diversi marcatori molecolari, scelti in base alle informazioni disponibili in letteratura sulla loro localizzazione nei cromosomi del gruppo omoeologo 6 di frumento. Per ora sono stati saggiati 45 marcatori dei quali solo 6 sono risultati polimorfici nei parentali CS+6V e CS×V63 (Tab. 8).

Sono state anche effettuate analisi, mediante PCR, sul DNA preparato da alcune progenie  $F_3$ , generate da piante  $F_2$  resistenti e suscettibili all'oidio, utilizzando il frammento da 1900 bp amplificato utilizzando come marcatore molecolare il primer RAPD *OPH17* specifico per il braccio corto del cromosoma 6V. In altri studi questo marcatore era risultato associato al gene *Pm21* [18]. Il primer *OPH17* amplifica la banda da 1900 bp in CS×V63 ma non in Cs+6V (Fig. 1). Quindi è atteso che le progenie  $F_3$  manifestino segregazione oltre che per la resistenza/suscettibilità a *Bgt*, anche per la presenza/assenza dell'amplicone *OPH17*<sub>1900</sub>. Le indagini preliminari, condotte su una parte delle progenie  $F_3$  disponibili, hanno evi-

TAB. 8 – Marcatori utilizzati per la ricerca di polimorfismi.

| Marcatore | Loc. Cromos. | Polimorfismi | Riferimento bibliografico                                              |
|-----------|--------------|--------------|------------------------------------------------------------------------|
| cf1       | 6BD          | –            | Guyomarc'h <i>et al.</i> (2002) TAG 104: 1164-1172.                    |
| cf13      | 6BD          | –            | Guyomarc'h <i>et al.</i> (2002) TAG 104: 1164-1172.                    |
| cfe124    | 6BD          | –            | Zhang <i>et al.</i> (2005) TAG 111: 667-687.                           |
| cfe125    | 6AB          | –            | Zhang <i>et al.</i> (2005) TAG 111: 667-687.                           |
| cfe2      | 6ABD         | –            | Zhang <i>et al.</i> (2005) TAG 111: 667-687.                           |
| cfe297    | 6AB          | –            | Zhang <i>et al.</i> (2005) TAG 111: 667-687.                           |
| cwem20    | 6D           | –            | Peng and Lapitan (2005) Funct. Integr. Genomics 5: 80-96.              |
| cwem47    | 6D           | –            | Peng and Lapitan (2005) Funct. Integr. Genomics 5: 80-96.              |
| cwem48    | 6D           | –            | Peng and Lapitan (2005) Funct. Integr. Genomics 5: 80-96.              |
| cwem49    | 6ABD         | –            | Peng and Lapitan (2005) Funct. Integr. Genomics 5: 80-96.              |
| cwem5     | 6A           | –            | Peng and Lapitan (2005) Funct. Integr. Genomics 5: 80-96.              |
| cwem51    | 6D           | –            | Peng and Lapitan (2005) Funct. Integr. Genomics 5: 80-96.              |
| cwem53    | 6B           | –            | Peng and Lapitan (2005) Funct. Integr. Genomics 5: 80-96.              |
| cwem54    | 6D           | –            | Peng and Lapitan (2005) Funct. Integr. Genomics 5: 80-96.              |
| cwem7     | 6ABD, 1B     | –            | Peng and Lapitan (2005) Funct. Integr. Genomics 5: 80-96.              |
| GDM107    | 2D           | –            | Pestsova <i>et al.</i> (2000) Genome 43: 689-697.                      |
| GDM145    | 4A, 7D       | –            | Pestsova <i>et al.</i> (2000) Genome 43: 689-697.                      |
| GDM36     | 6D, 1AB      | +            | Pestsova <i>et al.</i> (2000) Genome 43: 689-697.                      |
| gwm193    | 6B           | –            | Roder <i>et al.</i> (1998) Genetics 149: 2007-2023.                    |
| gwm219    | 6B           | –            | Roder <i>et al.</i> (1998) Genetics 149: 2007-2023.                    |
| gwm344    | 7AB          | –            | Roder <i>et al.</i> (1998) Genetics 149: 2007-2023.                    |
| gwm459    | 6A           | –            | Roder <i>et al.</i> (1998) Genetics 149: 2007-2023.                    |
| gwm508    | 6B           | –            | Roder <i>et al.</i> (1998) Genetics 149: 2007-2023.                    |
| gwm518    | 6B           | –            | Roder <i>et al.</i> (1998) Genetics 149: 2007-2023.                    |
| gwm626    | 6B           | –            | Roder <i>et al.</i> (1998) Genetics 149: 2007-2023.                    |
| Wmc233    | 5D           | –            | Somers and Isaac (2004) SSRs from the Wheat Microsatellite Consortium. |
| Wmc25     | 2B           | –            | Somers and Isaac (2004) SSRs from the Wheat Microsatellite Consortium. |
| Wmc256    | 6A           | –            | Somers and Isaac (2004) SSRs from the Wheat Microsatellite Consortium. |
| Wmc417    | 6AB          | –            | Somers and Isaac (2004) SSRs from the Wheat Microsatellite Consortium. |
| Wmc49     | 1B           | –            | Somers and Isaac (2004) SSRs from the Wheat Microsatellite Consortium. |
| wmc748    | 6ABD         | –            | Somers and Isaac (2004) SSRs from the Wheat Microsatellite Consortium. |
| wmc786    | 6ABD         | +            | Somers and Isaac (2004) SSRs from the Wheat Microsatellite Consortium. |
| wms469    | 6D           | +            | Roder <i>et al.</i> (1998) Genetics 149: 2007-2023.                    |
| Xcn138    | 6AB          | +            | Ju-Kyung Yu <i>et al.</i> (2004) Genome 47: 805-819.                   |

|          |      |   |                                                  |
|----------|------|---|--------------------------------------------------|
| Xcau127  | 6    | + | Song <i>et al.</i> (2007) Euphytica 158: 95-102. |
| BE637372 | 6ABD | – | EST                                              |
| BF146004 | 6ABD | – | EST                                              |
| BE588115 | 6ABD | – | EST                                              |
| BF145253 | 6ABD | – | EST                                              |
| TC65967  | 6ABD | – | EST                                              |
| BE587763 | 6ABD | – | EST                                              |
| BE495730 | 6ABD | – | EST                                              |
| CD453319 | 6ABD | – | EST                                              |
| BQ160189 | 6ABD | + | EST                                              |
| BE704532 | 6BD  | – | EST                                              |

denziato la segregazione attesa, ma l'associazione del marcatore in questione con il gene di resistenza individuato (che potrebbe corrispondere al *Pm21*), non sembra stretta (Fig. 1). Infatti, mentre il bulk di DNA di alcune progenie  $F_3$  derivate da piante  $F_2$  suscettibili a *Bgt*, consentiva l'amplificazione del frammento *OPH17*<sub>1900</sub>, il DNA di alcune progenie  $F_3$  derivate da piante  $F_2$  resistenti a *Bgt*, non ha consentito l'amplificazione del suddetto frammento. Il marcatore *OPH17*<sub>1900</sub>, pur non risultando strettamente associato al gene *PmVt*, tuttavia potrebbe risultare utile almeno per diagnosticare la presenza del cromosoma 6V#4.

Saranno quindi necessarie ulteriori indagini sia per confermare l'eventuale allelismo tra il gene *PmVt* e il *Pm21*, sia per quantificare con precisione la distanza di mappa tra il locus per *OPH17*<sub>1900</sub> e *PmVt*.

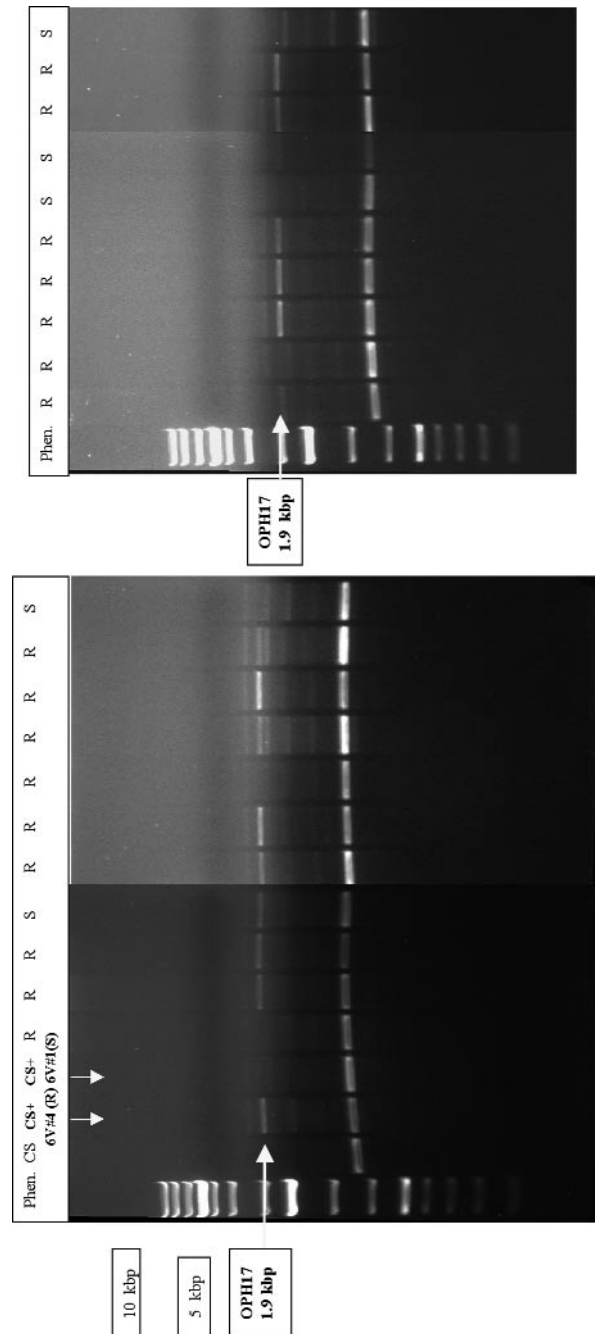
#### 4. CONCLUSIONI

L'analisi delle linee di introgressione del cromosoma 6V di *Dv* in CS, ha evidenziato la presenza di genotipi interessanti per diversi caratteri ed ha consentito di fare ulteriori passi avanti per quanto riguarda la resistenza a malattie fungine. In particolare i risultati ottenuti hanno evidenziato:

1) la variabilità di risposta ai patogeni in ecotipi diversi di *D. villosum*: gli ecotipi provenienti dal Lazio e dalla Puglia sono risultati donatori di resistenza a *Blumeria graminis*;

2) la disponibilità di una popolazione segregante per resistenza all'oidio; la resistenza è controllata da alleli ad un locus denominato *PmVt* (forse allelico a *Pm21*); l'allele dominante determina resistenza; questa popolazione è molto utile per mappare i loci sul cromosoma 6V.

3) la presenza di resistenza di pianta adulta a *P. tritricina* nelle linee di introgressione; la resistenza ha un controllo genetico semplice (probabilmente dovuta ad



R = resistente; S = Suscettibile

Fig. 1. Analisi preliminari su progenie  $F_3$  resistenti e suscettibili derivate dall'incrocio (CSxV63#4) x (CS+6V#1) utilizzando il marcatore *OPH17*<sub>1900</sub>

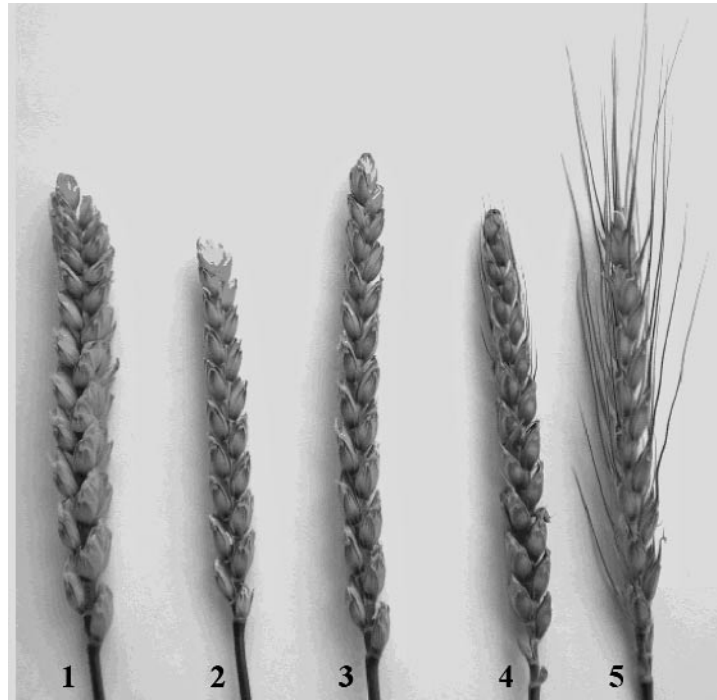


Fig. 2. Fenotipo della spiga di: 1. "Chinese Spring" (CS); 2. CS + 6V (=CS-DA 6V #1); 3. CS x V32 (=CS-DS 6B-6V #4 suscettibile a ruggine bruna); 4. CS x V32 (=CS-DS 6B-6V #4 resistente a ruggine bruna); 5. CS x V63 (=CS-DA 6V #4).

alleli ad un solo locus); il fenotipo resistente è dominante ed il corrispondente gene è localizzato sul cromosoma 6V.

In Italia il rischio di pesanti epidemie è potenzialmente molto alto per vari motivi tra cui la selezione, entro le popolazioni patogene, di nuove varianti virulente, la diffusione in coltura di varietà suscettibili spesso provenienti da paesi stranieri, la migrazione di inoculi da Paesi confinanti e, non ultimo, i cambiamenti che si sono verificati nelle pratiche agricole.

La scelta delle varietà di frumento da coltivare per avere una garanzia di qualità e sicurezza del prodotto, deve essere orientata verso quei genotipi che, accanto a buone caratteristiche di tipo agronomico, qualitativo e di adattamento alle condizioni pedoclimatiche delle aree in cui devono essere utilizzati, posseggano caratteri di resistenza "durevole" o tolleranza nei confronti di uno o più patogeni.

È importante quindi selezionare nuovi genotipi di frumento, con l'ausilio del breeding classico e della selezione assistita, caratterizzati da una resistenza multipla e durevole nei confronti di differenti patogeni, e che sia efficace su un'ampia area geografica. Il cromosoma 6V di *D. villosum* offre la possibilità di trasferire con-

temporaneamente geni che conferiscono resistenza ad oidio sin dallo stadio di plantula e di geni che determinano resistenza in pianta adulta alla ruggine bruna, semplificando le procedure di “gene pyramiding” per resistenze multiple ad agenti causali di stress biotici in frumento.

**Riassunto** – I patogeni fungini costituiscono un fattore limitante per la produzione cerealicola, sia in termini qualitativi che quantitativi. Da anni vengono condotte indagini sul territorio nazionale, attraverso una rete di monitoraggio epidemiologico per valutare l'incidenza e la diffusione delle malattie fungine del frumento. L'obiettivo primario del miglioramento genetico del frumento è l'introgresione, in genotipi dotati di interessanti caratteristiche qualitative e produttive, di nuovi geni di resistenza a stress biotici. Il *Dasyphyrum villosum* Candargy (syn. *Haynaldia villosa*) (*Dv*) è una specie dotata di ampia variabilità genetica ed è risultata portatrice di molti geni utili per il miglioramento genetico di caratteristiche agronomiche, qualitative, ma anche, di resistenza alle malattie fungine. L'analisi di linee di introgresione, derivate dall'ibridazione tra la cv. di frumento tenero Chinese Spring e una accessione di *Dv* collezionata nei pressi di Viterbo, hanno dimostrato resistenza nei confronti di *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* e *Puccinia triticina*.

Il lavoro è stato condotto in serra, effettuando inoculazioni artificiali con patotipi di oidio e ruggine bruna, e in campo, effettuando rilievi fitopatologici sulle linee in prova. In particolare sono state saggiate la linea di sostituzione monosomica CS×V32 e la linea di addizione disomica CS×V63 per il cromosoma 6V di *Dv*. I dati ottenuti hanno evidenziato la resistenza all'oidio, sia in plantula che in pianta adulta, della linea CS×V63 e la sua suscettibilità in plantula ma resistenza in pianta adulta, rispetto alla ruggine bruna.

Per quanto riguarda l'oidio, l'analisi delle progenie  $F_{2,3}$  derivate dall'incrocio tra la linea CS×V63 resistente all'oidio disomica per il cromosoma 6V #4, e la linea CS+6V suscettibile all'oidio e disomica per il cromosoma 6V #1, ha confermato un rapporto di segregazione 3:1 tra fenotipi resistenti e suscettibili, indice della presenza di un locus nel 6V (denominato *PmVt*), dove l'allele dominante sul 6V #4 determina la resistenza sia di campo che verso specifici isolati virulenti. Il marcatore molecolare OPH17<sub>1900</sub>, localizzato nel 6V, ha mostrato una debole associazione con il gene di resistenza. Altri marcatori molecolari dei cromosomi del gruppo omeologo 6 di frumento ed il locus *Gli-V2* sono dei promettenti marcatori del locus *PmVt*. In aggiunta, il cromosoma 6V #4 possiede almeno un locus con allele dominante che conferisce resistenza in pianta adulta alla *P. triticina*.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Bizzarri M., P. Vaccino, M. Pasquini, F. Nocente, J. Bianchi, P.G. Cionini, E. Caceres, C. De Pace, 2007. The genetics of wheat powdery mildew resistance expressed after the introgression of chromosome 6V in *T. aestivum*. Proc. 51° Annual Congress S.I.G.A., Riva del Garda, settembre. ISBN 978-88-900622-7-8.
- [2] Blanco A., R. Simeone, P. Resta, 1987. The addition of *Dasyrryrum villosum* (L.) Candargy chromosomes to durum wheat (*Triticum durum* Desf.) Theor. Appl. Genet. 74, 328-333.
- [3] Chen P.D., L.L. Qi, B. Zhou, S.Z. Zhang, D.J. Liu, 1995. Development and molecular cytogenetic analysis of wheat-*Haynaldia villosa* 6VS/6AL translocation lines specifying resistance to powdery mildew. Theor. Appl. Genet., 91: 1125-1128.
- [4] Chen Q.Z., A.Z. Cao, Z.J. Qi, W. Zhang, P.D. Chen, 2008. Structural changes of 2V chromosome of *Haynaldia villosa* induced by gametocidal chromosome 3C of *Aegilops triuncialis*. Agri. Sci. China. 7: 804-811.
- [5] De Pace C., R. Paolini, G.T. Scarascia Mugnozza, C.O. Qualset, V. Delre, 1990. Evaluation and utilization of *Dasyrryrum villosum* as a genetic resource for wheat improvement. In: Srivastava J.P., Damanía A.B. (eds.) Wheat genetic resources: meeting diverse needs pp. 279-289, 378-379.
- [6] De Pace C., D. Snidaro, M. Ciaffi, D. Vittori, A. Ciofo, A. Cenci, O.A. Tanzarella, C.O. Qualset and G.T. Scarascia Mugnozza, 2001. Introgression of *Dasyrryrum villosum* chromatin into common wheat improves grain protein quality. Euphytica, 117: 67-75.
- [7] Friebe B., J. Jiang, W.J. Raupp, R.A. McIntosh & B.S. Gill, 1996. Characterization of wheat-alien translocations conferring resistance to diseases and pests: current status. Euphytica, 91, 59-87.
- [8] Gradzielewska A., 2006. The genus *Dasyrryrum*-part 2. *Dasyrryrum villosum*-a wild species used in wheat improvement. Euphytica, 152: 441-454.
- [9] Liu D.J., L.L. Qi, P.D. Chen, B. Zhou, S.Z. Zhang, 1996. Precise identification of an alien chromosome segment introduced in wheat and stability of its resistance gene. Acta Genet. Sinica, 23: 18-23.
- [10] Minelli S., M. Ceccarelli, F. Galeotti, M. Mariani, C. De Pace, P.G. Cionini, 2003. Localization of genes in the chromosomes of *Dasyrryrum villosum* and phylogenetic implication of their homeology to the A, B, and D chromosomes of wheat. In: Proc. 10<sup>th</sup> Int. Wheat. Genet. Symp., Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura, Rome, Italy, vol. 2, pp. 494-496.
- [11] Pasquini M., M. De Los Angeles Gras, J. Vallega, 1978. *Haynaldia villosa* (L.) Shur. come fonte di resistenza alle ruggini e all'oidio, da incorporare nelle specie di frumento coltivate. Atti Giornate Fitopatologiche, 349-353.
- [12] Pasquini M. e G. Delogu, 2003. *Malattie dei Cereali a paglia. Manuale per la diagnosi delle principali patologie e per il riconoscimento dei relativi agenti patogeni*. Failli Editore: pp. 92.
- [13] Pasquini M., A. Iori, A. Matere, L. Sereni, F. Casini, A. L'Aurora, F. Nocente, L. Gazza, A. Siniscalco, P. Codianni, S. Paone, G. Preiti, I. Raimondo, B. Randazzo, S. Licciardello, L. Mameli, E. Bersani, S. Padovan, P. Viola, T. Notario, 2007. Annata favorevole per le malattie fungine del grano. L'Informatore Agrario, 41: 72-75.
- [14] Pasquini M., A. Iori, A. Matere, L. Sereni, F. Casini, A. L'Aurora, P. Cacciatori, M. Chierico, F. Nocente, A. Siniscalco, P. Codianni, S. Paone, G. Preiti, L. Mameli, I. Raimondo, B. Randazzo, S. Licciardello, P. Viola, E. Bersani, S. Padovan, T. Notario, 2008. Sui frumenti più septoriosi e fusariosi della spiga. L'Informatore Agrario, 46: 48-52.
- [15] Peterson R.F., A.B. Campbell, A.E. Hannah, 1948. A diagrammatic scale for estimating rust intensity of leaves and stems of cereals. Can. J. of Res. Section C, 26: 496-500.

- [16] Qualset C.O., G.Y. Zhong, C. De Pace, P.E. McGuire, 1993. Population biology and evaluation of genetic resources of *Dasypyrum villosum*, in Damania A.B. (ed.): Biodiversity and Wheat Improvement, pp. 227-233 (John Wiley & Sons, Chichester 1993).
- [17] Qi L.L., P.D. Chen, D.J. Liu, B. Zhou, S.Z. Zhang, 1995. The gene *Pm21*-a new source of resistance to wheat powdery mildew. *Acta Agron. Sinica*, 21: 257-260.
- [18] Qi L.L., M.S. Cao, P.D. Chen, W.L. Li and D.J. Liu, 1996. Identification, mapping and application of polymorphic DNA associated with resistance gene *Pm21* of wheat. *Genome*, 39: 191-197.
- [19] Qi L.L., S.L. Wang, P.D. Chen, D.J. Liu, B.S. Gill, 1998. Identification and physical mapping of three *Haynaldia villosa* chromosome-6V deletion lines. *Theor. Appl. Genet.*, 97: 1042-1046.
- [20] Sharma H.C., J.C. Waines and K.W. Foster, 1981. Variability in primitive and wild wheats for useful genetic characters. *Crop. Sci.*, 21: 555-559.
- [21] Vaccino P., M. Corbellini, M. Cattaneo, S. Negri, M. Pasquini, P.G. Cionini, E. Caceres, D. Vittori, A. Ciofo, C. De Pace, 2007. Analysis of genotype-by-environment interaction in wheat using aneuploid lines with chromatin introgressed from *Dasypyrum villosum*. *Proc. 51° Annual Congress S.I.G.A.*, Riva del Garda, settembre 2007. ISBN 978-88-900622-7-8.
- [22] Vaccino P., R. Banfi, M. Corbellini, E. Caceres, P.G. Cionini, M. Pasquini, M. Bizzarri, C. De Pace, 2008. Wheat breeding for responding to environmental changes: enhancement of modern varieties using a wild relative for introgression of adapted genes and genetic bridge. Oral communication Abstract – 4.05. *Proceedings of the 52<sup>nd</sup> Italian Society of Agricultural Genetics Annual Congress Padova, Italy – 14/17 September, 2008*. ISBN 978-88-900622-8-5.
- [23] Vaccino P., T. Coppa, M. Corbellini, C. De Pace, 2011. Aspetti genetico-molecolari e tecnologici del trasferimento al frumento di geni del *D. villosum*. In: *‘Trasferimento di geni dalla specie selvatica D. villosum al frumento per aumentarne l’adattamento ai sistemi agrari sostenibili: Risultati ottenuti dalla collaborazione scientifica tra Università italiane e l’Università della California’*. Collana ‘Scritti e Documenti’ XLIV, pp. 151-169, Accademia Nazionale delle Scienze detta dei XL, Roma.

*Il volume è stato pubblicato grazie al contributo concesso  
dalla «Fondazione Carivit», Viterbo*

*This volume has been printed thanks to the financial contribution  
of the «Fondazione Carivit», Viterbo*

