



DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE AGRARIE

**CARATTERIZZAZIONE DI RISORSE GENETICHE DI  
FAGIOLO COMUNE (PHASEOLUS VULGARIS L.) PER  
L'ARCHITETTURA RADICALE**

**CHARACTERIZATION OF GENETIC RESOURCES OF  
COMMON BEAN (PHASEOLUS VULGARIS L.) FOR ROOT  
ARCHITECTURE**

TIPO TESI: sperimentale

Studente:

GIORDANO NEIGRE  
*Giordano Neigre*

Relatore:

PROF. ROBERTO PAPA

Correlatore:

PROF. ELENA BITOCCHI

*Elena Bitocchi*

ANNO ACCADEMICO 2021-2022

1. INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI.....	2
1.1 Origine del fagiolo comune .....	2
1.2 Domesticazione del fagiolo comune .....	4
1.3 Espansione del fagiolo comune .....	5
1.4 Evoluzione e utilizzo delle risorse genetiche nel miglioramento genetico.....	7
1.5 Il fagiolo comune .....	10
1.6 Apparato radicale e miglioramento genetico dei tratti relativi alla tolleranza da stress	13
1.7 Obiettivi della tesi .....	16
2. MATERIALI E METODI .....	18
2.1 Materiali vegetali .....	18
2.2 Caratterizzazione dell'architettura radicale .....	20
2.3 Analisi dei dati.....	25
3. RISULTATI.....	26
4. DISCUSSIONE .....	45
5. CONCLUSIONI .....	48
ELENCO DELLE TABELLE .....	49
ELENCO DELLE FIGURE .....	50
ACRONIMI E ABBREVIAZIONI.....	52
BIBLIOGRAFIA.....	54
RINGRAZIAMENTI.....	63

# 1. INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI

Il fagiolo comune (*Phaseolus vulgaris* L.) è un legume da granella largamente coltivato in tutto il mondo. Nel 2020 la superficie totale coltivata a fagiolo è stata di circa 1,6 milioni di ettari per una produzione di 23,3 tonnellate (FAOSTAT, 2020). Dal punto di vista alimentare, il fagiolo comune rappresenta una fonte importante di proteine, carboidrati complessi e micronutrienti, specialmente nelle regioni in via di sviluppo come Africa orientale e America latina (Welch et al. 2000; Beebe et al. 2013). È, inoltre, il legume più utilizzato per l'apporto proteico da vegetali a livello mondiale e, in alcuni paesi come Messico e Brasile, rappresenta la principale fonte di proteine per l'alimentazione umana (Broughton et al. 2003). Il suo consumo regolare fornisce, inoltre, benefici per la salute, come dimostrato da diversi studi (Messina 2014; Bitocchi et al. 2016). Si coltiva in un'area che si estende da circa 52° Nord a 32° Sud di latitudine, in zone con altitudine dal livello del mare fino ai 3000 m. s.l.m. (Schoonhoven e Voysest 1991). Come le principali leguminose coltivate, il fagiolo comune contribuisce al miglioramento della fertilità del suolo, in quanto è in grado di fissare l'azoto atmosferico mediante simbiosi con batteri azotofissatori (*Rhizobia* spp.).

## 1.1 Origine del fagiolo comune

*P. vulgaris* è una specie appartenente alla famiglia delle Fabaceae con corredo cromosomico diploide ( $2n = 2x = 22$ ) e una dimensione del genoma relativamente piccola (tra 587 and 637 Mbp/ aploide, Bennett and Leitch, 1995, 2010).

Il fagiolo comune è caratterizzato da una storia evolutiva molto complessa che ha portato all'attuale diversità e struttura genetica del germoplasma della specie (Bitocchi et al. 2017). La specie si è originata in Messico e successivamente si è diffusa mediante diverse migrazioni in Sud America (Bitocchi et al. 2012).

Le forme selvatiche crescono dal nord del Messico fino al nord-ovest dell'Argentina (Toro et al. 1990), sono caratterizzati da tre pool genici distinti, Mesoamerica, Ande e Nord Perù ed Ecuador (Figura 1). I pool genici andino e Mesoamericano sono i principali ed includono sia forme selvatiche che domesticate (Bitocchi et al. 2013; Bitocchi et al. 2017). Il terzo pool genico è rappresentato da popolazioni che crescono nel nord del Perù e in Ecuador, in una stretta frangia altitudinale sulle pendici orientali e occidentali della Cordigliera delle Ande, una regione caratterizzata da condizioni ambientali diverse da quelle dove crescono le altre forme andine, comprese quelle colombiane (Debouck et al. 1993). In questo pool genico sono presenti solo le forme selvatiche. I semi delle popolazioni del nord del Perù e dell'Ecuador sono caratterizzati dalla presenza di un

tipo specifico di faseolina, noto come “Inca”, che non è stato trovato in individui degli altri pool genici (Kami et al. 1995).



**Figura 1.1** Distribuzione geografica dei principali pool genici delle forme selvatiche di fagiolo comune (blu, Mesoamerica; rosso, Ande; giallo, nord Perù ed Ecuador).

Nel lavoro di Kami et al. (1995), le sequenze di una porzione del gene che codifica per la faseolina indicano che la faseolina Inca è ancestrale rispetto agli altri tipi di faseolina riscontrati nei genotipi selvatici Mesoamericano e andini. Questo risultato ha portato gli autori a suggerire che la specie si fosse originata in Sud America, dal pool genico del Nord Perù ed Ecuador e che poi si fosse diffusa a nord e a sud dando origine, rispettivamente, ai due pool genici Mesoamericano e andino. Questa ipotesi è stata di recente messa in discussione da Rossi et al. (2009) e, in particolare, da Bitocchi et al. (2012) che hanno invece evidenziato come la specie si sia originata in Messico e si sia successivamente diffusa in Sud America. Bitocchi et al. (2012) hanno analizzato le sequenze nucleotidiche di 5 frammenti genici su un campione di più di 100 accessioni selvatiche di fagiolo rappresentative dei tre pool genici. L'analisi dei polimorfismi di sequenza ha permesso di evidenziare un maggiore livello di diversità e struttura genetica del pool genico Mesoamericano rispetto agli altri pool genici, così come le relazioni filogenetiche dei diversi gruppi genetici evidenziati hanno dimostrato come il fagiolo comune si sia originato in Messico e diversi gruppi genetici Mesoamericani si siano successivamente diffusi in Sud America. La minore diversità genetica riscontrata nei pool genici sudamericani è evidenza di un collo di bottiglia avvenuto prima della domesticazione nel pool genico andino (Bitocchi et al.

2012, 2017). Tale ipotesi è stata confermata da lavori più recenti come quello di Schmutz et al. (2014) e Ariani et al. (2017). A seguito dell'espansione in sud America, si sono sviluppati due principali pool genici, Mesoamerica e Ande, distinti eco-geograficamente e isolati dal punto di vista riproduttivo (Gepts e Bliss 1985).

## 1.2 Domesticazione del fagiolo comune

Il fagiolo comune è stato domesticato indipendentemente in Mesoamerica e nelle Ande, dando origine ai due diversi pool genici coltivati (Bitocchi et al. 2017); le forme coltivate Andine e Mesoamericane possono essere distinte sia a livello morfologico che molecolare (vedi come review Bitocchi et al. 2017). Uno scenario simile è stato osservato per un'altra specie appartenente al genere *Phaseolus*, ovvero il fagiolo di lima (*P. lunatus*), per il quale sono suggeriti almeno due domesticazioni, uno nelle Ande, dando origine alle varietà a seme grande conosciute come "big Lima" (Motta-Aldana et al. 2010), e l'altro in Mesoamerica dove hanno avuto origine le varietà a seme piccolo (Motta-Aldana et al. 2010; Serrano-Serrano et al. 2012).

Bitocchi et al. (2013) hanno analizzato i dati di sequenza di cinque frammenti genici su un campione di circa 200 accessioni di fagiolo, selvatiche e domesticate; i dati hanno messo in evidenza la forte riduzione di diversità genetica nelle forme domesticate di fagiolo, in entrambi i pool genici, come evidenziato in precedenza in letteratura (Papa et al. 2005; Kwak and Gepts 2009; Rossi et al. 2009; Mamidi et al. 2011; Nanni et al. 2011; Bitocchi et al. 2013; Bellucci et al. 2014). Una maggiore perdita di diversità si è osservata nel pool genico Mesoamericano rispetto al pool genico Andino come diretta conseguenza dei due colli di bottiglia avvenuti nel pool genico Andino, prima e dopo il processo di domesticazione (Bitocchi et al. 2013). L'analisi dei polimorfismi di sequenza ha inoltre messo in evidenza come una singola domesticazione sia avvenuta all'interno di ciascun pool genico con eventi di migrazione tra forme selvatiche e domesticate (Bitocchi et al. 2013). Bitocchi et al. (2013) hanno anche investigato le relazioni filogenetiche tra le varie accessioni, suggerendo le aree geografiche di domesticazione in entrambi i pool genici. In Mesoamerica, il sud del Messico, in particolare lo stato di Oaxaca, è stato suggerito come potenziale area geografica di domesticazione del fagiolo; quest'area differisce da quella suggerita da Kwak et al. (2009) per la stessa specie e da quella suggerita per la domesticazione del mais (Matsuoka et al. 2002).

Per quanto concerne la domesticazione del fagiolo nelle Ande, Chacón et al. (2005) hanno analizzato il polimorfismo a livello del DNA dei cloroplasti per un ampio campione di accessioni di fagiolo comune sudamericani ed hanno suggerito il centro sud del Perù come la culla della domesticazione della specie nelle Ande. Beebe et al. (2001) hanno utilizzato marcatori molecolari AFLP per analizzare un set di accessioni selvatiche e domesticate di fagiolo andino suggerendo la Bolivia dell'est e il nord dell'Argentina come presunto luogo della domesticazione, ipotesi supportata anche dai risultati di Bitocchi et al. (2013). Più recentemente Rodriguez et al. (2016), sulla base di dati ottenuti da marcatori SNP su un ampio set di

accessioni di fagiolo comune, hanno confermato le aree di domesticazione proposte da Bitocchi et al. (2013) per entrambi i pool genici.

### 1.3 Espansione del fagiolo comune

La diversificazione del fagiolo comune è dovuta, oltre che ai processi di domesticazione in Mesoamerica e nelle Ande, anche alla disseminazione e adattamento fuori dalle Americhe, che ha dato vita alla formazione di centri secondari come, ad esempio, in Africa orientale e in Europa, a seguito dell'introduzione avvenuta ad opera di spagnoli e portoghesi nel sedicesimo e nel diciassettesimo secolo (Mackie 1943; Westphal 1974), soprattutto in Europa meridionale (penisola iberica, Italia). In Europa, il pool genico predominante è quello andino (Bitocchi et al. 2017); spostandosi verso l'Europa orientale la frequenza del tipo Mesoamericano tende ad aumentare ma rimane comunque minore rispetto al tipo andino (Papa et al. 2006).

Il processo di espansione del fagiolo fuori dai centri di domesticazione americani è stato molto complesso. La disseminazione di *Phaseolus* negli scorsi secoli è stata collegata all'intensa attività commerciale e alle rotte che andavano lungo tutto il mondo, con la possibilità che ogni continente (e Paese) sia stato sia fonte che ricevente di germoplasma di fagiolo per diverse volte ed in differenti periodi storici.

Parecchi continenti e paesi sono stati proposti come centri di diversificazione secondari di *P. vulgaris*, inclusi Europa (Santalla et al. 2002; Angioi et al. 2010, 2011; Gioia et al. 2013), Brasile (Burle et al. 2010), centro-est e sud Africa (Martin e Adams 1987a,b; Asfaw et al. 2009; Blair et al. 2010) e Cina (Zhang et al. 2008).

Fuori dalle Americhe la rottura dell'isolamento spaziale tra i due pool genici (Mesoamericano e andino) ha incrementato il potenziale per la loro ibridazione e per l'introggressione.

Per comprendere la distribuzione del pool genico domesticato Mesoamericano e andino in Europa Angioi et al. (2010) hanno utilizzato cpSSR, marcatori nucleari (faseolina e tre marcatori indel-spanning di PvSHP1; Nanni et al. 2011) e tratti morfologici dei semi. Questo studio è stato condotto su un'ampia collezione di materiali europei ed ha confermato che la maggior parte del germoplasma europeo di fagiolo ha origini andine (67%). Il tipo andino è più frequente in tre macroaree europee: penisola iberica, Italia e Europa centro-settentrionale. Spostandosi verso l'Europa centro orientale le proporzioni del tipo Mesoamericano tendono ad incrementare con un massimo in Grecia del 46%.

Burle et al. (2010) hanno invece valutato la diversità genetica e la struttura di 279 campioni geo-referenziati di varietà locali di fagiolo comune provenienti dal Brasile utilizzando marker SSR, faseolina, PvTFLly, AP e marker SCAR. I risultati sono stati che entrambi i pool genici sono presenti in Brasile ma che il Mesoamericano è quattro volte più frequente rispetto all'andino.

In Africa, il pool genico Mesoamericano e quello andino hanno approssimativamente la stessa frequenza (Martin and Adams 1987a; Gepts and Bliss 1988; Asfaw et al. 2009; Blair et al. 2010). Ci sono però differenze

impressionanti tra Paesi. In Kenya (Asfawet al. 2009), Africa orientale (Gepts and Bliss 1988) e Africa meridionale (Martin and Adams 1987a) il pool genico andino è più frequente, mentre in Etiopia (Asfaw et al. 2009) e Africa centrale (Blair et al. 2010) il pool Mesoamericano è predominante. La Cina è una grande produttrice di fagioli secchi e la più importante produttrice di fagiolini nel mondo, basandosi su sistemi orticoli intensivi di fattorie familiari. L'analisi della diversità genetica di una collezione di 229 varietà locali ha rivelato una prevalenza del tipo Mesoamericano (Zhang et al. 2008).

Nel caso dell'introduzione di una specie in una nuova area geografica, ci si attende che la diversità subisca un collo di bottiglia, ovvero una riduzione della diversità genetica. Considerando i dati ottenuti da Kwak e Gepts (2009) utilizzando marcatori molecolari nucleari SSR (Simple Sequence Repeats) per caratterizzare accessioni domestiche di fagiolo comune dai centri di origine emerge che complessivamente per i due pool genici ci sia stata riduzione della diversità genetica in Cina, mentre tale riduzione sia stata quasi assente in Africa.

Ibridi tra i pool genici Mesoamericano e andino sono molto interessanti, perché la ricombinazione tra tratti Mesoamericani e andini può creare nuove combinazioni alleliche che possono incrementare la fitness e l'adattamento (Johnson and Gepts 1999, 2002). L'ibridizzazione può portare alla produzione di nuovi genotipi e fenotipi (ad esempio: taglia del seme, qualità nutrizionali e resistenza ai patogeni; Angioi et al. 2010; Blair et al. 2010; Santalla et al. 2010) non presenti nei parentali Mesoamericani o andini.

L'ibridizzazione (seguita da introgressione) fuori dall'America ha avuto più possibilità a causa della rottura delle barriere geografiche e dell'isolamento che c'è stato tra i pool genici nei centri di origine. In generale, distinguere ibridi a livello morfologico non è facile. L'uso di marker genetici molecolari ha semplificato la loro identificazione e descrizione.

Un buon metodo per l'identificazione di eventi di ibridizzazione è l'integrazione di analisi citoplasmatiche e nucleari (Provan et al. 2001; Ebert e Peakall 2009; Angioi et al. 2009). Utilizzando questo approccio Angioi et al. (2010) hanno trovato che il 33% delle varietà locali nella loro collezione erano ibridi. Anche in uno studio precedente, utilizzando marker differenti, Santalla et al. (2002) hanno stimato una percentuale di ibridi presenti in una collezione di varietà locali della penisola iberica del 25%.

La taglia del seme e i tratti del tegumento tendono a variare con il livello di introgressione tra i due pool genici. L'utilizzo simultaneo di analisi citoplasmatiche e nucleari è stato applicato con successo anche su scala locale in Italia, nella regione Marche (12% di ibridi; Sicard et al. 2005) ed in Sardegna (4% di ibridi; Angioi et al. 2009b). Angioi et al. (2010) hanno stimato che circa l'11% dei loro individui Mesoamericani e andini puri possono essere considerati come ibridi nascosti. In questo modo il 44% della loro collezione sembrerebbe derivare da almeno un evento di ibridizzazione.

#### 1.4 Evoluzione e utilizzo delle risorse genetiche nel miglioramento genetico

La diversità delle specie coltivate è strettamente legata all'azione antropica di selezione avvenuta sin dal periodo neolitico (Smith 1995, Gepts et al, 1999), cioè quando è avvenuta la transizione da cacciatore/ raccoglitore ad agricoltore/ allevatore. Il processo di trasformazione delle forme selvatiche delle specie vegetali in forme coltivate è stato lungo e molto complesso; tale processo prende il nome di "domesticazione" e si basa sulla selezione più o meno conscia da parte dell'uomo delle tipologie che presentavano caratteri di interesse. Le forme selvatiche e domesticate generalmente differiscono per una serie di caratteri che prendono il nome di "sindrome della domesticazione", ovvero quei caratteri che assicurano la sopravvivenza delle specie selvatiche ma che sono indesiderati nelle piante coltivate come, ad esempio, la riduzione della dormienza dei semi, la perdita totale o parziale della deiscenza dei baccelli, l'habitus di crescita determinato e compatto, la riduzione della sensibilità al fotoperiodo e l'aumento della dimensione dei semi (Gepts 2001). Il processo di selezione che ha portato alla domesticazione delle piante coltivate ha comportato anche una forte riduzione della base genetica delle forme coltivate rispetto a quelle selvatiche (Gepts and Papa 2002). La riduzione di diversità durante il processo di domesticazione è stata indotta da due fattori: 1) la selezione per i loci che controllano i caratteri della domesticazione e per quelli ad essi associati; 2) la deriva genetica che ha influenzato in maniera uniforme l'intero genoma ed è legata alla dimensione della popolazione che ha dato origine al pool genico domesticato (collo di bottiglia della domesticazione).

Nel caso di *P. vulgaris*, la domesticazione di è avvenuta indipendentemente in entrambi i principali pool genici, Mesoamerica e Ande. Da qui le forme domesticate si sono diffuse in Nord e Sud America e, successivamente, fuori dalle Americhe negli altri continenti. La diffusione della specie ha portato all'affermarsi di numerose varietà locali adattate a diversi ambienti. In più, fuori dalle Americhe (dove l'incrocio tra tipologie Mesoamericane e Andine è stato fortemente limitato o addirittura assente a causa delle barriere geografiche), l'ibridazione tra le forme provenienti dai due pool genici è avvenuta con maggiore frequenza, portando a nuove combinazioni alleliche su cui la selezione ha agito e ha permesso lo sviluppo di nuove varietà adattate alle specifiche condizioni agro-ecologiche.

Questa continua spinta evolutiva ha portato a quelle che sono le attuali risorse genetiche agrarie, cioè a tutta la diversità biologica che è sfruttata dall'uomo negli agroecosistemi (Harlan, 1976).

Le risorse genetiche delle specie vegetali coltivate sono:

- **Varietà locali** (*landraces*): Harlan (1975) fornisce una descrizione della complessità di una varietà locale. Egli la descrive come segue: "*Sebbene le popolazioni delle varietà locali siano variabili, la diversità è tutt'altro che casuale. Sono costituite da una miscela di genotipi che sono tutti ben adattati alla regione in cui si sono evoluti ma che differiscono nei dettagli per quanto riguarda gli adattamenti specifici a particolari condizioni all'interno dell'ambiente. Differiscono nella reazione a malattie e parassiti, alcune linee sono resistenti o tolleranti a determinate razze di agenti patogeni e alcune ad*

altre razze. Questa è una difesa abbastanza efficace contro gravi epidemie. Alcuni componenti della popolazione sono suscettibili alle razze patogene prevalenti, ma non tutti, ed è probabile che nessuna razza particolare di patogeni raggiunga proporzioni epidemiche perché nelle popolazioni sono sempre presenti piante resistenti. Le varietà locali tendono ad essere a basso rendimento ma affidabili. Sono adattate alle procedure di preparazione, semina, diserbo e raccolta piuttosto primitive dell'agricoltura tradizionale. Si adattano anche alla bassa fertilità del suolo; non sono molto esigenti, anche perché non producono molto"; egli continua: "Le varietà locali hanno una certa integrità genetica. Sono riconoscibili morfologicamente; gli agricoltori hanno nomi per loro e si ritiene che le diverse varietà locali differiscano nell'adattamento al tipo di suolo, al momento della semina, alla data di maturità, all'altezza, al valore nutritivo, all'uso e ad altre proprietà" (Harlan 1975). Frankel e Soulé (1981) aggiungono: "La diversità genetica di una razza autoctona ha due dimensioni: tra sito e popolazione (la prima dimensione) che può originarsi in base alle differenze che esistono tra i diversi ecosistemi a causa delle condizioni pedo-climatiche e delle tecniche colturali praticate, oltre che all'isolamento riproduttivo e all'interno di sito e popolazione (la seconda dimensione) che ha origine per la variabilità ambientale distribuita nel tempo."

La definizione di Martin e Adams (1987a) di varietà locale è una miscela di genotipi di una specie prevalentemente consanguinea che viene coltivata da un agricoltore in un particolare agro-ecosistema.

La grande variabilità genetica presente nelle varietà locali ne fa una ricca ed importante fonte di diversità genetica e germoplasma adattato, utilizzabile nei programmi di miglioramento genetico sia direttamente attraverso la selezione massale, che indirettamente individuando caratteristiche specifiche da introdurre in varietà di élite esistenti attraverso idonei schemi di incrocio. Le varietà locali sono utilizzate principalmente come donatrici di componenti genetiche, non solo geni di resistenza alle malattie ma anche geni di adattamento ad ambienti particolari.

- **Varietà migliorate:** provengono da programmi di selezione condotti da miglioratori genetici (breeders). Si tratta di popolazioni omogenee, prive di variabilità genetica, spesso costituite da un solo genotipo (varietà, ibridi semplici, cloni). Con il termine di varietà si indica "un insieme di piante coltivate chiaramente distinte per caratteri morfologici, fisiologici, citologici, chimici che, quando riprodotte per via sessuale o asessuale, nei modi indicati dal costituente, conservano i loro caratteri distintivi; la varietà per poter essere legalmente riconosciuta deve essere distinguibile, uniforme e stabile e possedere un valore agronomico superiore" (Lorenzetti et al. 1984). L'utilizzazione di pochi genitori identificati come portatori di blocchi genici ben adattati ha determinato una tendenza a restringere il pool genico, con conseguente riduzione della base genetica necessaria per ulteriori miglioramenti (Creech e Reitz 1971). La sempre maggiore uniformità ha aumentato la vulnerabilità

genetica delle principali specie coltivate nei confronti di stress biotici e abiotici (Pluncknett et al. 1983).

- **Progenitori spontanei delle forme domesticate** (*wild progenitors*): popolazioni di piante selvatiche da cui sono state domesticate le forme coltivate; spesso appartengono alla stessa specie della forma coltivata, sono, quindi, interfertili e rappresentano una ricca fonte di germoplasma per il miglioramento genetico.
- **Specie spontanee affini a quelle domesticate** (*crop wild relatives*): specie, tassonomicamente, vicine a quelle coltivate, ma che non ne rappresentano i diretti progenitori. Possono essere utilizzate, più o meno facilmente, per il trasferimento, tramite programmi di incrocio, di geni utili nelle forme domesticate.
- **Specie spontanee non domesticate**: sono specie spontanee utilizzate dall'uomo come tali, che non hanno subito il processo di domesticazione. Il germoplasma spontaneo rappresenta sicuramente la più ricca fonte di diversità genetica che può essere utilizzata per il miglioramento delle piante. Allo stesso tempo però, i materiali spontanei sono di difficile utilizzazione, visto che essendo spesso rappresentati da specie diverse rispetto a quelle coltivate, ci si trova di fronte a vari livelli di incompatibilità che precludono la possibilità di incrocio. Oltre ai problemi di interfertilità e di intersterilità il materiale spontaneo presenta una notevole serie di caratteristiche indesiderate come, ad esempio, la dispersione e la dormienza dei semi, caratteri che per essere eliminati richiedono numerosi cicli di selezione.
- **Stocks genetici**: sono collezioni di varianti genetiche utilizzate come strumenti nella ricerca scientifica.
- **DNA**: DNA genomico totale, librerie di DNA, cloni di specifici frammenti di DNA (sonde, sequenze espresse, geni), usati solo nella ricerca scientifica.

Negli ultimi decenni, è aumentata la consapevolezza dell'importanza della grande diversità del germoplasma esotico o selvatico, che ha portato ad un uso sempre crescente di questo materiale nel miglioramento genetico (Frey, 1975; Stalker, 1980; Rick, 1982). L'uso dei marcatori molecolari ha facilitato l'identificazione di geni d'interesse agronomico nel germoplasma selvatico attraverso la dissezione dei caratteri quantitativi mediante approcci basati sulle mappe di associazione (Tanksley e McCouch, 1997). La stessa tecnologia permette il trasferimento di questi geni entro le varietà superiori e accelera l'intero processo di miglioramento.

La caratterizzazione della diversità genetica degli organismi può essere quindi ottenuta o dall'osservazione dei caratteri fenotipici o mediante i marcatori molecolari.

La diversità genetica è il presupposto per ogni programma di miglioramento genetico. Per pianificare un'efficiente utilizzazione della diversità genetica nel miglioramento genetico delle piante coltivate, è quindi

cruciale, disporre di un'approfondita conoscenza della struttura della diversità genetica delle specie su cui si intende operare.

Quindi, un'approfondita conoscenza della struttura della diversità genetica delle forme domestiche e selvatiche e l'identificazione dei geni e delle regioni genomiche coinvolte nel processo di domesticazione e di diversificazione delle forme domestiche è fondamentale per un'efficiente utilizzazione di tutte le fonti di germoplasma.

### 1.5 Il fagiolo comune

Le piante selvatiche di *P. vulgaris* sono annuali o, più raramente perenni di breve durata, rampicanti, che fioriscono e fruttificano già al primo anno. La germinazione avviene con l'inizio delle piogge estive, verso il tardo autunno. Le forme rampicanti possono raggiungere altezze di 2-3m, disperse su cespugli e arbusti. I fiori sono generalmente color lavanda, a volte rosa e più raramente bianchi.

I baccelli, da 2-3 a 8-10 per racemo variano anche per dimensioni e colorazione; il rosso e il violaceo tigrato sono i più comuni e quasi tutti sono deiscenti, ovvero si attorcigliano espellendo i semi violentemente quando raggiungono un certo grado di secchezza. Le piante più vecchie con diversi rami e germogli come le perenni, portano fino a 240 baccelli.

I semi variano per forma, colori, pattern di colori e dimensioni. La maggior parte dei fagioli selvatici ha semi piccoli, che misurano in media tra i 4 e i 5 mm di lunghezza e tra i 2 e i 2.5 mm di spessore.

Le varietà coltivate differiscono dai loro progenitori selvatici in quanto le piante sono annuali, con steli più spessi; hanno *habitus* determinato o indeterminato e sono sia cespugliosi che rampicanti. I peduncoli sono più brevi, e i baccelli sono più carnosì. Le forme coltivate hanno perso totalmente o parzialmente la capacità di disperdere i semi. I semi, inoltre, sono più grandi e più permeabili all'acqua (Kaplan 1965). Gli individui selvatici del genere *Phaseolus* hanno un'adattabilità ambientale che gli permette di crescere nelle più disparate condizioni climatiche e ambientali. La loro distribuzione geografica rispecchia questi modelli di adattamento nelle differenti nicchie ecologiche che occupano (Bitocchi et al.2017). Tra le specie appartenenti al genere *Phaseolus*, *P. vulgaris* è quella con la miglior capacità adattiva (Bitocchi et al. 2017).

Il fagiolo coltivato è una pianta annuale con forma cespugliosa (20-60 cm) o rampicante (2-3m), **Figura 1.2**.



**Figura 1.2** Diversi *habitus* di crescita in *P. vulgaris* (cespuglioso a sinistra e rampicante a destra).

La germinazione è di tipo epigeo, cioè dovuta all'accrescimento dell'ipocotile con la conseguente fuoriuscita dal terreno dei cotiledoni, **Figura 1.3**.



**Figura 1.3** Germinazione di tipo epigeo.

Le foglie sono alternate, trifogliate, e presentano stipole e picciolo di lunghezza variabile; i fiori presentano una corolla (papilionacea) costituita da cinque elementi: uno superiore molto sviluppato che prende il nome di vessillo, due laterali che vengono denominati ali e, infine, due elementi inferiori tra loro connessi in un tubo denominato carena; gli stami, in numero di 10, sono inseriti con la corolla alla base del calice e sono saldati assieme per i filamenti (monadelfi) (Baroni 1969). L'ovario è supero unicarpellare, provvisto di un numero variabile di ovuli, fino a 20 in alcune varietà moderne. Le dimensioni dei fiori sono di circa 1 cm e il loro colore è variabile, bianco, rosa o viola, **Figura 1.4**.



**Figura 1.4.** Diverso colore dei fiori di *P. vulgaris*.

I baccelli hanno colori, forme e dimensioni (massimo 20 cm) variabili, solitamente glabri e a volte pubescenti. I semi, fino a 12 per baccello, possono avere diverse colorazioni, anche complesse, **Figura 1.5**. Il peso di 100 semi varia tra 10 e 67 grammi, in relazione alla varietà.



**Figura 1.5.** Semi e baccelli di *P. vulgaris*.

*P. vulgaris* è una specie prevalentemente autogama, con occasionali incroci dovuti ad insetti impollinatori, *Bombus spp.* (Free 1966). La sua forma spontanea predilige ambienti con temperature medie annuali comprese tra i 16° e 24°C, che nelle zone di origine corrispondono ad altitudini di 900 – 2000 metri, con precipitazioni di 500 – 1500 mm annui (Gepts et al. 1999).

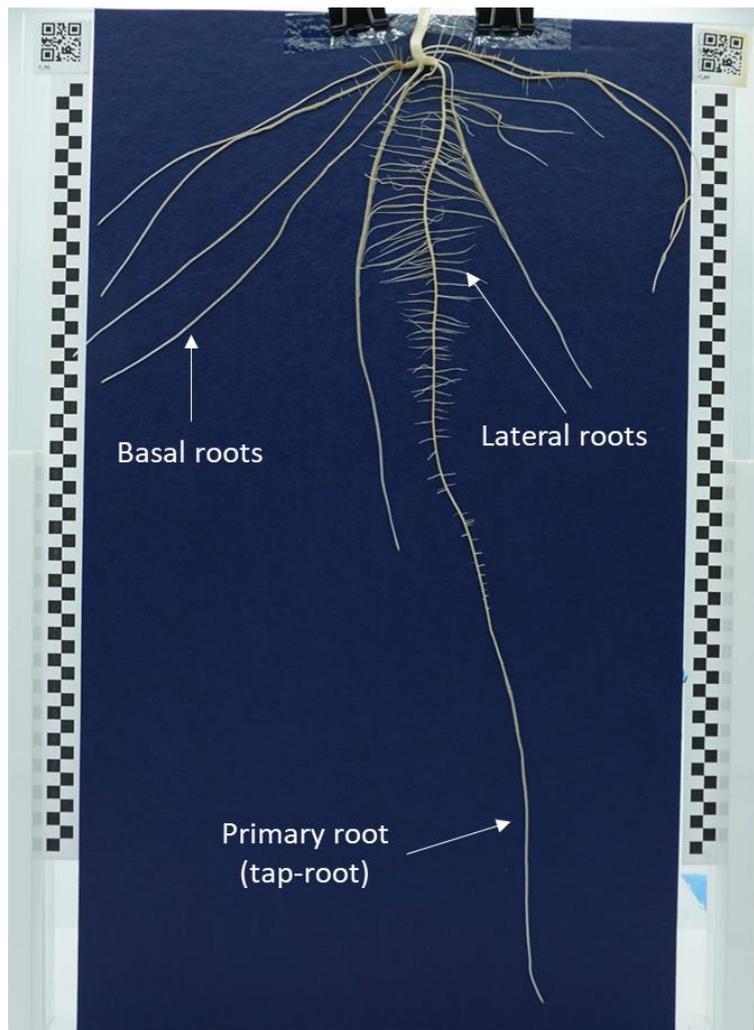
La caratteristica climatica fondamentale per le forme spontanee di fagiolo è l'esistenza di una ben definita stagione secca necessaria alla pianta per poter disperdere il seme. Infatti, i baccelli contengono due tipi di fibre, una localizzata vicino alla sutura che unisce le due valve e l'altra sulla faccia interna delle due valve stesse. Questa ultima fibra è orientata obliquamente e causa l'apertura delle valve in un movimento a 'cavatappi', in questo modo il seme viene disperso tramite un movimento simile a quello di una fionda (Gepts et al. 1999). Questo meccanismo funziona correttamente solo in condizioni di scarsa umidità durante la maturazione, indispensabile per la contrazione delle fibre e la dispersione dei semi (Gepts et al. 1999); la maturazione in condizioni di umidità può impedire la deiscenza dei baccelli, nei quali i semi possono germinare. La forma spontanea del fagiolo comune è sempre fotosensibile e fiorisce in condizioni di giorno corto (< 12 ore) o meglio di notti lunghe (> 12 ore).

I suoli ottimali per la forma spontanea sono generalmente derivati dalle rocce ignee o da ceneri vulcaniche e perciò relativamente fertili e ben drenati (Gepts et al. 1999).

L'*habitus* di crescita nelle forme spontanee è sempre di tipo indeterminato (o rampicante), infatti le forme spontanee sono generalmente reperibili nelle fitte siepi e su piccoli alberi che contornano i campi coltivati. Grazie, a questo tipo di *habitus* la pianta può competere efficacemente con le altre per la luce.

### **1.6 Apparato radicale e miglioramento genetico dei tratti relativi alla tolleranza da stress**

L'apparato radicale del *P. vulgaris* consiste di: i) radice primaria (tap-root), che presenta gravitropismo positivo (verso il basso), ii) radici basali in numero variabile, che rappresentano la maggior parte della lunghezza totale della radice, iii) radici avventizie, ovvero le radici che derivano dall'ipocotile che esplorano la parte di terreno superficiale, iv) radici laterali (di ordine secondario) (Lynch e Brown 2001; Rubio and Lynch 2007) (**Figure 1.6**). La radice primaria è la prima ad emergere dal seme, mentre le radici basali e laterali che si sviluppano dalla radice primaria sono considerate radici secondarie (Zobel and Waisel 2010; Zobel 2005).



**Figura 1.6.** Radici primaria (tap-root), basali (basal roots) e laterali (lateral roots)

La radice primaria appena emersa consente l'ancoraggio e l'assorbimento dell'acqua, due compiti fondamentali delle radici (Raven et al. 2002). Negli studi che riguardano la caratterizzazione dell'apparato radicale, il parametro più frequentemente misurato è la biomassa, ed anche i fattori che influenzano la crescita delle radici sono spesso valutati misurando il cambiamento della biomassa. Queste misurazioni prese da sole, senza considerazioni su come l'apparato radicale è posizionato (geometria e architettura radicale), potrebbero portare a trascurare importanti differenze sulla distribuzione della biomassa radicale (Hetrick 1991). Il peso delle radici è inoltre poco correlato alla capacità di assorbimento nutritivo in quanto l'asse maggiore, che contribuisce in maniera maggiore alla biomassa radicale, è quello che contribuisce di meno all'assorbimento di nutrienti. Sono piuttosto le radici laterali e i peli radicali ad essere maggiormente coinvolti nel compito di assorbire nutrienti (Pirozynski e Malloch 1970). Chiaramente, la pianta che produce un'interfaccia maggiore con il suolo è quella con il potenziale di assorbimento maggiore, ma questa maggior espansione radicale è bilanciata dal minor accrescimento della sua parte aerea e dal "costo" maggiore nel mantenimento delle radici (Fitter 1987). A tal proposito le radici più sottili offrono un grande ritorno di

investimenti in termini di superficie di assorbimento ma a fronte di ciò queste hanno un potenziale d'accrescimento limitato (Lyford 1975), una durata minore (Reynolds 1975), una minor capacità di trasporto di acqua e nutrienti e sono vulnerabili a danni fisici, disseccamento e all'attacco di microartropodi o patogeni (Fitter 1987). Queste limitazioni sono superate da un investimento maggiore da parte della pianta per produrre radici con diametri maggiori (Fitter 1987).

Nelle leguminose il diametro maggiore si traduce in un maggior diametro dei vasi metaxilematici che controllano la conduttività della radice e che migliorano la tolleranza alla siccità (Purushothaman et al. 2013). Per questo l'architettura della radice ha un impatto diretto sulla produzione della pianta in condizioni di stress idrico (Farooq et al. 2016). Globalmente, circa il 60% delle aree di produzione del fagiolo comune soffrono di stress idrico terminale o intermittente (Beebe et al. 2013; Singh 2001; Wortmann et al. 1998); ciò suggerisce che le radici debbano essere oggetto di miglioramento genetico (Ye et al. 2018). I caratteri delle radici sono solitamente chiamati "Root System Architecture (RSA)", riferendosi alla forma e allo spazio fisico che le radici occupano. I caratteri RSA primari includono: lunghezza della radice primaria, densità della lunghezza delle radici, angoli delle radici laterali, numero di radici laterali, diametro radicale e anatomia radicale. L'angolo delle radici laterali (solitamente dai 60 ai 90 gradi) è importante in quanto le radici laterali tendono a crescere oltre la zona di esaurimento dei nutrienti qualora sia possibile. Similmente, l'angolo delle laterali assicura che le radici non crescano dagli stessi apici, permettendo di esplorare volumi di suolo maggiori per i nutrienti (Fitter 1987). Un apparato radicale profondo e proliferativo può evitare stress idrico in quanto può acquisire più risorse idriche dal terreno. L'RSA è, inoltre, adattabile ai cambiamenti ambientali, compresi gli stress idrici. Quando la pianta percepisce un deficit idrico le radici tendono ad approfondirsi e crescere per cercare di far fronte a questo stress (Hoogenboom et al. 1987; Sponchiado et al. 1989; Creelman et al. 1990; Wu et al. 1994). L'assorbimento dei nutrienti da parte delle piante è correlato ai parametri del suolo come la disponibilità dei nutrienti, la capacità tampone e la mobilità dei nutrienti (Bray, 1954). Mentre esistono differenze genetiche nella morfologia radicale delle diverse specie di piante, queste differiscono anche per la loro capacità di alterare in maniera più o meno significativa la loro morfologia radicale in relazione all'ambiente. Ad esempio, basse riserve idriche nel terreno permettono all'RSA di avere radici più allungate, che esplorano il terreno ma che sono meno ramificate. Cambiamenti nella geometria radicale dovuti a carenze idriche sono risultati di molto maggiori rispetto a quelli causati dalla carenza di nutrienti, come azoto e fosforo (Fitter 1987). A questo proposito i peli radicali sono caratteri importanti in quanto migliorano l'assorbimento dei nutrienti nei suoli poco fertili; in particolare, migliorano l'assorbimento del fosforo che risulta relativamente immobile (Nye 1966). Il vantaggio dei peli radicali sta proprio nell'aumento della superficie radicale per l'assorbimento di nutrienti (Hetrick 1991). Nel fagiolo comune, scarse disponibilità di fosforo modificano anche caratteri tipici dell'architettura radicale come la lunghezza della radice primaria, la ramificazione radicale, il numero e lunghezza delle radici laterali, la quantità di peli radicali e formazioni di radici a grappolo (Jin et al. 2012).

Il miglioramento genetico del fagiolo comune per la resistenza agli stress è per questo urgente. Liao et al. (2004) hanno sviluppato una popolazione di 86 linee ibride ricombinanti (Recombinant Inbred Lines, RILs) ottenuta da un incrocio tra il genotipo DOR364, caratterizzato da una radice che cresce in profondità, e il genotipo G19833, con una radice che non cresce in profondità. Questa popolazione è stata genotipizzata e fenotipizzata al fine di mappare i loci che controllano caratteri quantitativi (Quantitative Trait Loci); sono stati identificati 16 QTL associati a caratteri legati al gravitropismo della radice, tra cui l'angolo delle radici basali, la lunghezza d'approfondimento radicale e il relativo approfondimento delle radici basali; tre QTLs sono risultati associati sia all'angolo delle radici basali che all'approfondimento radicale (Liao et al. 2004). Successivamente, Ochoa et al. (2006) hanno identificato quattro QTL associati con la lunghezza totale della radice ed un QTL ad effetto major sul cromosoma B4 potrebbe spiegare il 21% della variazione fenotipica (Ochoa et al. 2006). In questo studio le radici avventizie sono state correlate positivamente con la massa dei germogli e sono stati identificati anche due QTL maggiori associati alle radici avventizie che insieme spiegano il 61% della variazione fenotipica (Ochoa et al. 2006).

Questi risultati potrebbero essere una potenziale risorsa genetica e molecolare per lo sviluppo di nuove varietà con una RSA migliorata attraverso l'utilizzo della MAS (Marker Assisted Selection), ovvero selezione assistita da marcatori molecolari (Heng et al. 2018).

Lo screening di ampie collezioni di risorse genetiche per tolleranza agli stress è necessario per migliorare le produzioni in condizioni ambientali avverse. L'identificazione delle regioni genomiche che presentano alleli interessanti e il trasferimento di questi in varietà di élite attraverso tecnologie genomiche consente di velocizzare i programmi di miglioramento genetico.

QTLs associati all' RSA sono stati identificati per le maggiori colture leguminose e sviluppati per la MAS. Alcuni QTLs o geni però, possono esser stati persi durante il processo di domesticazione di queste colture a causa della loro associazione o per effetti pleiotropici con effetti negativi sulla produzione. Ulteriori screening e analisi di associazione sono necessarie per determinare l'esistenza di tali nuove varianti. Lo sviluppo di popolazione segreganti che coinvolgono un grande numero di individui, permette di rompere associazioni negative tramite ricombinazione e velocizzare la fissazione di alleli positivi tramite MAS. (Heng et al. 2018).

## **1.7 Obiettivi della tesi**

Le risorse genetiche vegetali delle specie coltivate rappresentano una risorsa cruciale per il miglioramento genetico in quanto caratterizzate da un'elevata diversità genetica, pre-requisito fondamentale per qualsiasi programma di miglioramento genetico.

L'apparato radicale è stato fino ad oggi poco considerato dai miglioratori genetici e dai vivaisti per lo sviluppo di varietà migliorate di piante coltivate; infatti la maggiore attenzione è stata rivolta allo sviluppo della parte

aerea che è direttamente e facilmente osservabile. I due apparati però, sono strettamente correlati tra di loro e lo sviluppo di uno influisce sull'altro. La resa ottenibile ad oggi con un uso tradizionale dell'acqua, dei fertilizzanti e dei pesticidi ha raggiunto un tetto massimo. Tentativi di incrementare il raccolto utilizzando più fertilizzanti e/o pesticidi non sono fattibili, non solo in quanto un utilizzo più massiccio di queste molecole è un rischio per la salute pubblica e per l'ambiente, ma anche perché questo avrebbe effetti negativi sul raccolto stesso (Pimentel 1996). Inoltre, a causa del cambiamento climatico gli apparati radicali delle piante ed i loro habitat sono minacciati dal rischio di diventare soggetti a condizioni sfavorevoli come scarsità di risorse idriche, rischio di salinità dell'acqua e dei terreni, diminuzione dei nutrienti e accumulo di parassiti nel suolo. Oltre tutto ciò le terre fertili stanno diventando sempre meno disponibili a cause dell'erosione dei versanti collinari, della degradazione del suolo, a causa di smottamenti e per la crescente domanda di biocombustibili (Den Herder et al. 2010).

L'aumento della popolazione mondiale e l'obiettivo ONU (Organizzazione delle Nazioni Unite) dell'agenda 2030 di porre fine alla malnutrizione entro il 2030 mettono però in luce la necessità di creare nuove varietà migliorate, con migliori architetture radicali e miglior capacità d'assorbimento, accumulo e trasporto dei nutrienti.

L'architettura radicale si riferisce alla configurazione spaziale dell'apparato radicale che determina l'ancoraggio della pianta, una capacità più o meno marcata di assorbire acqua e nutrienti e la capacità di comunicazione e competizione tra la pianta e tra le piante. Si propone per questo che modificazioni dell'architettura dell'apparato radicale possano essere una potenziale alternativa per migliorare le rese colturali, portando a una seconda rivoluzione verde (Den Herder et al. 2010).

Inoltre l'esistenza di ampie collezioni di risorse genetiche vegetali, che variano per RSA, e il ruolo svolto dalla radice stessa nella produttività delle colture sono sufficienti per promuovere la caratterizzazione e l'uso della variabilità genetica che controlla la diversità fenotipica dell'architettura radicale nel miglioramento genetico (de Dorlodot et al. 2007).

Lo scopo principale del presente lavoro di tesi è la caratterizzazione di risorse genetiche di fagiolo comune per quanto concerne l'architettura radicale. Tale caratterizzazione rappresenta il primo step per individuare diverse tipologie radicali che possano sfruttare le risorse del terreno in maniera diversa in base ai diversi ambienti colturali. Tali genotipi rappresenteranno risorse genetiche utili per il miglioramento genetico dei caratteri della radice in fagiolo.

## 2. MATERIALI E METODI

### 2.1 Materiali vegetali

I materiali utilizzati nel presente lavoro sono 82 genotipi di fagiolo comune facenti parte di una collezione denominata Hyper Core Collection (HCC) sviluppata nell'ambito del progetto BRESOV – *Breeding for Resilient, Efficient and Sustainable Organic Vegetable production* (Programma Horizon 2020, Grant Agreement No 774244). Tale collezione è stata sviluppata con lo scopo di massimizzare la diversità genetica del germoplasma attuale di fagiolo comune, per questo include genotipi selvatici rappresentativi dei tre gene pool selvatici della specie e genotipi domesticati Mesoamericani e Andini comprensivi di varietà locali, varietà moderne e linee utilizzate nel miglioramento genetico (linee parentali di diverse popolazioni segreganti di fagiolo e linee portatrici di geni di resistenza a diversi patogeni). In più la collezione HCC include genotipi domesticati utilizzati per il consumo fresco (fagiolino) e secco (semi). Tali genotipi sono linee pure, derivanti da successivi cicli di autofecondazione condotti in condizioni controllate. La maggior parte delle linee sono state selezionate sulla base di precedenti caratterizzazioni genotipiche e/o fenotipiche di ampie collezioni di germoplasma (Bitocchi et al. 2012, 2013). La lista dei genotipi con le relative informazioni di passaporto è riportata in **Tabella 2.1**. La classificazione in base all'appartenenza ai due principali gene pool è basata su analisi di dati genomici WGS (Whole Genome Sequencing) e analisi di struttura di popolazione effettuata utilizzando il software ADMIXTURE (Alexander et al. 2009).

**Tabella 2.1.** Lista dei genotipi utilizzati nel presente studio.

Codice BRESOV	Varietà/ Altro codice	Stato Biologico	Varietà locale/cultivar <sup>1</sup>	Varietà da seme/Fagiolino	Gene pool	Habitus di crescita	Habitus di crescita	qAnde
HCC_01	A195	Domesticato	Linea di breeding	Seme	Andino			1,00
HCC_02	Porrillo Sintético	Domesticato	Cultivar	Seme	Mesoamericano	Indeterminate		0,00
HCC_03	La Victoire	Domesticato	Cultivar	Fagiolino	Andino	Determinate		1,00
HCC_04	X2776	Domesticato	Cultivar	Seme	Andino	Determinate		0,83
HCC_05	Cornell49242	Domesticato	Cultivar	Seme	Mesoamericano	Indeterminate		0,00
HCC_06	TU	Domesticato	Cultivar	Seme	Mesoamericano	Indeterminate		0,18
HCC_07	AB136	Domesticato	Cultivar	Seme	Mesoamericano	Indeterminate		0,00
HCC_08	MDRK	Domesticato	Cultivar	Seme	Andino	Determinate		1,00
HCC_09	To	Domesticato	Cultivar	Seme	Mesoamericano	Indeterminate		0,08

HCC_10	Mex222	Domesticato	Cultivar	Seme	Mesoamericano	Determinate		0,21
HCC_11	NY211412	Domesticato	Cultivar	Seme	Mesoamericano			0,09
HCC_13	VAX3	Domesticato	Linea di breeding	Seme	Mesoamericano			0,00
HCC_14	Rojo Chiquito	Domesticato	Cultivar	Seme	Mesoamericano			0,00
HCC_15	UI114	Domesticato	Cultivar	Seme	Mesoamericano			0,00
HCC_16	Montcalm	Domesticato	Cultivar	Seme	Andino			0,93
HCC_17	Mattherhon	Domesticato	Cultivar	Seme	Mesoamericano			0,07
HCC_18	Don Timoteo	Domesticato	Cultivar	Seme	Andino			0,86
HCC_19	XAN265	Domesticato	Linea di breeding	Seme	Andino			1,00
HCC_20	BelNeb	Domesticato	Cultivar	Seme	Mesoamericano			0,00
HCC_21	A55	Domesticato	Linea di breeding		Mesoamericano			0,21
HCC_22	Tendergreen	Domesticato	Cultivar	Fagiolino	Andino			1,00
HCC_23	Sanilac Bc6 Are	Domesticato	Linea di breeding	Seme	Mesoamericano	Determinate		0,00
HCC_24	UI465	Domesticato	Cultivar		Mesoamericano			0,00
HCC_25	AO-1012-29-3-3A	Domesticato	Cultivar	Seme	Andino	Indeterminate		0,94
HCC_26	SEA13	Domesticato	Cultivar	Seme	Mesoamericano			0,00
HCC_27	G11056	Selvatico	Selvatico	/	Mesoamericano		Climbing	0,24
HCC_28	G12856	Selvatico	Selvatico	/	Andino		Climbing	0,83
HCC_29	G12873	Selvatico	Selvatico	/	Mesoamericano	Indeterminate	Climbing	0,19
HCC_30	G19888	Selvatico	Selvatico	/	Andino		Climbing	1,00
HCC_31	G21245	Selvatico	Selvatico	/	Andino		Climbing	1,00
HCC_32	G23421	Selvatico	Selvatico	/	Andino		Climbing	1,00
HCC_33	G23429	Selvatico	Selvatico	/	Mix		Climbing	0,61
HCC_34	G23462	Selvatico	Selvatico	/	Mesoamericano		Climbing	0,17
HCC_35	G23726	Selvatico	Selvatico	/	Nord Perù-Ecuador		Climbing	0,33
HCC_36	G24572A	Selvatico	Selvatico	/	Mesoamericano		Climbing	0,27
HCC_37	PI151023	Domesticato	Varietà locale		Andino	Indeterminate	Prostrate	1,00
HCC_39	W618750	Domesticato	Varietà locale		Andino	Determinate	Bush	1,00
HCC_40	JaloEEP558	Domesticato	Varietà locale	Seme	Andino	Indeterminate	Prostrate	1,00
HCC_41	Midas	Domesticato	Varietà locale	Fagiolino	Andino	Determinate	Bush	1,00
HCC_42	G19833	Domesticato	Varietà locale	Seme	Andino	Indeterminate	Prostrate	0,94
HCC_43	PI313469	Domesticato	Varietà locale		Mesoamericano	Indeterminate	Climbing	0,00
HCC_44	PI313624	Domesticato	Varietà locale		Mesoamericano	Indeterminate	Climbing	0,00
HCC_45	BAT93 from Davis	Domesticato	Cultivar	Seme	Mesoamericano	Indeterminate	Bush	0,00
HCC_46	PHA12	Domesticato	Varietà locale	Fagiolino	Andino	Determinate	Bush	0,93
HCC_47	PHA3063	Domesticato	Varietà locale		Andino	Determinate	Bush	1,00
HCC_48	G13936	Domesticato	Varietà locale		Mix	Indeterminate		0,69
HCC_49	G14061	Domesticato	Varietà locale		Andino	Determinate	Bush	1,00
HCC_50	PHA7002	Domesticato	Varietà locale		Mesoamericano	Indeterminate	Climbing	0,00
HCC_51	PHA6025	Domesticato	Cultivar		Mesoamericano	Indeterminate	Bush	0,00

HCC_52	MONACHELLO	<i>Domesticato</i>	Varietà locale	Seme	Andino	Indetermina te	Prostrate	1,00
HCC_53	NGB2878.1	<i>Domesticato</i>	n.d.		Andino	Determinate	Bush	1,00
HCC_56	MUSICA	<i>Domesticato</i>	Cultivar	Fagiolino	Mesoamericano	Indetermina te		0,09
HCC_57	Garrafal Oro	<i>Domesticato</i>	Cultivar	Fagiolino	Andino	Indetermina te		1,00
HCC_58	HARVESTER	<i>Domesticato</i>	Cultivar	Fagiolino	Mix	Indetermina te		0,66
HCC_59	Black Turtle Soup	<i>Domesticato</i>	Cultivar	Fagiolino	Mesoamericano			0,00
HCC_60	WIDUSA, V012	<i>Domesticato</i>	Cultivar		Mesoamericano			0,21
HCC_61		<i>Domesticato</i>	Varietà locale	Fagiolino	Andino	Indetermina te	Climbing	0,88
HCC_62		<i>Domesticato</i>	Varietà locale	Fagiolino	Mesoamericano	Indetermina te	climbing	0,07
HCC_63		<i>Domesticato</i>	Varietà locale	Fagiolino	Andino	Determinate	Bush	0,92
HCC_64		<i>Domesticato</i>	Varietà locale	Fagiolino	Andino	Determinate	Bush	1,00
HCC_65		<i>Domesticato</i>	Varietà locale	Fagiolino	Andino	Determinate	Bush	0,97
HCC_66		<i>Domesticato</i>	Cultivar	Fagiolino	Andino	Determinate	Bush	1,00
HCC_67		<i>Domesticato</i>	Varietà locale	Fagiolino	Andino	Determinate	Bush	1,00
HCC_68		<i>Domesticato</i>	Varietà locale	Fagiolino	Mesoamericano	Indetermina te	Climbing	0,00
HCC_69		<i>Domesticato</i>	Varietà locale	Fagiolino	Mesoamericano	Indetermina te	climbing	0,00
HCC_70		<i>Domesticato</i>	Varietà locale	Fagiolino	Andino	Indetermina te	Climbing	0,95
HCC_71		<i>Domesticato</i>	Cultivar	Fagiolino	Mix	Indetermina te	Climbing	0,65
HCC_72		<i>Domesticato</i>	Varietà locale	Fagiolino	Andino	Indetermina te	Prostrate	1,00
HCC_73		<i>Domesticato</i>	Varietà locale	Fagiolino	Andino	Determinate	Bush	1,00
HCC_74		<i>Domesticato</i>	Cultivar	Fagiolino	Andino	Indetermina te	Climbing	1,00
HCC_75		<i>Domesticato</i>	Varietà locale	Fagiolino	Mesoamericano	Determinate	Bush	0,00
HCC_77	BEURRE DE ROCQUENCOURT	<i>Domesticato</i>	Cultivar	Fagiolino	Andino	Determinate		1,00
HCC_78	BROWN DUTCH	<i>Domesticato</i>	Cultivar	Fagiolino	Mix	Determinate		0,69
HCC_79		<i>Domesticato</i>	Varietà locale	Fagiolino	Andino			1,00
HCC_80	PERFECCION NEGRA POLO	<i>Domesticato</i>	Cultivar	Fagiolino	Andino	Indetermina te		0,70
HCC_81	OREO	<i>Domesticato</i>	Cultivar	Fagiolino	Mix			0,62
HCC_82	BOCA DE DRAGON	<i>Domesticato</i>	Cultivar	Fagiolino	Andino	Determinate		0,97
HCC_83	Walker	<i>Domesticato</i>	Cultivar		Mix			0,58
HCC_84		/	RIL	Seme	Mix			0,45
HCC_85		<i>Domesticato</i>	Linea di breeding		Mesoamericano			0,24
HCC_86		<i>Domesticato</i>	Linea di breeding		Mix			0,53
HCC_87		<i>Domesticato</i>	Linea di breeding		Andino			0,79

<sup>1</sup>n.d., dato non disponibile); <sup>2</sup>q, percentuale di appartenenza al gene pool andino (risultati ottenuti utilizzando dati WGS e analisi con il software ADMIXTURE (Alexander et al. 2009).

## 2.2 Caratterizzazione dell'architettura radicale

L'architettura radicale è stata caratterizzata mediante il sistema high-throughput *GrowScreen-PaGe* (Gioia et al. 2016). Tale sistema di fenotipizzazione delle radici non è invasivo e prevede la crescita delle radici su carta

di germinazione di colore blu intenso poggiata su una lastra di polimetilmetacrilato (PMMA; 35X25cm) (**Figura 2.1**). La crescita delle radici avviene in due dimensioni (lunghezza e larghezza).

Sei semi per ciascuna delle 82 linee sono stati pesati singolarmente, scarificati e pre-germinati in piastre *petri* su carta bibula bagnata con acqua bidistillata per 24 h. Quattro dei sei semi sono stati utilizzati per l'esperimento, ovvero quattro repliche per linea; è stato utilizzato un disegno sperimentale a blocchi completamente randomizzati. I semi sono stati quindi posizionati su carta da germinazione di colore blu scuro (35 x 20 cm, 194 grade, 430 g/m<sup>2</sup>) precedentemente bagnata in acqua bidistillata. La carta così inumidita è stata posta su lastre PMMA, che presentavano ad entrambi i lati griglie con quadrati di 0.5 cm necessarie per misurare i vari caratteri della radice tramite analisi di immagine, mentre alle estremità superiori della piastra sono stati posizionati due QR codes identici per l'identificazione di ciascun individuo e la relativa replica, utilizzati per indicare il campione e il relativo riconoscimento automatico delle immagini (**Figura 2.1** e **Figura 2.2**).

Le lastre con i semi sono state posizionate in box blu opachi di polipropilene (40 × 60 × 30 cm) dotati di supporti su misura a pettine; sono state posizionate 24 lastre/ campioni per ogni box. Nei box è stata inserita acqua bidistillata in modo da coprire le lastre per circa 3 cm a partire dal fondo per tenere sempre umida la carta di germinazione e permettere alla radice di crescere nelle due dimensioni (**Figura 2.2**). I semi sono stati tenuti in posizione sulle lastre attraverso delle strisce di carta assorbente imbibite d'acqua e dei fogli in plastica forata (necessari per fare in modo che la radice crescesse aderente alla carta assorbente senza ostacolare gli scambi gassosi e la respirazione) tenuti in posizione attraverso clip a farfalla (**Figura 2.2**). Durante la crescita le radici sono state tenute al buio mediante l'utilizzo di fogli di alluminio ed è stata garantita luce artificiale per 8 h al giorno (**Figura 2.3**).



**Figura 2.1.** Sistema di fenotipizzazione della radice *GrowScreen-PaGe*.

Il sistema throughput *GrowScreen-PaGe* (Gioia et al. 2016) prevede l'utilizzo di un sistema di acquisizione di immagini in quanto la caratterizzazione dei caratteri della radice avviene mediante analisi di immagini. È stato, quindi, utilizzato un box per l'acquisizione di immagini. Le immagini della radice sono state effettuate mediante macchina fotografica Sony Alpha 6000 con lenti TBD.



**Figura 2.2.** Pre-germinazione dei semi e crescita di una pianta su foglio di carta da germinazione, con ai lati le griglie e in alto ai lati i codici QR per l'identificazione del campione e della replica.



**Foto 2.3.** Crescita delle radici con sistema *GrowScreenPage* .

I semi sono stati posti nelle lastre il 03/05/2022. L'acquisizione delle immagini è iniziata quando l'apparato radicale aveva una lunghezza di circa 1-3 cm; l'esperimento è terminato quando la maggior parte degli apparati radicali aveva raggiunto il fondo della lastra, ovvero il 13/05/2022. Le immagini sono state acquisite ogni due giorni per poter stimare il tasso di crescita dell'apparato radicale.

All'inizio dell'esperimento, i campioni 42\_R1, 23\_R1, 22\_R1, 35\_R1, 24\_R2 e 20\_R3 che hanno presentato semi con problemi di germinazione sono stati sostituiti. Durante l'esperimento campioni con problemi di accrescimento, muffe o danni meccanici all'apparato radicale sono stati eliminati. Le linee HCC\_04, HCC\_56, HCC\_71 e HCC\_84 sono state eliminate completamente dalle analisi.

A fine esperimento le radici e i germogli/ foglie sono state pesate separatamente (peso fresco), riposte in stufa per 24 h e successivamente pesate (peso secco).

Le immagini acquisite sono state analizzate attraverso un software di analisi di immagini sviluppato dal gruppo di ricerca del Prof. Adriano Mancini del Dipartimento di Ingegneria dell'Informazione dell'Università Politecnica delle Marche (Esuperanzi 2021; Caporusso 2021). Il software utilizza il linguaggio Python e prevede l'uso di due scripts, uno per l'allineamento delle foto, l'altro per l'analisi delle immagini al fine di determinare diversi caratteri relativi all'architettura radicale. Il programma è in fase di aggiornamento. Una volta ultimato sarà possibile valutare un elevato numero di immagini e, quindi, di genotipi in maniera automatizzata per i seguenti caratteri:

1. **PRL** - lunghezza della radice primaria (taproot) (cm)
2. **BRL** - lunghezza totale delle radici basali (cm)
3. **LRL** – lunghezza totale delle radici laterali (cm)
4. **TRL** - lunghezza totale di tutte le radici primaria, basali e laterali (PRL+BRL+LRL)

5. **RLD** - densità della lunghezza radicale (Misura derivata, BRL/PRL)
6. **GRP** - tasso di crescita relativo della radice primaria (%day<sup>-1</sup>)
7. **GRB** - tasso di crescita relativo delle radici basali (%day<sup>-1</sup>)
8. **BRN** - numero totale di radici basali (n.)
9. **ALB** - lunghezza media delle radici basali (Misura derivata, BRL/BRN)
10. **RSD** - massimo approfondimento dell'intero apparato radicale (cm)
11. **RSW** - massima larghezza orizzontale dell'intero apparato radicale (cm)
12. **RSD/RSW** - rapporto tra l'approfondimento radicale e larghezza radicale (misura derivata)
13. **CHA** - superficie convessa che racchiude l'apparato radicale (cm<sup>2</sup>)
14. **ARS** - superficie totale dell'apparato radicale
15. **BRA** - angolo della radice basale a 1.5, a 3.0 e 5.0 cm
16. **PRA** - angolo della radice primaria a 1.5, a 3.0 e 5.0 cm
17. **PRD** - diametro della radice primaria a 1.5, a 3.0 e 5.0 cm
18. **BRD** - diametro della radice basale a 1.5, a 3.0 e 5.0 cm come media di 3 radici basali selezionate in maniera random

Per il lavoro di tesi, i caratteri valutati tramite analisi di immagine sono stati la superficie totale (**ARS**) e la lunghezza totale (**TRL**) dell'apparato radicale.

Nel presente lavoro sono stati considerati i seguenti caratteri:

- peso del seme (**SW**) (g)
- peso fresco della radice (**RFW**, Root Fresh Weight) (g)
- peso secco della radice (**RDW**, Root Dry Weight) (g)
- peso fresco della parte epigea (**SFW**, Shoot Fresh Weight) (g)
- peso secco della parte epigea (**SDW**, Shoot Dry Weight) (g)
- superficie totale della radice (**ARS**, Total area of root system), inclusa radice primaria e le radici basali e laterali (mm<sup>2</sup>)
- lunghezza totale (**TRL**, Total Root Length) (mm)
- contenuto di acqua della radice (**RWC**, Root Water Content), (g), ottenuto come differenza tra RFW e RDW
- contenuto di acqua della parte epigea (**SWC**, Shoot Water Content), (g), ottenuto come differenza tra SFW e SDW

### 2.3 Analisi dei dati

Tutte le analisi statistiche sono state effettuate mediante il software JMP version 8 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Per tutti i caratteri considerati sono state calcolate media e deviazione standard per ciascuna linea. Le correlazioni tra i caratteri sono state quantificate tramite coefficiente di correlazione “r” di Pearson.

È stata stimata l’ereditabilità in senso largo ( $h_B^2$ ) come rapporto tra la varianza genotipica e fenotipica (Hanson 1963) mediante Analisi della Varianza (ANOVA):

$$h_B^2 = \sigma_G^2 / \sigma_P^2$$

dove,  $\sigma_G^2$  è la varianza genotipica e  $\sigma_P^2$  è la varianza fenotipica. Un modello random (restricted maximum likelihood method, REML) è stato utilizzato per stimare il contributo di ciascuna componente della varianza: genotipi, replica e replica per ciascun genotipo.

Le differenze tra i diversi genotipi e tra genotipi Mesoamericani e Andini sono state testate mediante ANOVA ad una via e test di Tukey (probabilità  $P < 0.05$ ). La differenza nei valori dei vari caratteri tra i) cultivar, varietà locali e forme selvatiche, ii) tra varietà da semi e da fagiolino e iii) genotipi ad accrescimento determinato e indeterminato è stata testata tramite Analisi della Covarianza (ANCOVA) includendo nel modello l’informazione circa la struttura di popolazione.

Infine, sono state condotte due tipi di analisi multivariata, ovvero un’analisi delle componenti principali (PCA, Principal Component Analysis) considerando tutti i caratteri (valori medi) e un’analisi cluster gerarchica utilizzando il metodo di Ward al fine di investigare le relazioni tra i diversi genotipi.

### 3. RISULTATI

L'architettura radicale di 82 genotipi di fagiolo comune è stata caratterizzata mediante sistema *GrowScreenPage*; nove caratteri sono stati considerati: **SW, RFW, RDW, RWC, SFW, SDW, SWC, ARS** e **TRL**. Per ciascun genotipo sono state valutate quattro repliche. Quattro genotipi sono stati eliminati dalle analisi perché hanno presentato problemi nella germinazione dei semi o durante l'accrescimento della radice, per cui le analisi sono state effettuate su un totale di 78 genotipi. Il numero di repliche per genotipo varia da una (HCC\_08, HCC\_14, HCC\_23, HCC\_69, HCC\_74, HCC\_78, HCC\_86) a quattro (31 genotipi) (Table 3.1). Per ciascun genotipo con numero di repliche da due a quattro sono state calcolate media e deviazione standard per ciascun carattere (Table 3.1).

**Tabella 3.1.** Numero di repliche, media e deviazione standard per ciascuna linea.

Genotipo	N. Repliche <sup>1</sup>	Media ± Dev.St. (SW)	Media ± Dev. St. (RFW)	Media ± Dev. St. (RDW)	Media ± Dev. St. (RWC)	Media ± Dev. St. (SFW)	Media ± Dev. St. (SDW)	Media ± Dev. St. (SWC)	Media ± Dev. St. (ARS)	Media ± Dev. St. (TRL)
HCC_01	4	0,53 ± 0,11	1,14 ± 0,36	0,05 ± 0,02	1,09 ± 0,33	1,59 ± 0,29	0,20 ± 0,10	1,39 ± 0,37	45096,5 ± 18079,2	5024,9 ± 2314,6
HCC_02	4	0,24 ± 0,03	0,58 ± 0,05	0,03 ± 0,01	0,55 ± 0,05	1,20 ± 0,12	0,10 ± 0,01	1,10 ± 0,10	29040,1 ± 2695,9	3079,5 ± 221,1
HCC_03	4	0,29 ± 0,06	0,59 ± 0,15	0,02 ± 0,01	0,57 ± 0,15	1,69 ± 0,52	0,14 ± 0,03	1,56 ± 0,49	24001,2 ± 7192,4	2682,0 ± 733,9
HCC_05	4	0,23 ± 0,01	0,66 ± 0,05	0,03 ± 0,00	0,63 ± 0,05	1,11 ± 0,05	0,09 ± 0,01	1,01 ± 0,05	27506,0 ± 2479,0	3300,8 ± 549,9
HCC_06	4	0,22 ± 0,08	0,53 ± 0,19	0,02 ± 0,00	0,51 ± 0,19	0,71 ± 0,22	0,07 ± 0,01	0,65 ± 0,21	23723,0 ± 3516,3	2748,2 ± 449,8
HCC_07	2	0,13 ± 0,02	0,30 ± 0,08	0,01 ± 0,00	0,29 ± 0,08	0,43 ± 0,24	0,04 ± 0,01	0,40 ± 0,23	14686,8 ± 224,5	1432,4 ± 224,5
HCC_08	1	0,49	1,06	0,06	1	2,21	0,18	2,02	47605,1	5594,7
HCC_09	4	0,25 ± 0,04	0,64 ± 0,08	0,03 ± 0,01	0,61 ± 0,08	1,18 ± 0,17	0,10 ± 0,02	1,07 ± 0,15	23240,4 ± 3029,1	2697,8 ± 159,2
HCC_10	3	0,35 ± 0,06	0,65 ± 0,14	0,03 ± 0,01	0,63 ± 0,13	1,80 ± 0,42	0,16 ± 0,03	1,64 ± 0,40	27670,3 ± 7985,7	2583,1 ± 763,4
HCC_11	2	0,14 ± 0,00	0,45 ± 0,06	0,02 ± 0,01	0,43 ± 0,07	0,62 ± 0,04	0,05 ± 0,00	0,57 ± 0,05	16373,9 ± 614,2	1639,9 ± 127,1
HCC_13	4	0,22 ± 0,02	0,47 ± 0,02	0,02 ± 0,00	0,46 ± 0,02	1,09 ± 0,04	0,10 ± 0,01	0,99 ± 0,04	21421,1 ± 2240,1	2407,0 ± 445,9
HCC_14	1	0,24	0,72	0,03	0,69	1,1	0,1	1	24729,7	2604,3
HCC_15	4	0,41 ± 0,07	1,12 ± 0,11	0,05 ± 0,01	1,08 ± 0,11	2,12 ± 0,43	0,17 ± 0,04	1,95 ± 0,39	42115,3 ± 1250,4	3656,3 ± 405,4
HCC_16	3	0,43 ± 0,11	0,74 ± 0,13	0,03 ± 0,01	0,71 ± 0,13	1,45 ± 0,57	0,14 ± 0,05	1,30 ± 0,53	25303,9 ± 7064,2	2928,0 ± 912,3
HCC_17	4	0,30 ± 0,04	0,83 ± 0,04	0,04 ± 0,01	0,79 ± 0,04	1,33 ± 0,27	0,11 ± 0,02	1,22 ± 0,25	32260,8 ± 5069,1	3325,5 ± 871,3
HCC_18	4	0,32 ± 0,02	0,84 ± 0,68	0,02 ± 0,01	0,82 ± 0,68	1,23 ± 0,51	0,12 ± 0,04	1,11 ± 0,48	18117,7 ± 6423,2	1561,3 ± 640,5
HCC_19	3	0,44 ± 0,05	0,69 ± 0,30	0,03 ± 0,01	0,66 ± 0,29	1,73 ± 0,79	0,17 ± 0,08	1,56 ± 0,71	25429,1 ± 10036,2	3173,9 ± 1375,7
HCC_20	4	0,19 ± 0,02	0,50 ± 0,12	0,02 ± 0,01	0,47 ± 0,11	0,93 ± 0,07	0,08 ± 0,01	0,85 ± 0,07	22546,2 ± 3830,9	2761,7 ± 715,9
HCC_21	4	0,23 ± 0,02	0,59 ± 0,04	0,03 ± 0,01	0,57 ± 0,04	1,05 ± 0,10	0,09 ± 0,02	0,96 ± 0,09	31782,5 ± 2483,7	3192,6 ± 650,8

HCC_22	4	0,33 ± 0,04	0,55 ± 0,18	0,02 ± 0,01	0,53 ± 0,18	1,75 ± 0,46	0,18 ± 0,02	1,57 ± 0,47	26954,1 ± 10777,0	3082,4 ± 1145,8
HCC_23	1	0,24	0,22	0,01	0,22	0,78	0,13	0,65	7394,5	667,2
HCC_24	2	0,35 ± 0,01	0,95 ± 0,11	0,04 ± 0,00	0,91 ± 0,11	1,45 ± 0,25	0,12 ± 0,04	1,34 ± 0,22	33468,3 ± 3016,6	3749,4 ± 99,8
HCC_25	3	0,37 ± 0,06	0,53 ± 0,13	0,02 ± 0,01	0,51 ± 0,11	1,20 ± 0,43	0,15 ± 0,08	1,05 ± 0,34	24809,5 ± 7471,0	2313,4 ± 740,0
HCC_26	3	0,16 ± 0,01	0,27 ± 0,17	0,01 ± 0,01	0,26 ± 0,16	0,58 ± 0,30	0,05 ± 0,03	0,53 ± 0,28	13271,2 ± 7814,4	1449,9 ± 819,2
HCC_27	3	0,04 ± 0,01	0,06 ± 0,04	0,00 ± 0,00	0,06 ± 0,04	0,17 ± 0,04	0,02 ± 0,00	0,15 ± 0,04	4333,5 ± 2754,1	557,6 ± 322,6
HCC_28	4	0,14 ± 0,02	0,77 ± 0,73	0,02 ± 0,01	0,75 ± 0,73	0,96 ± 0,76	0,06 ± 0,01	0,90 ± 0,77	17621,6 ± 3612,7	2326,4 ± 349,0
HCC_29	3	0,04 ± 0,01	0,07 ± 0,03	0,00 ± 0,00	0,06 ± 0,03	0,19 ± 0,03	0,02 ± 0,01	0,17 ± 0,03	4870,5 ± 1718,3	585,3 ± 162,5
HCC_30	3	0,08 ± 0,00	0,21 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,20 ± 0,01	0,27 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,25 ± 0,02	11030,0 ± 1453,1	1333,5 ± 352,6
HCC_31	4	0,08 ± 0,01	0,12 ± 0,04	0,00 ± 0,01	0,11 ± 0,04	0,22 ± 0,09	0,02 ± 0,01	0,20 ± 0,08	7580,2 ± 2484,1	967,7 ± 353,4
HCC_32	2	0,10 ± 0,02	0,19 ± 0,11	0,01 ± 0,01	0,18 ± 0,10	0,32 ± 0,16	0,04 ± 0,01	0,29 ± 0,13	8955,4 ± 3677,3	955,9 ± 425,6
HCC_33	4	0,06 ± 0,02	0,10 ± 0,04	0,00 ± 0,00	0,10 ± 0,04	0,24 ± 0,08	0,03 ± 0,01	0,22 ± 0,08	5752,9 ± 1250,4	639,4 ± 110,4
HCC_34	4	0,07 ± 0,01	0,11 ± 0,06	0,00 ± 0,00	0,11 ± 0,06	0,31 ± 0,10	0,04 ± 0,01	0,26 ± 0,10	6202,6 ± 2877,7	790,0 ± 242,9
HCC_35	3	0,10 ± 0,02	0,24 ± 0,05	0,01 ± 0,00	0,23 ± 0,05	0,40 ± 0,11	0,04 ± 0,01	0,37 ± 0,10	11801,3 ± 872,5	1045,5 ± 198,7
HCC_36	4	0,05 ± 0,01	0,10 ± 0,06	0,00 ± 0,00	0,10 ± 0,06	0,37 ± 0,39	0,02 ± 0,00	0,36 ± 0,39	5487,7 ± 1885,7	733,3 ± 225,6
HCC_37	3	0,58 ± 0,11	1,93 ± 1,01	0,06 ± 0,02	1,87 ± 1,00	3,26 ± 1,02	0,23 ± 0,05	3,03 ± 1,01	35196,6 ± 14923,0	2972,4 ± 1430,7
HCC_39	2	0,28 ± 0,08	0,87 ± 0,86	0,03 ± 0,03	0,84 ± 0,83	0,89 ± 0,23	0,12 ± 0,01	0,78 ± 0,22	22123,6 ± 16741,8	2363,6 ± 1926,8
HCC_40	3	0,42 ± 0,03	0,68 ± 0,50	0,03 ± 0,03	0,65 ± 0,47	0,97 ± 0,75	0,11 ± 0,09	0,87 ± 0,65	31248,1 ± 23378,2	3049,3 ± 2048,8
HCC_41	4	0,18 ± 0,03	0,40 ± 0,13	0,01 ± 0,01	0,39 ± 0,13	1,16 ± 0,55	0,07 ± 0,01	1,09 ± 0,55	15388,6 ± 3322,5	1532,6 ± 400,0
HCC_42	2	0,48 ± 0,06	0,96 ± 0,04	0,04 ± 0,01	0,93 ± 0,05	2,08 ± 0,34	0,20 ± 0,05	1,89 ± 0,39	27127,3 ± 7376,5	2526,0 ± 921,6
HCC_43	3	0,27 ± 0,03	0,65 ± 0,12	0,03 ± 0,01	0,62 ± 0,12	1,08 ± 0,05	0,10 ± 0,01	0,97 ± 0,04	27095,1 ± 4334,0	2500,4 ± 148,3
HCC_44	4	0,20 ± 0,01	0,58 ± 0,08	0,03 ± 0,01	0,55 ± 0,07	0,65 ± 0,13	0,07 ± 0,02	0,58 ± 0,13	27382,8 ± 3618,4	2610,7 ± 563,0
HCC_45	3	0,19 ± 0,03	0,60 ± 0,12	0,02 ± 0,01	0,57 ± 0,11	0,84 ± 0,10	0,07 ± 0,01	0,77 ± 0,09	21332,5 ± 2214,9	2124,2 ± 388,2
HCC_46	2	0,33 ± 0,06	0,82 ± 0,18	0,04 ± 0,01	0,79 ± 0,16	1,10 ± 0,02	0,11 ± 0,01	0,99 ± 0,03	22025,2 ± 4296,5	2128,8 ± 129,7
HCC_47	3	0,54 ± 0,12	1,35 ± 0,18	0,06 ± 0,01	1,29 ± 0,17	2,27 ± 0,52	0,22 ± 0,06	2,05 ± 0,46	46371,0 ± 3748,7	4020,5 ± 335,2
HCC_48	3	0,21 ± 0,02	0,43 ± 0,06	0,02 ± 0,01	0,41 ± 0,06	0,97 ± 0,07	0,09 ± 0,01	0,88 ± 0,07	15900,4 ± 4270,0	1461,6 ± 470,4
HCC_49	3	0,24 ± 0,03	0,70 ± 0,09	0,03 ± 0,01	0,68 ± 0,09	1,24 ± 0,10	0,09 ± 0,01	1,15 ± 0,10	28816,1 ± 2149,7	3381,6 ± 308,9
HCC_50	3	0,23 ± 0,02	0,70 ± 0,08	0,03 ± 0,01	0,66 ± 0,07	1,08 ± 0,13	0,08 ± 0,01	1,00 ± 0,12	23394,2 ± 2769,1	2228,6 ± 487,0
HCC_51	3	0,19 ± 0,02	0,80 ± 0,13	0,02 ± 0,01	0,78 ± 0,13	0,66 ± 0,29	0,08 ± 0,00	0,58 ± 0,28	24922,6 ± 868,8	2812,8 ± 88,7
HCC_52	2	0,35 ± 0,21	0,85 ± 0,49	0,03 ± 0,01	0,82 ± 0,48	1,84 ± 1,07	0,17 ± 0,12	1,68 ± 0,95	19056,1 ± 10220,2	1491,8 ± 719,6
HCC_53	3	0,39 ± 0,04	1,04 ± 0,25	0,04 ± 0,01	1,00 ± 0,24	1,75 ± 0,19	0,14 ± 0,01	1,61 ± 0,19	45801,3 ± 3859,8	5486,0 ± 247,2
HCC_57	4	0,56 ± 0,04	1,01 ± 0,15	0,05 ± 0,01	0,96 ± 0,14	2,47 ± 0,35	0,25 ± 0,02	2,21 ± 0,35	29735,2 ± 4102,5	2916,2 ± 593,3
HCC_58	2	0,18 ± 0,01	0,38 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,36 ± 0,00	0,78 ± 0,06	0,08 ± 0,01	0,70 ± 0,07	12557,4 ± 363,1	1266,3 ± 118,2
HCC_59	4	0,20 ± 0,03	0,51 ± 0,08	0,02 ± 0,01	0,49 ± 0,08	0,96 ± 0,13	0,08 ± 0,01	0,88 ± 0,12	23681,5 ± 1814,5	2584,7 ± 155,0
HCC_60	3	0,19 ± 0,06	0,46 ± 0,09	0,02 ± 0,01	0,44 ± 0,08	1,04 ± 0,38	0,07 ± 0,03	0,97 ± 0,36	15933,1 ± 1284,9	1432,1 ± 112,1

HCC_61	4	0,46 ± 0,02	0,97 ± 0,12	0,04 ± 0,01	0,93 ± 0,12	1,96 ± 0,37	0,23 ± 0,04	1,74 ± 0,38	25618,8 ± 5548,8	2020,6 ± 799,4
HCC_62	4	0,37 ± 0,03	1,01 ± 0,11	0,04 ± 0,01	0,97 ± 0,11	1,73 ± 0,14	0,15 ± 0,01	1,59 ± 0,13	35500,7 ± 5247,6	3831,8 ± 911,9
HCC_63	4	0,30 ± 0,05	0,62 ± 0,09	0,02 ± 0,01	0,59 ± 0,09	1,63 ± 0,32	0,13 ± 0,03	1,50 ± 0,28	21032,1 ± 4475,8	2041,9 ± 460,6
HCC_64	2	0,34 ± 0,01	0,65 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,62 ± 0,01	1,41 ± 0,05	0,15 ± 0,00	1,26 ± 0,05	22325,1 ± 1535,0	2529,0 ± 477,5
HCC_65	4	0,48 ± 0,05	1,27 ± 0,77	0,04 ± 0,01	1,23 ± 0,77	1,92 ± 0,87	0,22 ± 0,06	1,70 ± 0,86	32443,0 ± 10905,4	3297,4 ± 1264,9
HCC_66	2	0,17 ± 0,08	0,36 ± 0,10	0,01 ± 0,00	0,35 ± 0,09	0,82 ± 0,40	0,07 ± 0,03	0,75 ± 0,37	15603,6 ± 5569,4	2006,1 ± 664,6
HCC_67	4	0,63 ± 0,06	1,14 ± 0,08	0,05 ± 0,00	1,09 ± 0,07	2,98 ± 0,45	0,30 ± 0,05	2,68 ± 0,42	47802,6 ± 7680,1	5143,9 ± 511,2
HCC_68	3	0,24 ± 0,03	0,66 ± 0,09	0,02 ± 0,01	0,64 ± 0,09	1,17 ± 0,08	0,11 ± 0,01	1,07 ± 0,07	22153,5 ± 4035,0	2079,1 ± 556,0
HCC_69	1	0,22	0,7	0,03	0,67	0,91	0,08	0,84	24799,1	2766
HCC_70	4	0,61 ± 0,11	1,20 ± 0,29	0,06 ± 0,02	1,15 ± 0,28	2,50 ± 0,60	0,29 ± 0,06	2,22 ± 0,58	45024,1 ± 17747,2	4317,4 ± 2065,1
HCC_72	2	0,40 ± 0,06	0,91 ± 0,11	0,04 ± 0,01	0,88 ± 0,11	1,86 ± 0,63	0,15 ± 0,04	1,71 ± 0,59	33145,0 ± 2590,3	3938,6 ± 69,5
HCC_73	4	0,21 ± 0,02	0,56 ± 0,06	0,02 ± 0,00	0,54 ± 0,06	1,20 ± 0,25	0,09 ± 0,02	1,11 ± 0,23	21987,4 ± 3017,9	2744,4 ± 469,9
HCC_74	1	0,72	1,42	0,07	1,35	3,37	0,29	3,08	39037,6	3385,5
HCC_75	2	0,16 ± 0,01	0,37 ± 0,04	0,02 ± 0,00	0,35 ± 0,04	0,71 ± 0,02	0,07 ± 0,01	0,64 ± 0,01	23647,5 ± 1275,6	2753,1 ± 528,2
HCC_77	3	0,13 ± 0,02	0,27 ± 0,14	0,01 ± 0,01	0,26 ± 0,14	0,55 ± 0,31	0,05 ± 0,02	0,50 ± 0,29	12433,5 ± 6887,9	1407,0 ± 784,0
HCC_78	1	0,39	0,68	0,02	0,66	0,98	0,08	0,9	33077	4086,7
HCC_79	3	0,38 ± 0,14	0,87 ± 0,21	0,04 ± 0,01	0,84 ± 0,20	1,69 ± 0,41	0,17 ± 0,08	1,53 ± 0,33	37560,7 ± 5248,6	4683,8 ± 510,3
HCC_80	4	0,18 ± 0,01	0,45 ± 0,02	0,01 ± 0,01	0,43 ± 0,02	1,11 ± 0,03	0,08 ± 0,01	1,03 ± 0,04	16315,3 ± 3467,3	1833,9 ± 268,6
HCC_81	3	0,06 ± 0,01	0,16 ± 0,02	0,00 ± 0,01	0,16 ± 0,02	0,29 ± 0,04	0,02 ± 0,01	0,27 ± 0,04	8199,2 ± 2011,6	882,1 ± 151,1
HCC_82	3	0,29 ± 0,01	0,67 ± 0,12	0,03 ± 0,00	0,64 ± 0,12	1,44 ± 0,11	0,12 ± 0,01	1,33 ± 0,11	23360,0 ± 2711,0	2409,9 ± 148,6
HCC_83	2	0,11 ± 0,01	0,24 ± 0,04	0,01 ± 0,00	0,23 ± 0,04	0,50 ± 0,08	0,04 ± 0,00	0,46 ± 0,08	11836,9 ± 481,9	1294,4 ± 133,8
HCC_85	2	0,38 ± 0,11	0,69 ± 0,26	0,03 ± 0,01	0,66 ± 0,26	1,52 ± 0,70	0,16 ± 0,04	1,36 ± 0,66	29039,9 ± 7264,8	3067,3 ± 249,2
HCC_86	1	0,22	0,4	0,02	0,38	0,97	0,1	0,88	16771,6	1867,6
HCC_87	4	0,27 ± 0,03	0,58 ± 0,14	0,02 ± 0,01	0,56 ± 0,13	1,41 ± 0,21	0,12 ± 0,02	1,28 ± 0,21	22296,3 ± 5027,4	2347,6 ± 668,5

<sup>1</sup>Per i genotipi con dati disponibili per solo una replica non è stato possibile il calcolo della deviazione standard.

Tutti i caratteri considerati presentano grande variabilità, come si può vedere dal confronto tra valore minimo e massimo rilevato (Tabella 3.2). La maggiore stima di ereditabilità si è riscontrata per il peso del seme (SW), con stime variabili da 57,7% (contenuto di acqua, RWC) a 77,2% (peso secco della parte epigea, SDW), valori di ereditabilità tutti a livelli medio-alti.

**Tabella 3.2.** Range di variabilità ed ereditabilità per ciascuna linea.

	Unità di misura	Range	H <sub>B</sub> <sup>2</sup> (%)
SW	g	0,03 – 0,72	89,1
RFW	g	0,02 – 3,02	59,2
RDW	g	0,00 – 0,08	74,0
RWC	g	0,02 – 2,96	57,7
SFW	g	0,13 – 4,12	74,6
SDW	g	0,01 – 0,35	77,2
SWC	g	0,10 – 3,92	72,2

ARS	mm <sup>2</sup>	1183,82 – 62195,31	68,6
TRL	mm	193,46 – 6997,73	65,4

È stata condotta un'ANOVA ad una via per identificare differenze significative tra i genotipi. Per questa analisi i genotipi caratterizzati per solo una replica sono stati esclusi. In totale sono stati analizzati 71 genotipi. Per tutti i caratteri considerati, tale analisi ha evidenziato, oltre che una grande variabilità, anche differenze significative tra i diversi genotipi (Tabelle 3.3, 3.4 e 3.5). Le Figure 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8 e 3.9 mostrano la distribuzione dei diversi caratteri, rispettivamente, SW, RFW, RDW, RWC, SFW, SDW, SFC, ARS and TRL.

Peso del seme (SW)			Peso fresco della radice (RFW)			Peso secco della radice (RDW)		
Genotipo	g	Test di Tukey (p < 0,05)	Genotipo	g	Test di Tukey (p < 0,05)	Genotipo	g	Test di Tukey (p < 0,05)
HCC_67	0,63	A	HCC_37	1,93	A	HCC_37	0,06	A
HCC_70	0,61	AB	HCC_47	1,35	AB	HCC_47	0,06	A
HCC_37	0,58	ABC	HCC_65	1,27	ABC	HCC_70	0,06	AB
HCC_57	0,56	ABC	HCC_70	1,20	ABCD	HCC_67	0,05	ABC
HCC_47	0,54	ABCD	HCC_01	1,14	ABCDE	HCC_57	0,05	ABCD
HCC_01	0,53	ABCD	HCC_67	1,14	ABCDE	HCC_01	0,05	ABCD
HCC_42	0,48	ABCDEFG	HCC_15	1,12	ABCDE	HCC_15	0,05	ABCDE
HCC_65	0,48	ABCDE	HCC_53	1,04	ABCDEFG	HCC_24	0,04	ABCDEFGH
HCC_61	0,46	BCDEF	HCC_57	1,01	BCDEF	HCC_53	0,04	ABCDEF
HCC_19	0,44	BCDEFGH	HCC_62	1,01	BCDEFG	HCC_62	0,04	ABCDEF
HCC_16	0,43	CDEFGHI	HCC_61	0,97	BCDEFG	HCC_61	0,04	ABCDEF
HCC_40	0,42	CDEFGHI	HCC_42	0,96	ABCDEFGH	HCC_79	0,04	ABCDEFGH
HCC_15	0,41	CDEFGHI	HCC_24	0,95	ABCDEFGH	HCC_46	0,04	ABCDEFGHI
HCC_72	0,40	CDEFGHIJKL	HCC_72	0,91	BCDEFGH	HCC_65	0,04	ABCDEFGH
HCC_53	0,39	DEFGHIJ	HCC_79	0,87	BCDEFGH	HCC_42	0,04	ABCDEFGHI
HCC_79	0,38	DEFGHIJK	HCC_39	0,87	BCDEFGH	HCC_17	0,04	ABCDEFGH
HCC_85	0,38	CDEFGHIJKLMN	HCC_52	0,85	BCDEFGH	HCC_72	0,04	ABCDEFGHI
HCC_25	0,37	DEFGHIJKLM	HCC_18	0,84	BCDEFGH	HCC_39	0,03	ABCDEFGHIJK
HCC_62	0,37	EFGHIJKM	HCC_17	0,83	BCDEFGH	HCC_16	0,03	BCDEFGHI
HCC_10	0,35	FGHIJKLMNO	HCC_46	0,82	BCDEFGH	HCC_43	0,03	BCDEFGHI
HCC_52	0,35	DEFGHIJKLMN	HCC_51	0,80	BCDEFGH	HCC_19	0,03	BCDEFGHI
HCC_24	0,35	DEFGHIJKLMN	HCC_28	0,77	BCDEFGH	HCC_05	0,03	BCDEFGHI
HCC_64	0,34	FGHIJKLMN	HCC_16	0,74	BCDEFGH	HCC_85	0,03	ABCDEFGHIJK
HCC_46	0,33	FGHIJKLMN	HCC_49	0,70	BCDEFGH	HCC_40	0,03	BCDEFGHI
HCC_22	0,33	FGHIJKLMN	HCC_50	0,70	BCDEFGH	HCC_52	0,03	ABCDEFGHIJK
HCC_18	0,32	FGHIJKLMN	HCC_19	0,69	BCDEFGH	HCC_82	0,03	BCDEFGHI
HCC_63	0,30	FGHIJKLMN	HCC_85	0,69	BCDEFGH	HCC_21	0,03	CDEFGHIJ
HCC_17	0,30	GHIJKLMN	HCC_40	0,68	BCDEFGH	HCC_44	0,03	CDEFGHIJ
HCC_03	0,29	GHIJKLMN	HCC_82	0,67	BCDEFGH	HCC_50	0,03	CDEFGHIJK
HCC_82	0,29	GHIJKLMN	HCC_68	0,66	BCDEFGH	HCC_10	0,03	CDEFGHIJK
HCC_39	0,28	FGHIJKLMN	HCC_05	0,66	BCDEFGH	HCC_49	0,03	CDEFGHIJK
HCC_87	0,27	IJKLMN	HCC_10	0,65	BCDEFGH	HCC_64	0,03	BCDEFGHIJK
HCC_43	0,27	HIJKLMN	HCC_43	0,65	BCDEFGH	HCC_02	0,03	CDEFGHIJK
HCC_09	0,25	JKLMN	HCC_64	0,65	BCDEFGH	HCC_09	0,03	CDEFGHIJK
HCC_49	0,24	JKLMN	HCC_09	0,64	BCDEFGH	HCC_45	0,02	CDEFGHIJK
HCC_02	0,24	JKLMN	HCC_63	0,62	BCDEFGH	HCC_51	0,02	CDEFGHIJK
HCC_68	0,24	JKLMN	HCC_45	0,60	BCDEFGH	HCC_68	0,02	CDEFGHIJK
HCC_50	0,23	JKLMN	HCC_21	0,59	BCDEFGH	HCC_63	0,02	DEFGHIJK
HCC_21	0,23	JKLMN	HCC_03	0,59	BCDEFGH	HCC_20	0,02	DEFGHIJK
HCC_05	0,23	JKLMN	HCC_44	0,58	BCDEFGH	HCC_06	0,02	EFGHIJK
HCC_06	0,22	KLMN	HCC_02	0,58	BCDEFGH	HCC_13	0,02	EFGHIJK
HCC_13	0,22	KLMN	HCC_87	0,58	BCDEFGH	HCC_25	0,02	EFGHIJK
HCC_48	0,21	KLMN	HCC_73	0,56	BCDEFGH	HCC_18	0,02	EFGHIJK
HCC_73	0,21	LN	HCC_22	0,55	BCDEFGH	HCC_75	0,02	CDEFGHIJK
HCC_59	0,20	NOP	HCC_25	0,53	BCDEFGH	HCC_87	0,02	EFGHIJK
HCC_44	0,20	NOP	HCC_06	0,53	BCDEFGH	HCC_73	0,02	EFGHIJK

HCC_51	0,19	NOPQRSTUVWXYZ[	HCC_59	0,51	BCDEFGH	HCC_22	0,02	EFGHIJK
HCC_45	0,19	NOPQRSTUVWXYZ[	HCC_20	0,50	CDEFGH	HCC_59	0,02	FGHIJK
HCC_60	0,19	NOPQRSTUVWXYZ[	HCC_13	0,47	DEFGH	HCC_03	0,02	FGHIJK
HCC_20	0,19	NOPQRSTUVWXYZ[	HCC_60	0,46	BCDEFGH	HCC_60	0,02	FGHIJK
HCC_80	0,18	OPQRSTUVWXYZ[	HCC_11	0,45	BCDEFGH	HCC_48	0,02	FGHIJK
HCC_41	0,18	PQRSTUVWXYZ[	HCC_80	0,45	DEFGH	HCC_28	0,02	FGHIJK
HCC_58	0,18	MNOPQRSTUVWXYZ[	HCC_48	0,43	CDEFGH	HCC_11	0,02	EFGHIJK
HCC_66	0,17	NOPQRSTUVWXYZ[	HCC_41	0,40	EFGH	HCC_41	0,01	GHIJK
HCC_26	0,16	PQRSTUVWXYZ[	HCC_58	0,38	BCDEFGH	HCC_80	0,01	GHIJK
HCC_75	0,16	OPQRSTUVWXYZ[	HCC_75	0,37	BCDEFGH	HCC_58	0,01	FGHIJK
HCC_11	0,14	PQRSTUVWXYZ[	HCC_66	0,36	BCDEFGH	HCC_35	0,01	FGHIJK
HCC_28	0,14	TUVWXYZ[	HCC_07	0,30	DEFGH	HCC_07	0,01	FGHIJK
HCC_77	0,13	RSTUVWXYZ[	HCC_26	0,27	FGH	HCC_66	0,01	FGHIJK
HCC_07	0,13	QRSTUVWXYZ[	HCC_77	0,27	FGH	HCC_26	0,01	HIJK
HCC_83	0,11	STUVWXYZ[	HCC_83	0,24	EFGH	HCC_83	0,01	FGHIJK
HCC_35	0,10	UVWXYZ[	HCC_35	0,24	FGH	HCC_30	0,01	HIJK
HCC_32	0,10	TUVWXYZ[	HCC_30	0,21	FGH	HCC_77	0,01	IJK
HCC_31	0,08	VXYZ[	HCC_32	0,19	EFGH	HCC_32	0,01	HIJK
HCC_30	0,08	VWXYZ[	HCC_81	0,16	GH	HCC_81	0,00	IJK
HCC_34	0,07	XYZ[	HCC_31	0,12	H	HCC_31	0,00	JK
HCC_81	0,06	YZ[	HCC_34	0,11	H	HCC_29	0,00	K
HCC_33	0,06	Z[	HCC_36	0,10	H	HCC_34	0,00	K
HCC_36	0,05	[	HCC_33	0,10	H	HCC_27	0,00	K
HCC_27	0,04	[	HCC_29	0,07	H	HCC_36	0,00	K
HCC_29	0,04	[	HCC_27	0,06	H	HCC_33	0,00	K

**Tabella 3.3.** Risultati del Test di Tukey ( $P < 0,05$ ) per il peso del seme, e il peso fresco e secco delle radici; lettere diverse indicano differenze significative tra i genotipi per il carattere specifico.

Contenuto di acqua nelle radici (RWC)			Peso fresco della parte epigea (SFW)			Peso secco della parte epigea (SDW)		
Genotipo	g	Test di Tukey ( $p < 0,05$ )	Genotipo	g	Test di Tukey ( $p < 0,05$ )	Genotipo	g	Test di Tukey ( $p < 0,05$ )
HCC_37	1,87	A	HCC_37	3,26	A	HCC_67	0,30	A
HCC_47	1,29	AB	HCC_67	2,98	AB	HCC_70	0,29	AB
HCC_65	1,23	AB	HCC_70	2,50	ABC	HCC_57	0,25	ABC
HCC_70	1,15	ABC	HCC_57	2,47	ABCD	HCC_37	0,23	ABCDE
HCC_01	1,09	ABCD	HCC_47	2,27	ABCDE	HCC_61	0,23	ABCD
HCC_67	1,09	ABCD	HCC_15	2,12	ABCDEF	HCC_65	0,22	ABCDE
HCC_15	1,08	ABCD	HCC_42	2,08	ABCDEFGH	HCC_47	0,22	ABCDEF
HCC_53	1,00	ABCDE	HCC_61	1,96	BCDEFG	HCC_01	0,20	BCDEFG
HCC_62	0,97	BCDE	HCC_65	1,92	BCDEFG	HCC_42	0,20	ABCDEFGHI
HCC_57	0,96	BCDE	HCC_72	1,86	ABCDEFGHIJK	HCC_22	0,18	CDEFGH
HCC_61	0,93	BCDE	HCC_52	1,84	ABCDEFGHIJK	HCC_15	0,17	CDEFGHIJ
HCC_42	0,93	ABCDEF	HCC_10	1,80	BCDEFGHI	HCC_19	0,17	CDEFGHIJ
HCC_24	0,91	ABCDEF	HCC_53	1,75	CDEFGHIJ	HCC_79	0,17	CDEFGHIJK
HCC_72	0,88	BCDEF	HCC_22	1,75	CDEFGHI	HCC_52	0,17	BCDEFGHIJKLMN
HCC_39	0,84	BCDEF	HCC_62	1,73	CDEFGHI	HCC_10	0,16	CDEFGHIJKL
HCC_79	0,84	BCDEF	HCC_19	1,73	CDEFGHIJ	HCC_85	0,16	CDEFGHIJKLMN
HCC_18	0,82	BCDEF	HCC_79	1,69	CDEFGHIJK	HCC_25	0,15	CDEFGHIJKLM
HCC_52	0,82	BCDEF	HCC_03	1,69	CDEFGHIJ	HCC_64	0,15	CDEFGHIJKLMNOPQR
HCC_17	0,79	BCDEF	HCC_63	1,63	CDEFGHIJ	HCC_72	0,15	CDEFGHIJKLMNOPQR
HCC_46	0,79	BCDEF	HCC_01	1,59	CDEFGHIJK	HCC_62	0,15	DEFGHIJKLM
HCC_51	0,78	BCDEF	HCC_85	1,52	CDEFGHIJKLMN	HCC_53	0,14	CDEFGHIJKLMNOP
HCC_28	0,75	BCDEF	HCC_24	1,45	CDEFGHIJKLMN	HCC_16	0,14	DEFGHIJKLMNOPQ
HCC_16	0,71	BCDEF	HCC_16	1,45	CDEFGHIJKLM	HCC_03	0,14	DEFGHIJKLMNO
HCC_49	0,68	BCDEF	HCC_82	1,44	CDEFGHIJKLMN	HCC_63	0,13	DEFGHIJKLMNOPQ
HCC_50	0,66	BCDEF	HCC_87	1,41	CDEFGHIJKL	HCC_18	0,12	EFGHIJKLMNOPQRS
HCC_19	0,66	BCDEF	HCC_64	1,41	CDEFGHIJKLMN	HCC_87	0,12	EFGHIJKLMNOPQRS
HCC_85	0,66	BCDEF	HCC_17	1,33	EFGHIJKLMN	HCC_82	0,12	DEFGHIJKLMNOPQRS
HCC_40	0,65	BCDEF	HCC_49	1,24	DEFGHIJKLMN	HCC_24	0,12	DEFGHIJKLMNOPQRS
HCC_68	0,64	BCDEF	HCC_18	1,23	EFGHIJKLMN	HCC_39	0,12	DEFGHIJKLMNOPQRS
HCC_82	0,64	BCDEF	HCC_25	1,20	EFGHIJKLMN	HCC_17	0,11	FGHIJKLMNOPQRS
HCC_05	0,63	BCDEF	HCC_02	1,20	EFGHIJKLMN	HCC_40	0,11	FGHIJKLMNOPQRS
HCC_10	0,63	BCDEF	HCC_73	1,20	EFGHIJKLMN	HCC_68	0,11	FGHIJKLMNOPQRS
HCC_43	0,62	BCDEF	HCC_09	1,18	EFGHIJKLMN	HCC_46	0,11	DEFGHIJKLMNOPQRS
HCC_64	0,62	BCDEF	HCC_68	1,17	EFGHIJKLMN	HCC_43	0,10	FGHIJKLMNOPQRS

HCC_09	0,61	BCDEF	HCC_41	1,16	FGHIJKLMN	HCC_09	0,10	GHIJKLMNOPQRS
HCC_63	0,59	BCDEF	HCC_05	1,11	FGHIJKLMN	HCC_02	0,10	GHIJKLMNOPQRS
HCC_45	0,57	BCDEF	HCC_80	1,11	FGHIJKLMN	HCC_13	0,10	GHIJKLMNOPQRS
HCC_03	0,57	BCDEF	HCC_46	1,10	DEFHIJKLMN	HCC_49	0,09	GHIJKLMNOPQRS
HCC_21	0,57	BCDEF	HCC_13	1,09	FGHIJKLMN	HCC_21	0,09	HIJKLMNOPQRS
HCC_87	0,56	BCDEF	HCC_50	1,08	FGHIJKLMN	HCC_05	0,09	HIJKLMNOPQRS
HCC_02	0,55	BCDEF	HCC_43	1,08	FGHIJKLMN	HCC_73	0,09	HIJKLMNOPQRS
HCC_44	0,55	BCDEF	HCC_21	1,05	FGHIJKLMN	HCC_48	0,09	GHIJKLMNOPQRS
HCC_73	0,54	BCDEF	HCC_60	1,04	FGHIJKLMN	HCC_50	0,08	HIJKLMNOPQRS
HCC_22	0,53	BCDEF	HCC_40	0,97	FGHIJKLMN	HCC_59	0,08	HIJKLMNOPQRS
HCC_06	0,51	BCDEF	HCC_48	0,97	FGHIJKLMN	HCC_51	0,08	HIJKLMNOPQRS
HCC_25	0,51	BCDEF	HCC_59	0,96	GHIJKLMN	HCC_20	0,08	HIJKLMNOPQRS
HCC_59	0,49	BCDEF	HCC_28	0,96	GHIJKLMN	HCC_58	0,08	GHIJKLMNOPQRS
HCC_20	0,47	BCDEF	HCC_20	0,93	GHIJKLMN	HCC_80	0,08	HIJKLMNOPQRS
HCC_13	0,46	CDEF	HCC_39	0,89	FGHIJKLMN	HCC_45	0,07	HIJKLMNOPQRS
HCC_60	0,44	BCDEF	HCC_45	0,84	GHIJKLMN	HCC_41	0,07	IJKLMNOPQRS
HCC_80	0,43	CDEF	HCC_66	0,82	FGHIJKLMN	HCC_66	0,07	HIJKLMNOPQRS
HCC_11	0,43	BCDEF	HCC_58	0,78	FHIJKLMN	HCC_60	0,07	HIJKLMNOPQRS
HCC_48	0,41	BCDEF	HCC_06	0,71	HIJKLMN	HCC_44	0,07	JJKLMNOPQRS
HCC_41	0,39	CDEF	HCC_75	0,71	GHIJKLMN	HCC_06	0,07	JJKLMNOPQRS
HCC_58	0,36	BCDEF	HCC_51	0,66	HIJKLMN	HCC_75	0,07	HIJKLMNOPQRS
HCC_75	0,35	BCDEF	HCC_44	0,65	IJKLMN	HCC_28	0,06	LMNOPQRS
HCC_66	0,35	BCDEF	HCC_11	0,62	GHIJKLMN	HCC_11	0,05	IJKLMNOPQRS
HCC_07	0,29	CDEF	HCC_26	0,58	IJKLMN	HCC_26	0,05	KLMNOPQRS
HCC_26	0,26	DEF	HCC_77	0,55	IJKLMN	HCC_77	0,05	LMNOPQRS
HCC_77	0,26	DEF	HCC_83	0,50	HIJKLMN	HCC_35	0,04	MNOPQRS
HCC_83	0,23	CDEF	HCC_07	0,43	IJKLMN	HCC_83	0,04	KLMNOPQRS
HCC_35	0,23	EF	HCC_35	0,40	KLMN	HCC_32	0,04	KLMNOPQRS
HCC_30	0,20	EF	HCC_36	0,37	LMN	HCC_34	0,04	NOPQRS
HCC_32	0,18	DEF	HCC_32	0,32	JJKLMN	HCC_07	0,04	KLMNOPQRS
HCC_81	0,16	EF	HCC_34	0,31	LMN	HCC_30	0,03	OPQRS
HCC_31	0,11	F	HCC_81	0,29	LMN	HCC_33	0,03	RS
HCC_34	0,11	F	HCC_30	0,27	LMN	HCC_81	0,02	PQRS
HCC_36	0,10	F	HCC_33	0,24	MN	HCC_31	0,02	S
HCC_33	0,10	F	HCC_31	0,22	N	HCC_27	0,02	QRS
HCC_27	0,06	F	HCC_29	0,19	LMN	HCC_36	0,02	S
HCC_29	0,06	F	HCC_27	0,17	MN	HCC_29	0,02	S

**Tabella 3.4.** Risultati del Test di Tukey ( $P < 0,05$ ) per il contenuto di acqua nelle radici e il peso fresco e secco della parte epigea; lettere diverse indicano differenze significative tra i genotipi per il carattere specifico.

Contenuto di acqua della parte epigea (SWC)			Superficie totale della radice (ARS)			Lunghezza totale della radice (TRL)		
Genotipo	g	Test di Tukey ( $p < 0,05$ )	Genotipo	mm <sup>2</sup>	Test di Tukey ( $p < 0,05$ )	Genotipo	mm	Test di Tukey ( $p < 0,05$ )
HCC_37	3,03	A	HCC_67	47802,59	A	HCC_53	5486,043	A
HCC_67	2,68	AB	HCC_47	46371,02	AB	HCC_67	5143,91	AB
HCC_70	2,215	ABC	HCC_53	45801,32	AB	HCC_01	5024,873	ABC
HCC_57	2,2125	ABC	HCC_01	45096,45	AB	HCC_79	4683,83	ABCD
HCC_47	2,053333	ABCD	HCC_70	45024,12	AB	HCC_70	4317,438	ABCDE
HCC_15	1,945	ABCDE	HCC_15	42115,35	ABC	HCC_47	4020,527	ABCDEF
HCC_42	1,885	ABCDEF	HCC_79	37560,74	ABCD	HCC_72	3938,63	ABCDEF
HCC_61	1,735	BCDEF	HCC_62	35500,72	ABCDE	HCC_62	3831,775	ABCDEF
HCC_72	1,705	ABCDEF	HCC_37	35196,57	ABCDEF	HCC_24	3749,425	ABCDEF
HCC_65	1,695	BCDEF	HCC_24	33468,33	ABCDEF	HCC_15	3656,275	ABCDEF
HCC_52	1,675	ABCDEF	HCC_72	33145	ABCDEF	HCC_49	3381,617	ABCDEF
HCC_10	1,643333	BCDEF	HCC_65	32443	ABCDEF	HCC_17	3325,525	ABCDEF
HCC_53	1,61	BCDEF	HCC_17	32260,82	ABCDEF	HCC_05	3300,788	ABCDEF
HCC_62	1,585	CDEF	HCC_21	31782,48	ABCDEF	HCC_65	3297,413	ABCDEF
HCC_22	1,565	CDEF	HCC_40	31248,14	ABCDEF	HCC_21	3192,55	ABCDEF
HCC_03	1,5575	CDEF	HCC_57	29735,24	ABCDEF	HCC_19	3173,853	ABCDEF
HCC_19	1,556667	BCDEF	HCC_02	29040,12	ABCDEF	HCC_22	3082,39	ABCDEF
HCC_79	1,526667	BCDEF	HCC_85	29039,85	ABCDEF	HCC_02	3079,453	ABCDEF
HCC_63	1,5025	CDEF	HCC_49	28816,11	ABCDEF	HCC_85	3067,27	ABCDEF
HCC_01	1,3925	CDEF	HCC_10	27670,28	ABCDEF	HCC_40	3049,34	ABCDEF
HCC_85	1,355	BCDEF	HCC_05	27505,98	BCDEF	HCC_37	2972,433	ABCDEF
HCC_24	1,335	CDEF	HCC_44	27382,83	BCDEF	HCC_16	2927,97	ABCDEF
HCC_82	1,326667	CDEF	HCC_42	27127,31	ABCDEF	HCC_57	2916,205	BCDEF

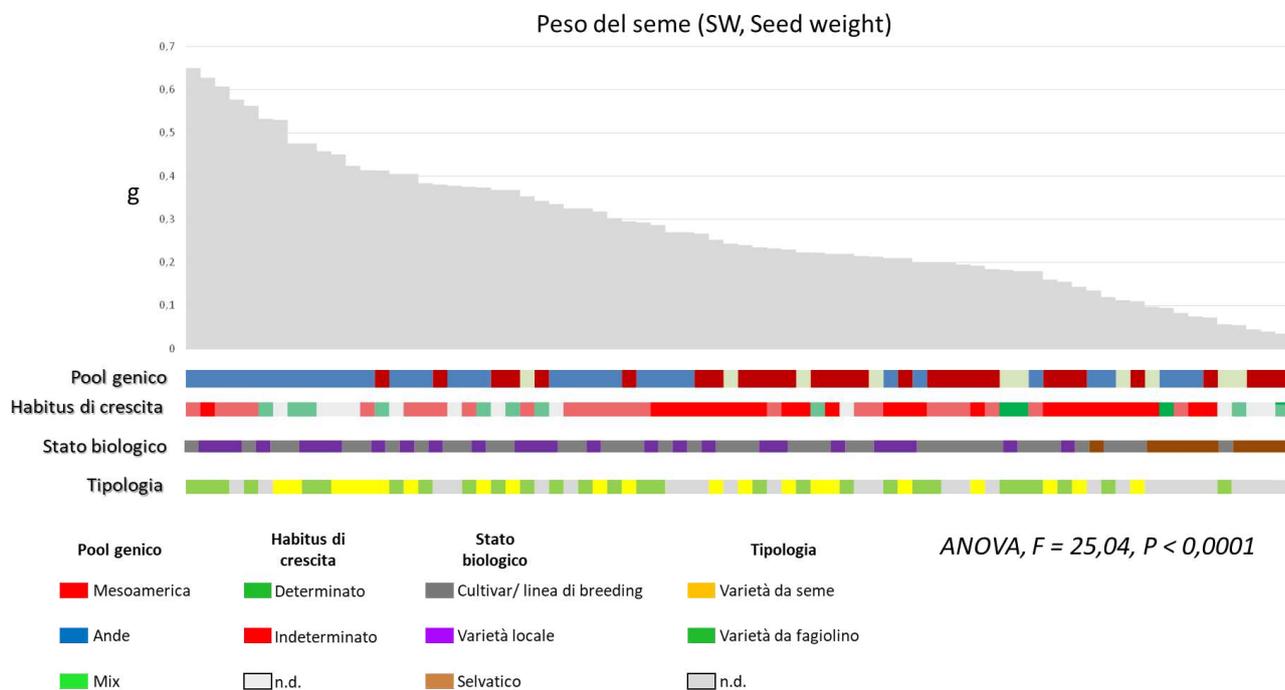
HCC_16	1,303333	CDEFGHIJKLMN	HCC_43	27095,09	ABCDEFGHIJK	HCC_51	2812,817	BCDEFGHIJKLMN
HCC_87	1,28	CDEFGHIJKLM	HCC_22	26954,14	BCDEFGHI	HCC_20	2761,73	CDEFGHIJKLMN
HCC_64	1,255	CDEFGHIJKLMN	HCC_61	25618,82	BCDEFGHIJK	HCC_75	2753,125	ABCDEFGHIJKLMN
HCC_17	1,215	CDEFGHIJKLMN	HCC_19	25429,14	BCDEFGHIJK	HCC_06	2748,163	CDEFGHIJKLMN
HCC_49	1,15	CDEFGHIJKLMN	HCC_16	25303,91	BCDEFGHIJK	HCC_73	2744,383	CDEFGHIJKLMN
HCC_73	1,11	DEFGHIJKLMN	HCC_51	24922,62	BCDEFGHIJK	HCC_09	2697,778	DEFGHIJKLMN
HCC_18	1,1075	DEFGHIJKLMN	HCC_25	24809,49	BCDEFGHIJK	HCC_03	2682,015	DEFGHIJKLMN
HCC_02	1,0975	DEFGHIJKLMN	HCC_03	24001,18	CDEFGHIJK	HCC_44	2610,7	DEFGHIJKLMN
HCC_41	1,0925	DEFGHIJKLMN	HCC_06	23723,02	CDEFGHIJK	HCC_59	2584,748	DEFGHIJKLMN
HCC_09	1,0725	DEFGHIJKLMN	HCC_59	23681,5	CDEFGHIJK	HCC_10	2583,093	CDEFGHIJKLMN
HCC_68	1,066667	CDEFGHIJKLMN	HCC_75	23647,48	ABCDEFGHIJK	HCC_64	2528,955	ABCDEFGHIJKLMN
HCC_25	1,05	CDEFGHIJKLMN	HCC_50	23394,2	BCDEFGHIJK	HCC_42	2525,985	ABCDEFGHIJKLMN
HCC_80	1,0325	DEFGHIJKLMN	HCC_82	23360	BCDEFGHIJK	HCC_43	2500,38	DEFGHIJKLMN
HCC_05	1,01	DEFGHIJKLMN	HCC_09	23240,35	CDEFGHIJK	HCC_82	2409,933	DEFGHIJKLMN
HCC_50	0,996667	DEFGHIJKLMN	HCC_20	22546,15	CDEFGHIJK	HCC_13	2406,95	DEFGHIJKLMN
HCC_13	0,9925	DEFGHIJKLMN	HCC_64	22325,09	BCDEFGHIJK	HCC_39	2363,58	BCDEFGHIJKLMN
HCC_46	0,99	CDEFGHIJKLMN	HCC_87	22296,27	CDEFGHIJK	HCC_87	2347,55	DEFGHIJKLMN
HCC_60	0,973333	DEFGHIJKLMN	HCC_68	22153,5	CDEFGHIJK	HCC_28	2326,39	DEFGHIJKLMN
HCC_43	0,973333	DEFGHIJKLMN	HCC_39	22123,6	BCDEFGHIJK	HCC_25	2313,407	DEFGHIJKLMN
HCC_21	0,9625	DEFGHIJKLMN	HCC_46	22025,19	BCDEFGHIJK	HCC_50	2228,627	DEFGHIJKLMN
HCC_28	0,9025	DEFGHIJKLMN	HCC_73	21987,42	CDEFGHIJK	HCC_46	2128,75	DEFGHIJKLMN
HCC_48	0,883333	DEFGHIJKLMN	HCC_13	21421,09	DEFGHIJK	HCC_45	2124,183	DEFGHIJKLMN
HCC_59	0,88	EFGHIJKLMN	HCC_45	21332,52	CDEFGHIJK	HCC_68	2079,093	DEFGHIJKLMN
HCC_40	0,866667	DEFGHIJKLMN	HCC_63	21032,09	DEFGHIJK	HCC_63	2041,878	EFGHIJKLMN
HCC_20	0,845	FGHIJKLMN	HCC_52	19056,13	CDEFGHIJK	HCC_61	2020,648	DEFGHIJKLMN
HCC_39	0,775	DEFGHIJKLMN	HCC_18	18117,68	DEFGHIJK	HCC_66	2006,105	DEFGHIJKLMN
HCC_45	0,77	FGHIJKLMN	HCC_28	17621,56	DEFGHIJK	HCC_80	1833,875	FGHIJKLMN
HCC_66	0,745	DEFGHIJKLMN	HCC_11	16373,89	DEFGHIJK	HCC_11	1639,915	EFGHIJKLMN
HCC_58	0,7	DEFGHIJKLMN	HCC_80	16315,33	DEFGHIJK	HCC_18	1561,278	FGHIJKLMN
HCC_06	0,645	GHIJKLMN	HCC_60	15933,11	DEFGHIJK	HCC_41	1532,558	GHIJKLMN
HCC_75	0,64	EFGHIJKLMN	HCC_48	15900,39	DEFGHIJK	HCC_52	1491,755	FGHIJKLMN
HCC_51	0,58	FGHIJKLMN	HCC_66	15603,64	DEFGHIJK	HCC_48	1461,6	FGHIJKLMN
HCC_44	0,5775	IJKLMN	HCC_41	15388,55	EFGHIJK	HCC_26	1449,903	FGHIJKLMN
HCC_11	0,565	FGHIJKLMN	HCC_07	14686,79	DEFGHIJK	HCC_07	1432,35	FGHIJKLMN
HCC_26	0,53	GHIJKLMN	HCC_26	13271,22	FGHIJK	HCC_60	1432,083	FGHIJKLMN
HCC_77	0,5	IJKLMN	HCC_58	12557,43	DEFGHIJK	HCC_77	1406,973	FGHIJKLMN
HCC_83	0,46	FGHIJKLMN	HCC_77	12433,46	FGHIJK	HCC_30	1333,487	IJKLMN
HCC_07	0,395	GHIJKLMN	HCC_83	11836,94	DEFGHIJK	HCC_83	1294,385	FGHIJKLMN
HCC_35	0,366667	IJKLMN	HCC_35	11801,34	GHIJK	HCC_58	1266,305	FGHIJKLMN
HCC_36	0,355	KLMN	HCC_30	11029,95	GHIJK	HCC_35	1045,487	IJKLMN
HCC_32	0,285	IJKLMN	HCC_32	8955,365	GHIJK	HCC_31	967,65	KLMN
HCC_81	0,266667	LMN	HCC_81	8199,227	HIJK	HCC_32	955,935	IJKLMN
HCC_34	0,2625	MN	HCC_31	7580,218	IJK	HCC_81	882,1367	JKLMN
HCC_30	0,25	LMN	HCC_34	6202,61	JK	HCC_34	789,9875	LMN
HCC_33	0,2175	MN	HCC_33	5752,893	K	HCC_36	733,255	MN
HCC_31	0,195	N	HCC_36	5487,653	K	HCC_33	639,3625	N
HCC_29	0,166667	MN	HCC_29	4870,49	JK	HCC_29	585,3167	MN
HCC_27	0,15	MN	HCC_27	4333,503	K	HCC_27	557,6433	MN

**Tabella 3.5.** Risultati del Test di Tukey ( $P < 0,05$ ) per il contenuto di acqua della parte epigea, la superficie totale e la lunghezza totale della radice; lettere diverse indicano differenze significative tra i genotipi per il carattere specifico.

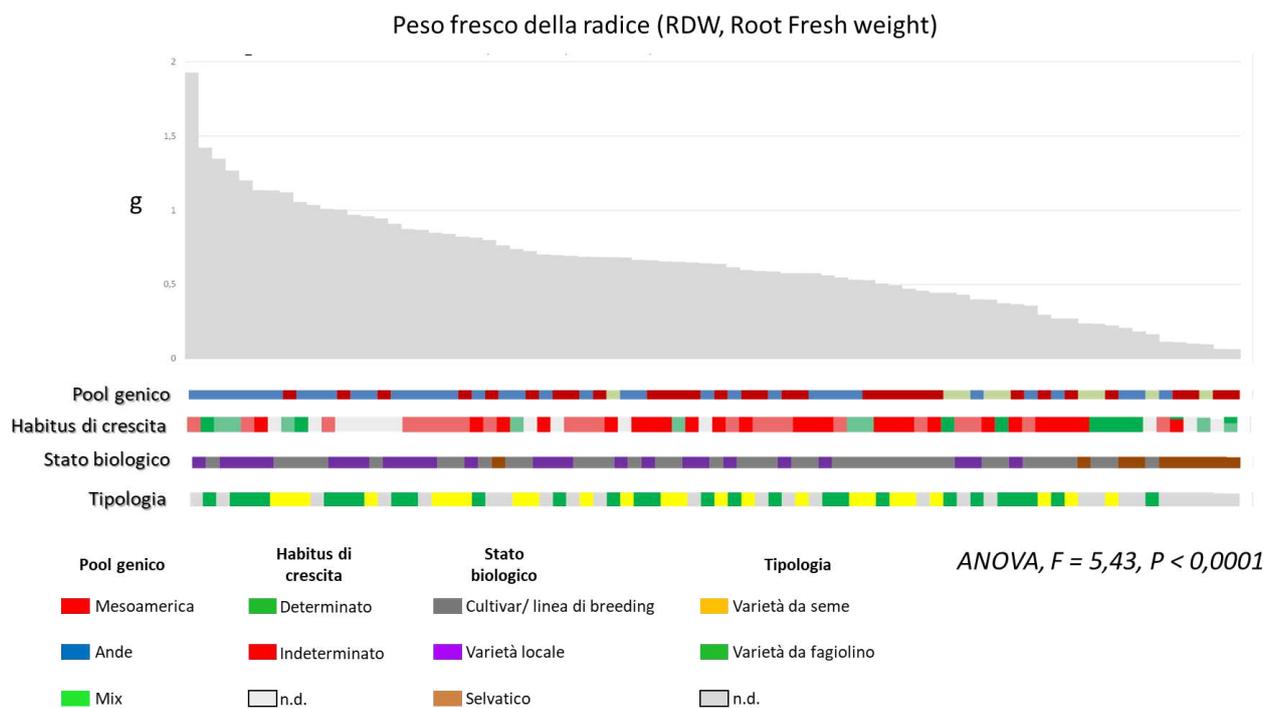
La **Figura 3.1** mostra come gli individui caratterizzati da semi più grandi appartengano al pool genico andino, mentre per quanto concerne lo stato biologico, essenzialmente come atteso gli individui selvatici mostrano semi di piccole dimensioni. Le linee con maggiore peso del seme sono risultate avere un habitus indeterminato e appartenere alla tipologia varietà da fagiolino.

La maggior parte dei genotipi andini presenta un maggiore peso fresco e secco della radice e un maggior contenuto di acqua, così come tali caratteri sono più bassi nei genotipi selvatici (**Figure 3.2, 3.3 e 3.4**). La tipologia di mercato (seme *versus* fagiolino) e l'habitus di crescita sono distribuiti in maniera più o meno omogenea lungo il range di variabilità di questi caratteri (**Figure 3.2, 3.3 e 3.4**). La stessa tendenza è visibile per i caratteri relativi alla parte epigea (**SFW, SDW e SWC**) (**Figure 3.5, 3.6 e 3.7**).

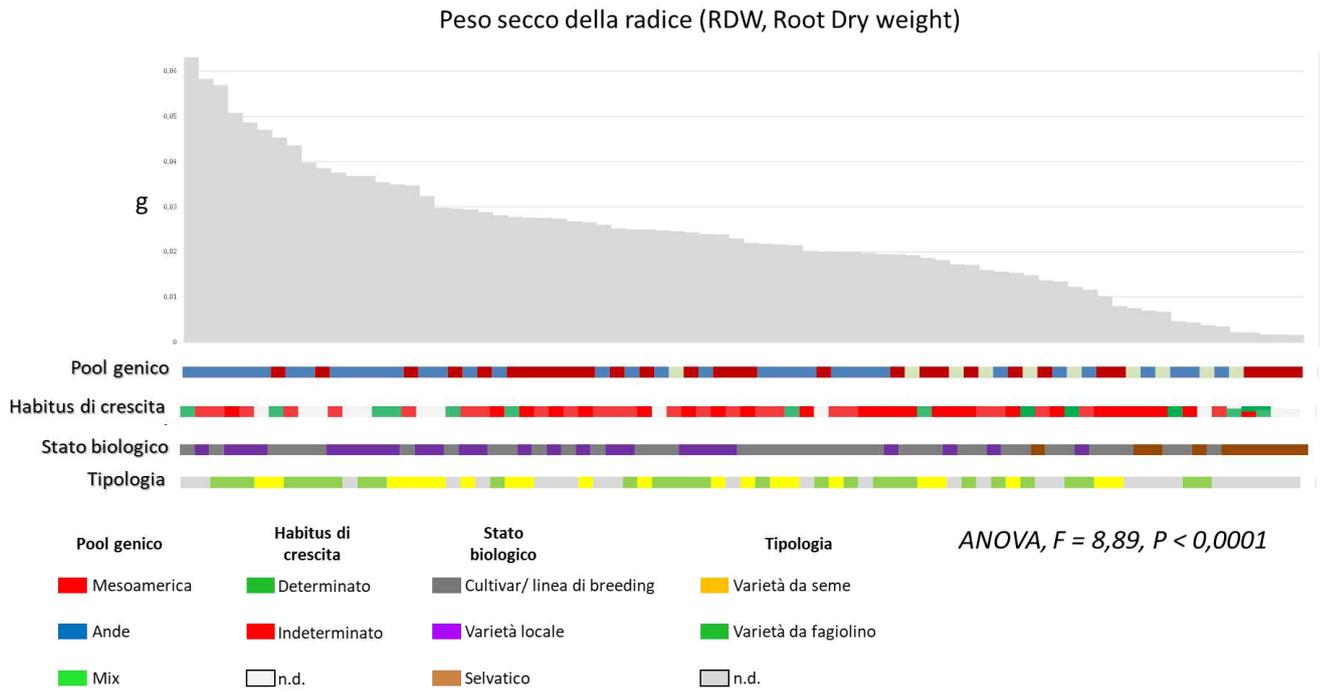
Per quanto riguarda i caratteri rilevati tramite analisi di immagine, **ARS** e **TRL**, si osserva una distribuzione più omogenea tra andini e mesoamericani (**Figure 3.8** e **3.9**). Gli individui selvatici hanno valori minori per la superficie totale della radice (**Figura 3.8**), mentre risultano più distribuiti per la lunghezza totale della radice (**Figura 3.9**).



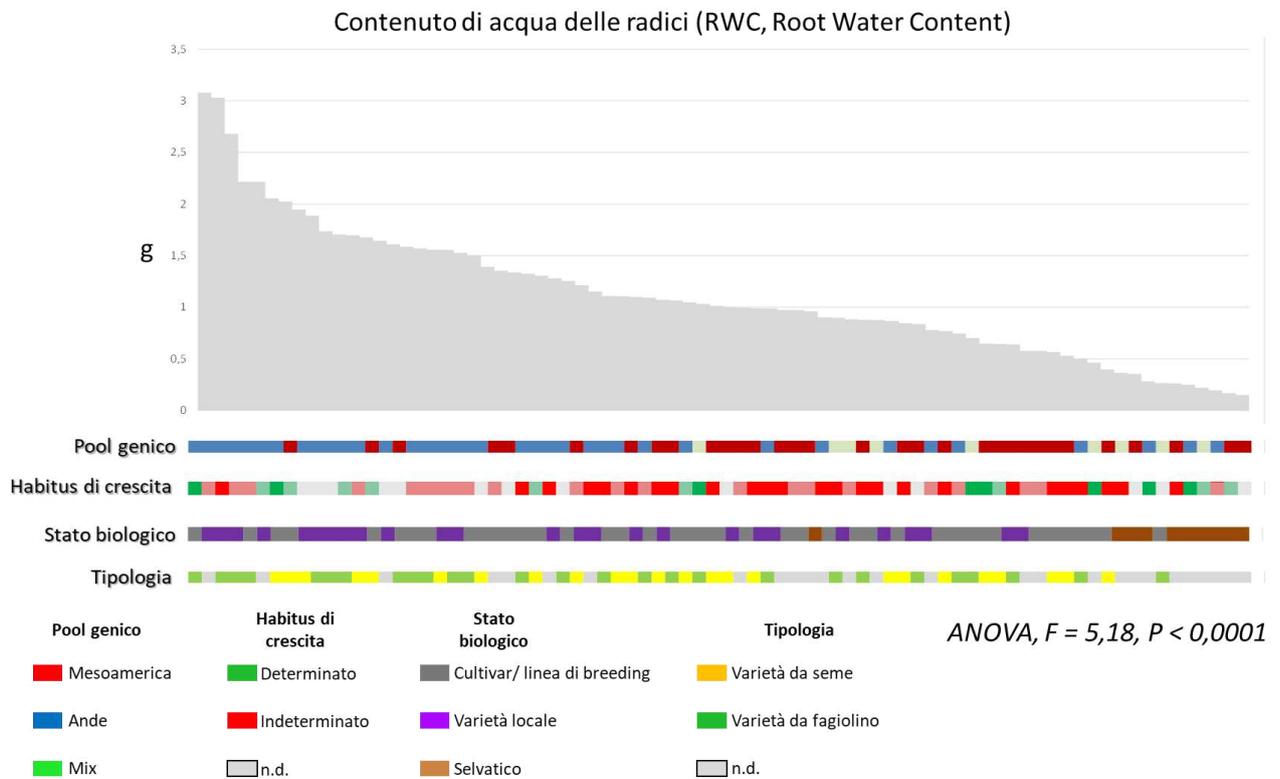
**Figura 3.1.** Distribuzione del peso del seme nella collezione HCC.



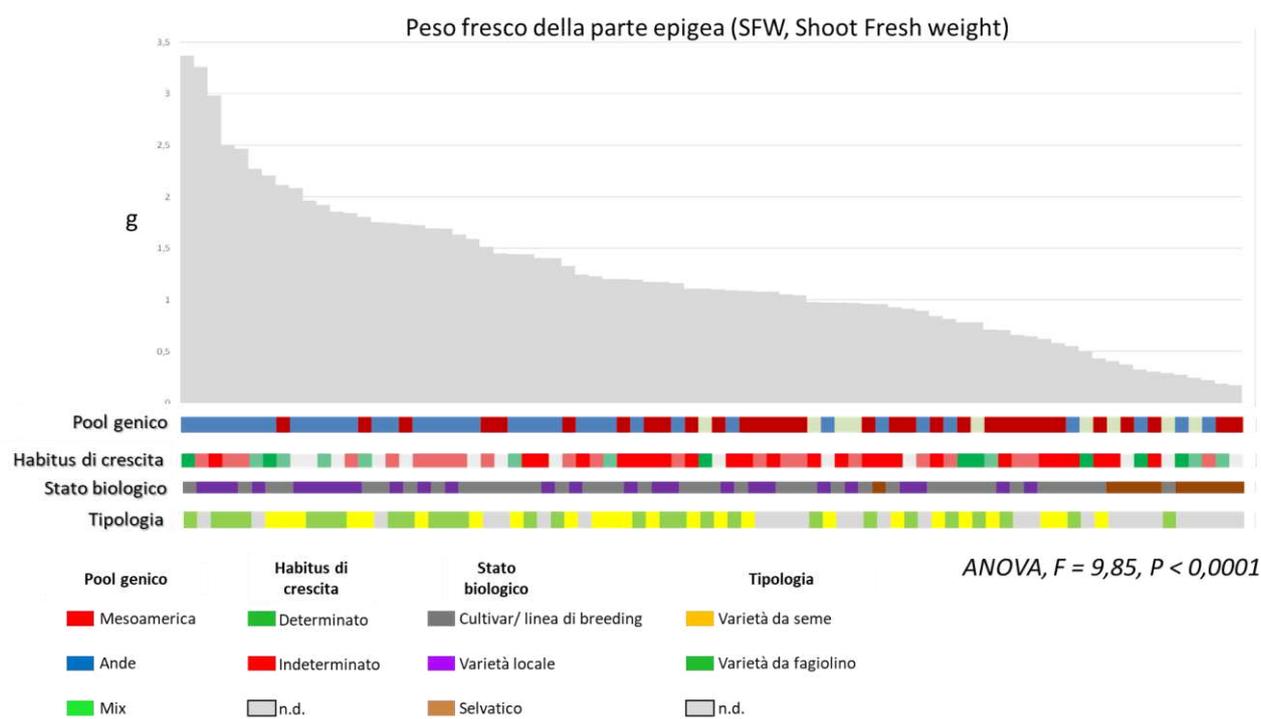
**Figura 3.2.** Distribuzione del peso fresco della radice nella collezione HCC.



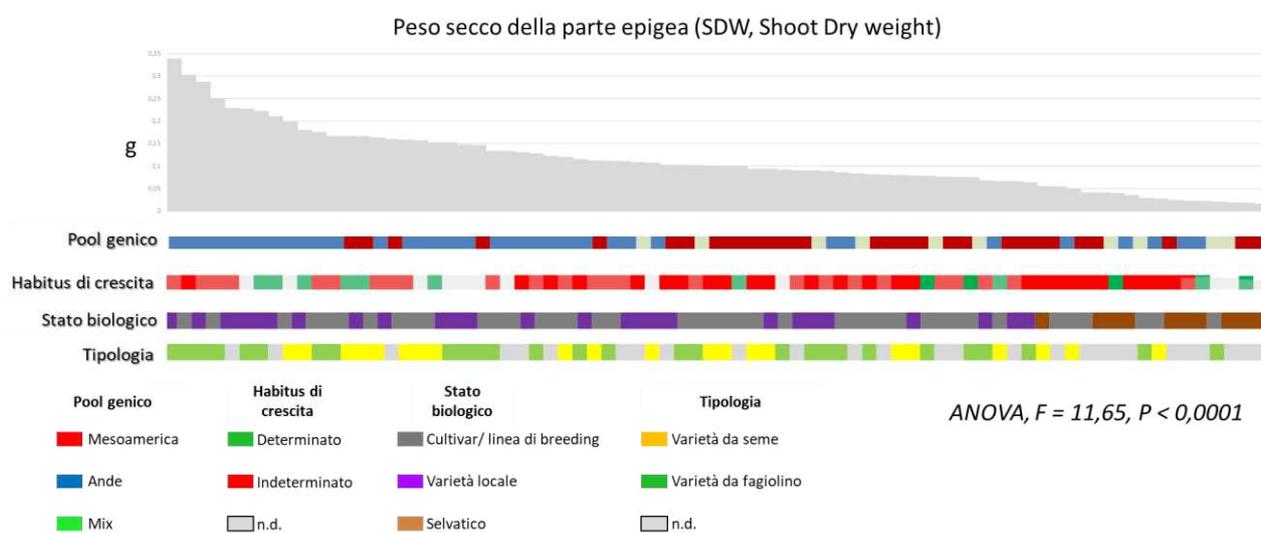
**Figura 3.3.** Distribuzione del peso secco della radice nella collezione HCC.



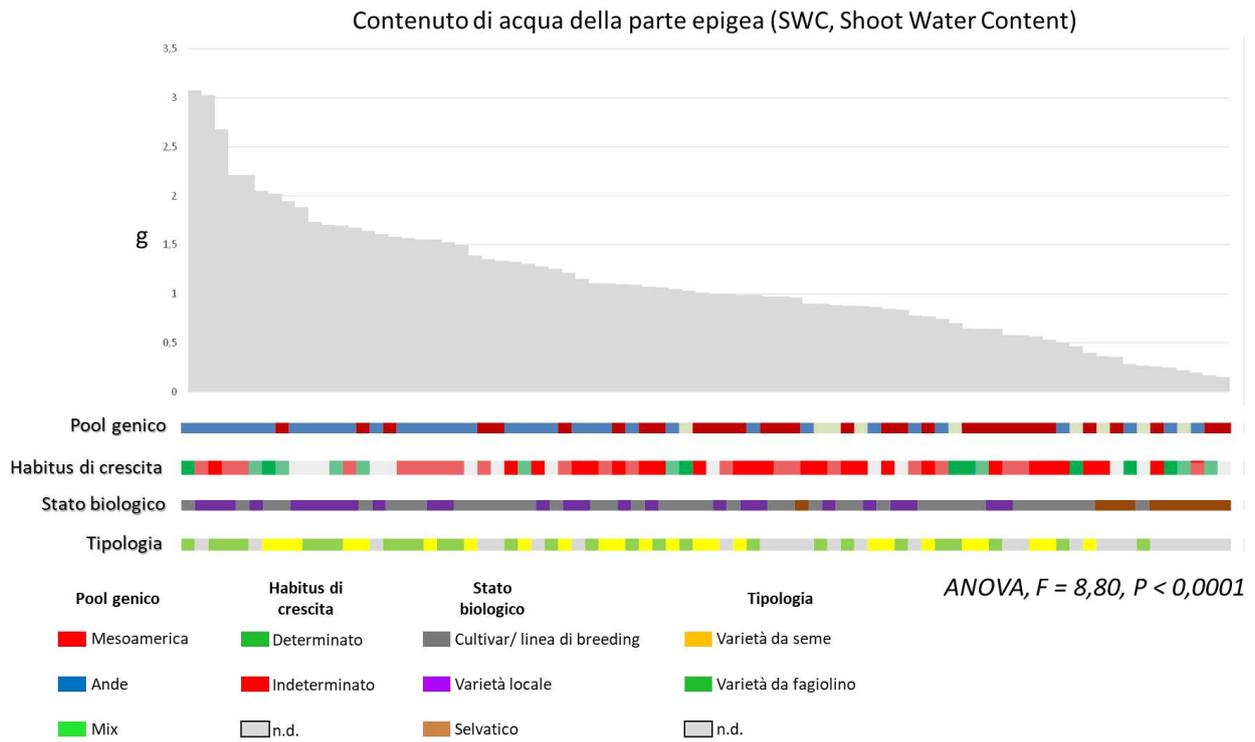
**Figura 3.4.** Distribuzione del contenuto di acqua della radice nella collezione HCC.



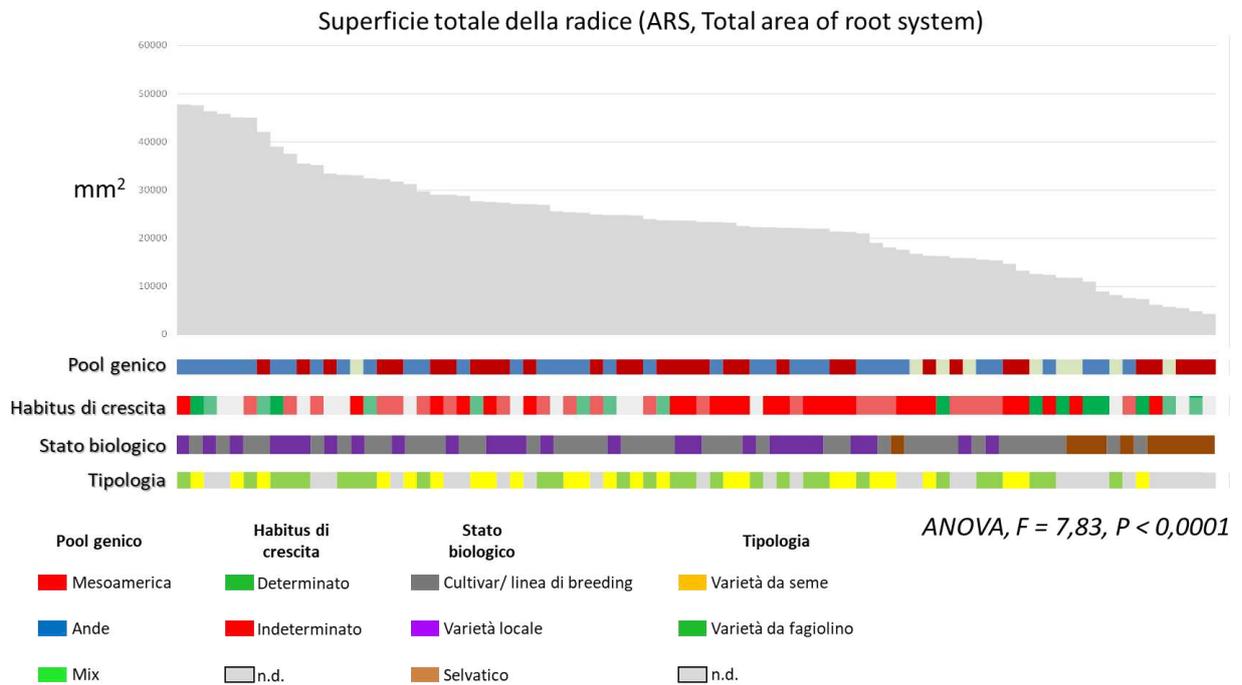
**Figura 3.5.** Distribuzione del peso fresco della parte epigea nella collezione HCC.



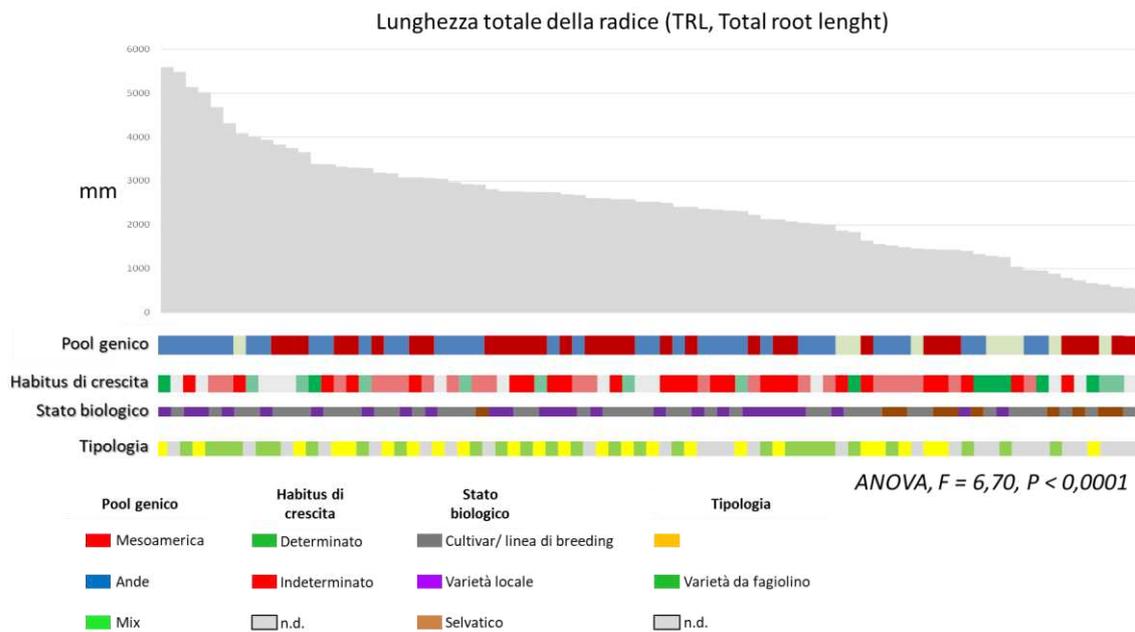
**Figura 3.6.** Distribuzione del peso secco della parte epigea nella collezione HCC.



**Figura 3.7.** Distribuzione del contenuto di acqua della parte epigea nella collezione HCC.



**Figura 3.8.** Distribuzione della superficie totale della radice nella collezione HCC.



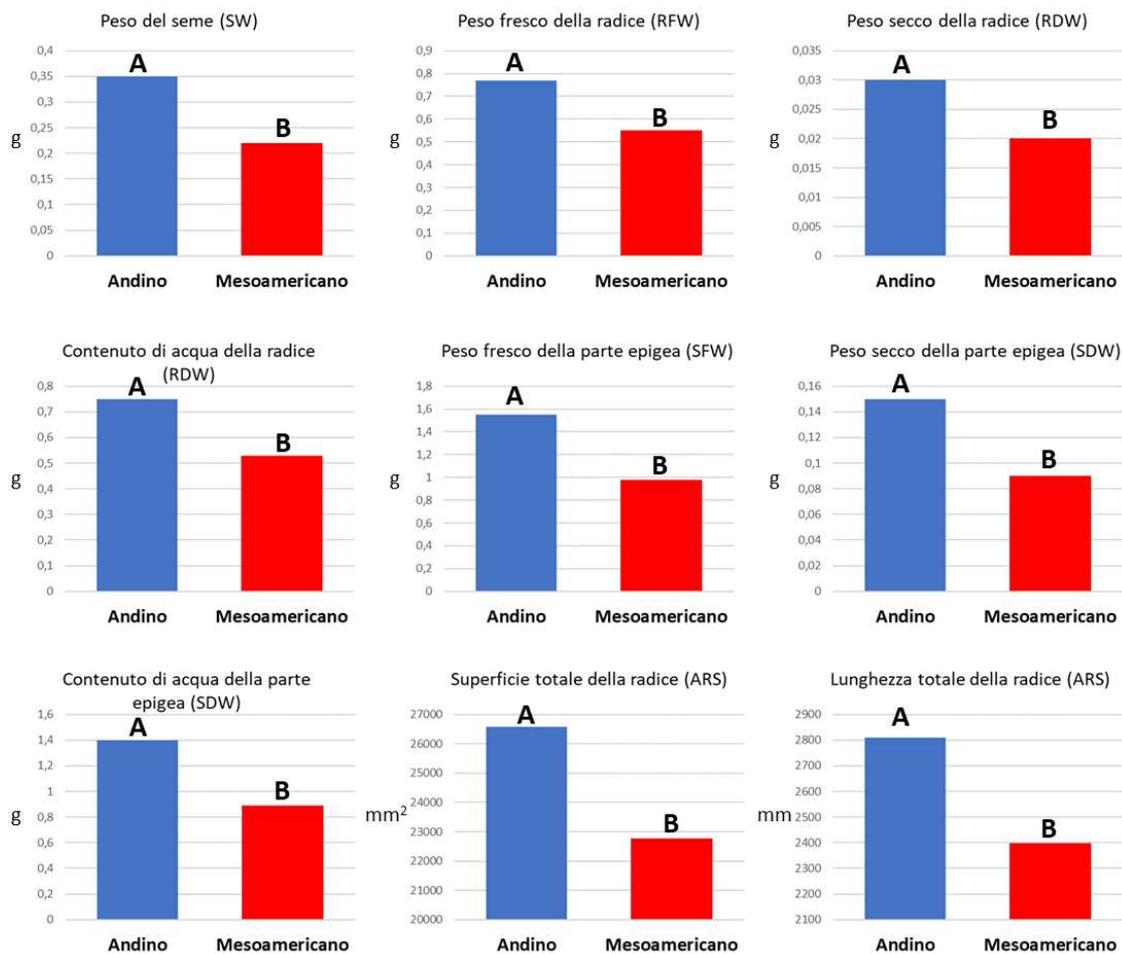
**Figura 3.9.** Distribuzione della lunghezza totale della radice nella collezione HCC.

Il confronto tra genotipi andini e mesoamericani ha mostrato come, per tutti i caratteri, le forme andine presentano valori significativamente maggiori rispetto ai mesoamericani (**Figura 3.10**).

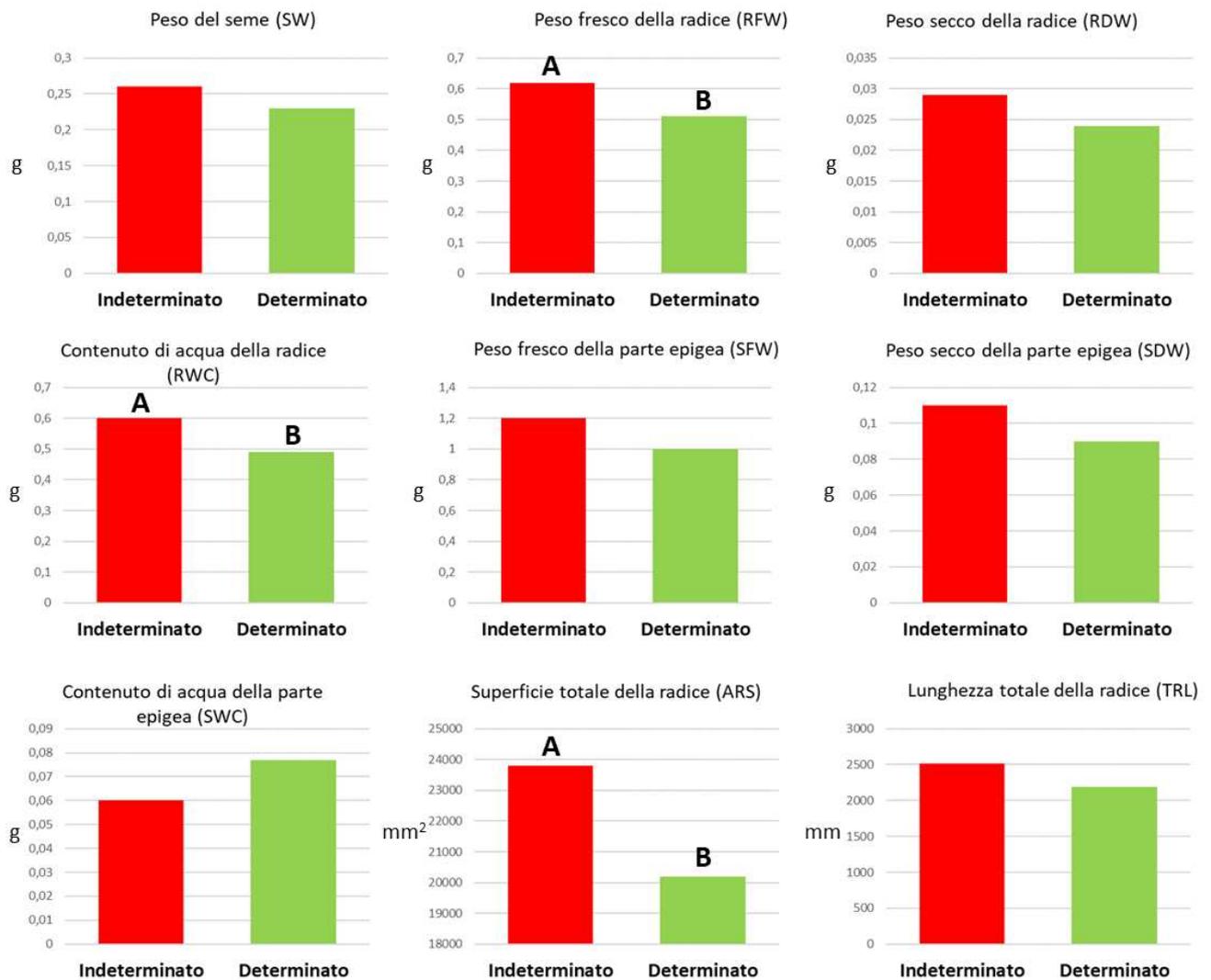
Considerando il confronto tra genotipi ad habitus di crescita determinato e indeterminato, solo per tre caratteri si sono ottenute differenze significative, ovvero i genotipi indeterminati risultano avere un peso fresco della radice, contenuto di acqua della radice e superficie totale della radice significativamente maggiori rispetto ai genotipi determinati (**Figura 3.11**).

Le varietà locali hanno mostrato valori significativamente superiori per quasi tutti i caratteri alle cultivar, ad eccezione della lunghezza della radice totale per la quale nessuna differenza significativa è stata evidenziata tra varietà locali e cultivar (**Figura 3.12**); i genotipi selvatici hanno presentato valori significativamente inferiori sia alle varietà locali che alle cultivar (**Figura 3.12**).

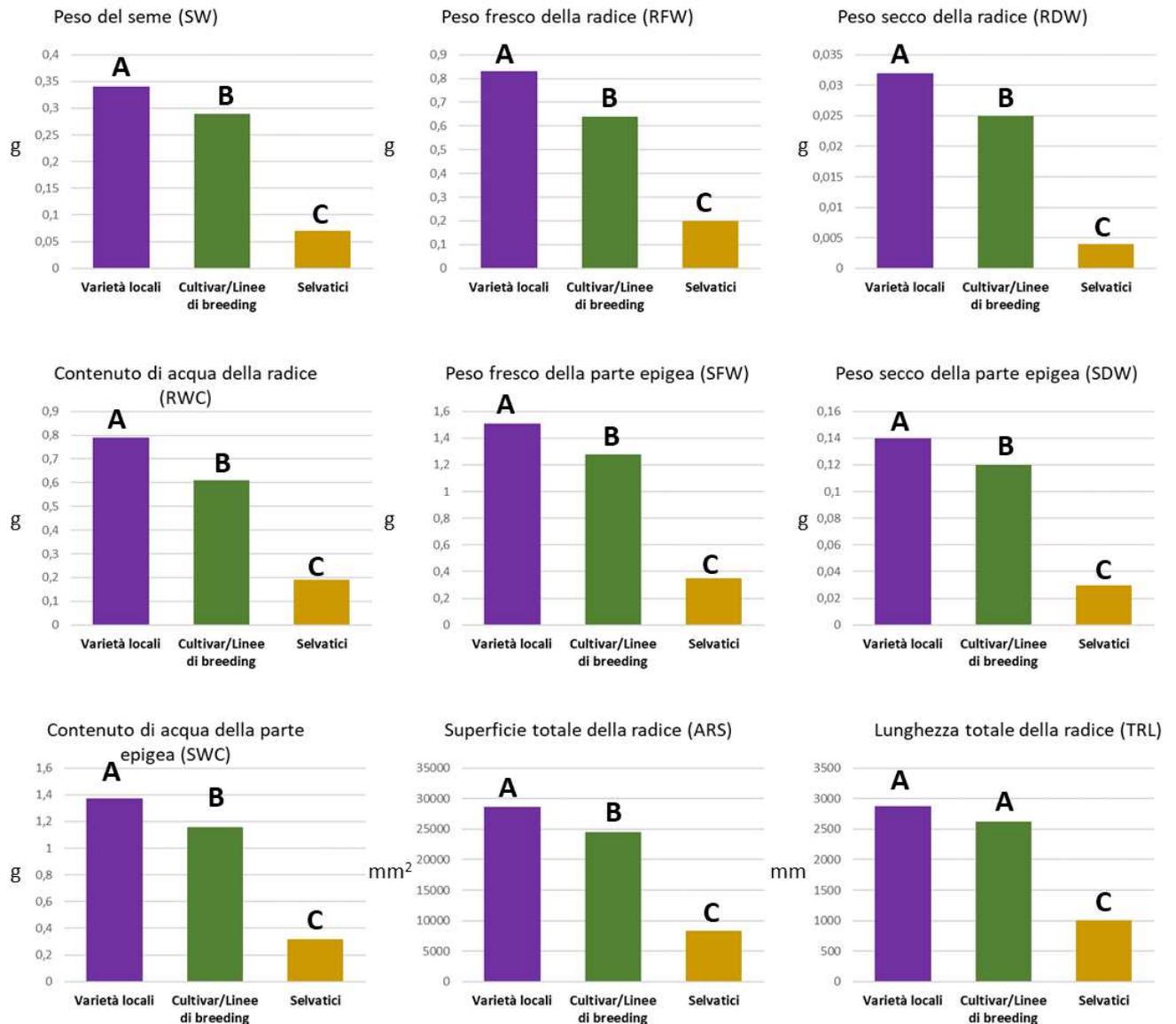
Per quanto riguarda il confronto tra varietà da seme e da fagiolino nessuna differenza significativa è stata osservata, ad eccezione del peso del seme, con le varietà da fagiolino caratterizzate da seme più piccolo rispetto alle varietà da seme (**Figura 3.13**).



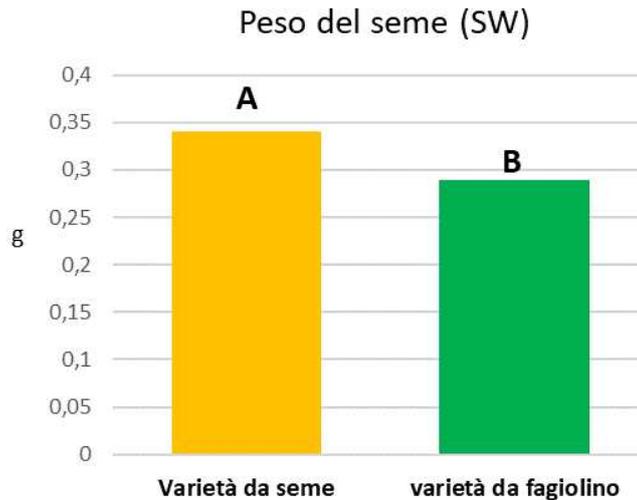
**Figura 3.10.** Confronto tra genotipi mesoamericani e andini per i caratteri considerati (ANOVA, Test di Tukey,  $P < 0,05$ ); ANOVA: SW,  $F=47,6$ ,  $P<0,0001$ ; RFW,  $F=17,2$ ,  $P<0,0001$ ; RDW,  $F=10,4$ ,  $P=0,0015$ ; RWC,  $F=17,15$ ,  $P<0,0001$ ; SFW,  $F=36,9$ ,  $P<0,0001$ ; SDW,  $F=42,3$ ,  $P<0,0001$ ; SWC,  $F=35,0$ ,  $P<0,0001$ ; ARS,  $F=5,65$ ,  $P<0,0184$ ; TRL,  $F=5,8$ ,  $P=0,0169$ ); lettere diverse indicano differenze significative, test di Tukey,  $P < 0,05$ .



**Figura 3.11.** Confronto tra genotipi ad habitus di crescita determinato ed indeterminato per i caratteri considerati (ANCOVA, test t di Student,  $P < 0,05$ ); ANCOVA: SW,  $F=10,5$ ,  $P<0,0001$ ; RFW,  $F=4,4$ ,  $P=0,014$ ; RDW,  $F=3,19$ ,  $P=0,044$ ; RWC,  $F=4,4$ ,  $P=0,014$ ; SFW,  $F=11,4$ ,  $P<0,0001$ ; SDW,  $F=10,2$ ,  $P<0,0001$ ; SWC,  $F=11,3$ ,  $P<0,0001$ ; ARS,  $F=2,2$ ,  $P=0,011$ ; TRL,  $F=1,8$ ,  $P=0,167$ ); lettere diverse indicano differenze significative, test t di Student,  $P < 0,05$ .



**Figura 3.12.** Confronto tra cultivar, varietà locali e genotipi selvatici per i caratteri considerati (ANCOVA, test di Tukey,  $P < 0,05$ ); ANCOVA: SW,  $F=61,6$ ,  $P<0,0001$ ; RFW,  $F=30,59$ ,  $P<0,0001$ ; RDW,  $F=38,16$ ,  $P<0,0001$ ; RWC,  $F=29,72$ ,  $P<0,0001$ ; SFW,  $F=44,6$ ,  $P<0,0001$ ; SDW,  $F=45,7$ ,  $P<0,0001$ ; SWC,  $F=42,5$ ,  $P<0,0001$ ; ARS,  $F=34,85$ ,  $P<0,0001$ ; TRL,  $F=25,65$ ,  $P<0,0001$ ); lettere diverse indicano differenze significative, test di Tukey,  $P < 0,05$ .



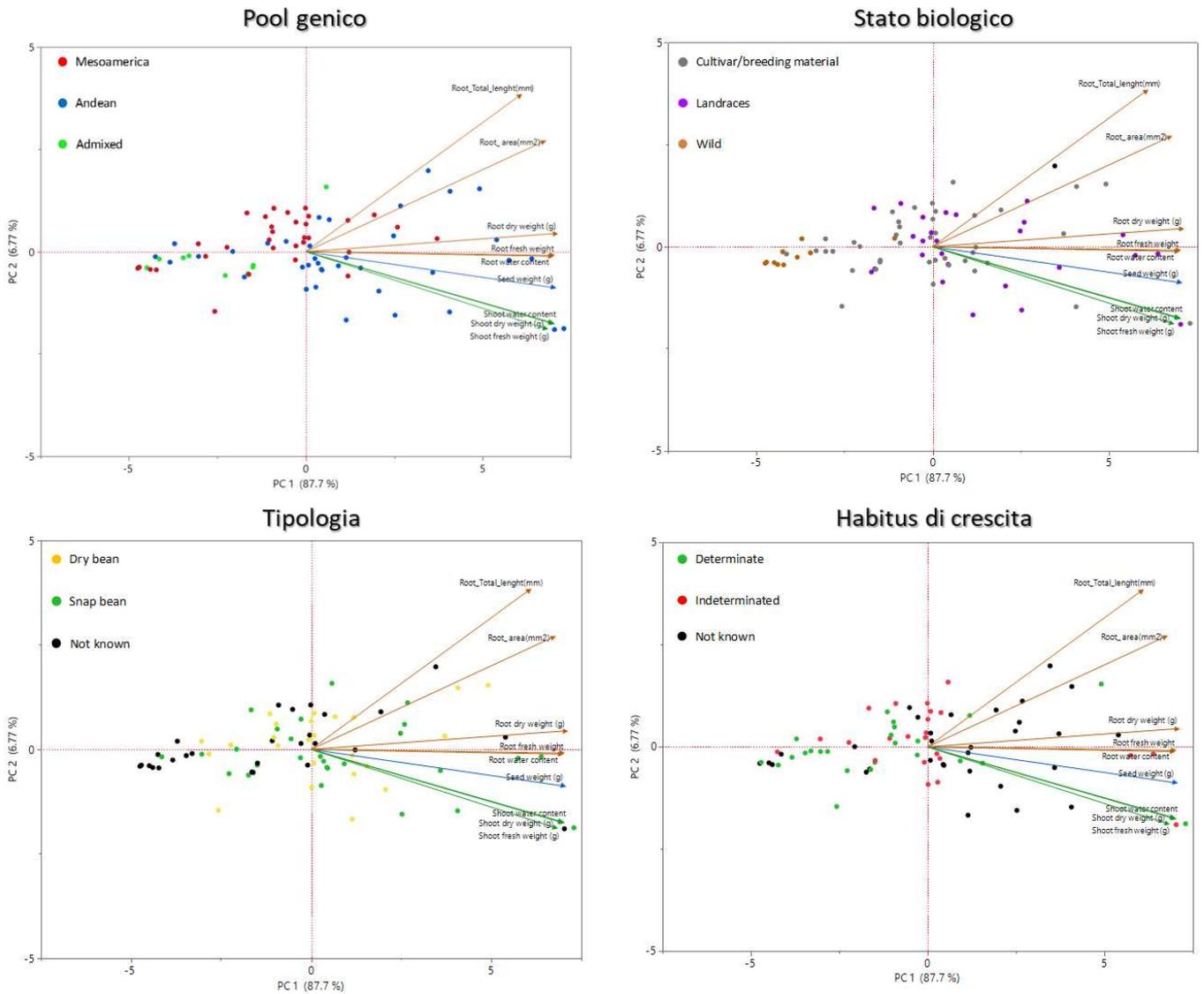
**Figura 3.13.** Confronto tra varietà da seme e da fagiolino per i caratteri considerati (ANCOVA, test t di Student,  $P < 0,05$ ); ANCOVA: SW,  $F=23,34$ ,  $P<0,0001$ ; lettere diverse indicano differenze significative, test t di Student,  $P < 0,05$ .

La Figura 3.14 mostra le relazioni tra i vari genotipi; i caratteri considerati risultano molto correlati ed essenzialmente tutti positivamente correlati con la prima componente principale che sostanzialmente differenzia genotipi con elevati valori per tutti i caratteri considerati da quelli con valori più bassi.

L'analisi cluster ha permesso di identificare gruppi di genotipi che presentano caratteristiche simile per i caratteri considerati (**Figura 3.15**). Quattro genotipi (HCC\_37, HCC\_47, HCC\_67 e HCC\_70) mostrano i valori maggiori per i vari caratteri legati alla radice e per dimensione del seme. Tutti questi genotipi sono varietà locali appartenenti al pool genico andino. Il genotipo HCC\_37 originario del Cile e ha habitus indeterminato. Il genotipo HCC\_47 è una varietà locale rumena caratterizzata da habitus di crescita determinato e compatto. Habitus determinato e compatto è anche caratteristica del genotipo HCC\_67, originario dalla Turchia che è anche una varietà da fagiolino. Infine, il genotipo HCC\_70 è una varietà locale da fagiolino spagnola che presenta habitus indeterminato ed è rampicante.

In **Figura 3.15** è possibile individuare un gruppo di linee caratterizzato da valori bassi per tutti i tratti considerati, che racchiude principalmente genotipi selvatici di entrambi i pool genici principali.

La correlazione tra i vari caratteri ha mostrato come essi siano fortemente correlati tra loro positivamente (**Figura 3.16**) come già evidente osservando il Loading Plot della PCA (**Figura 3.14**).



**Figura 3.14.** PCA condotta utilizzando tutti i caratteri considerati con genotipi evidenziati in colori diversi a seconda del pool genico, dello stato biologico, della tipologia di mercato e dell'habitus di crescita.

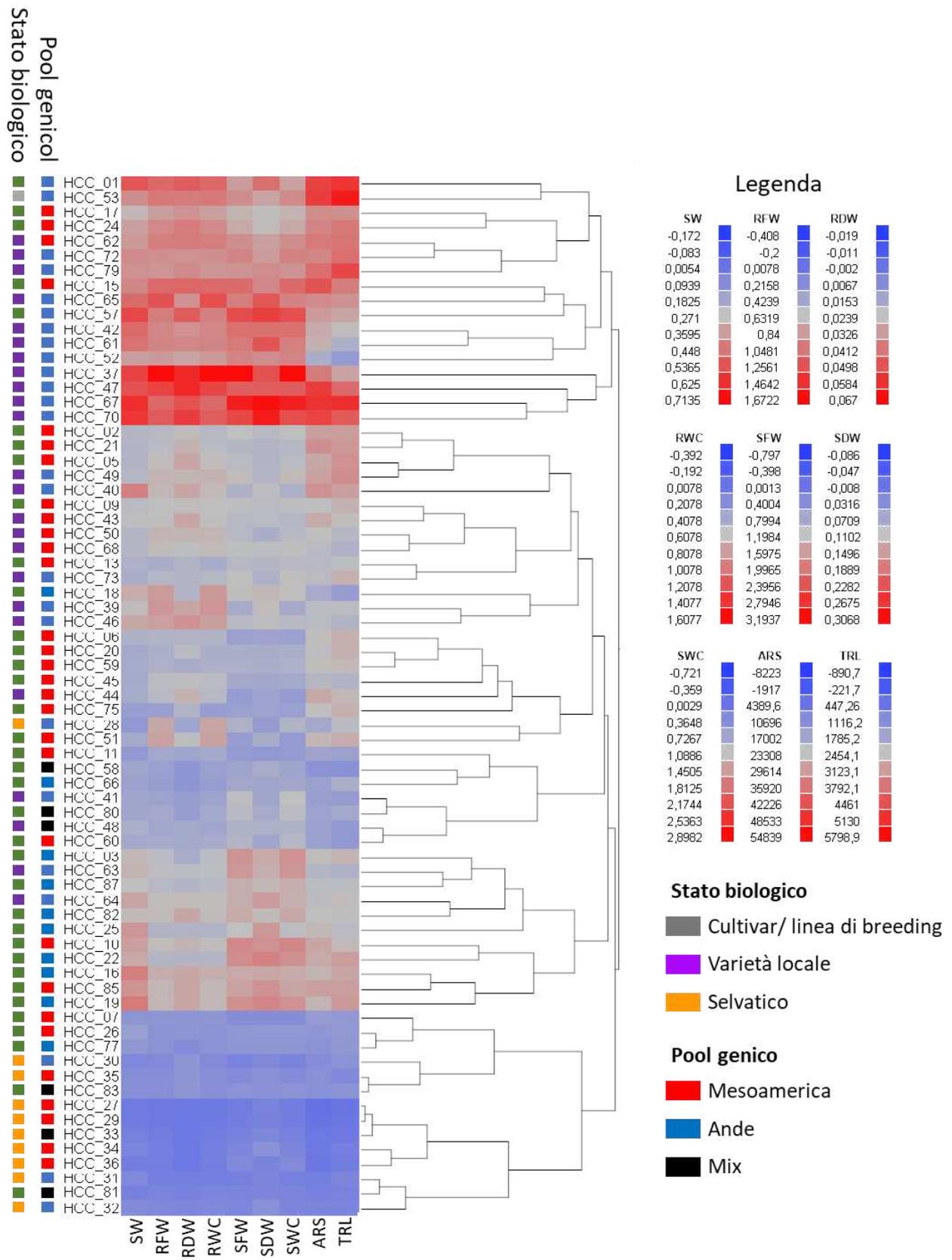
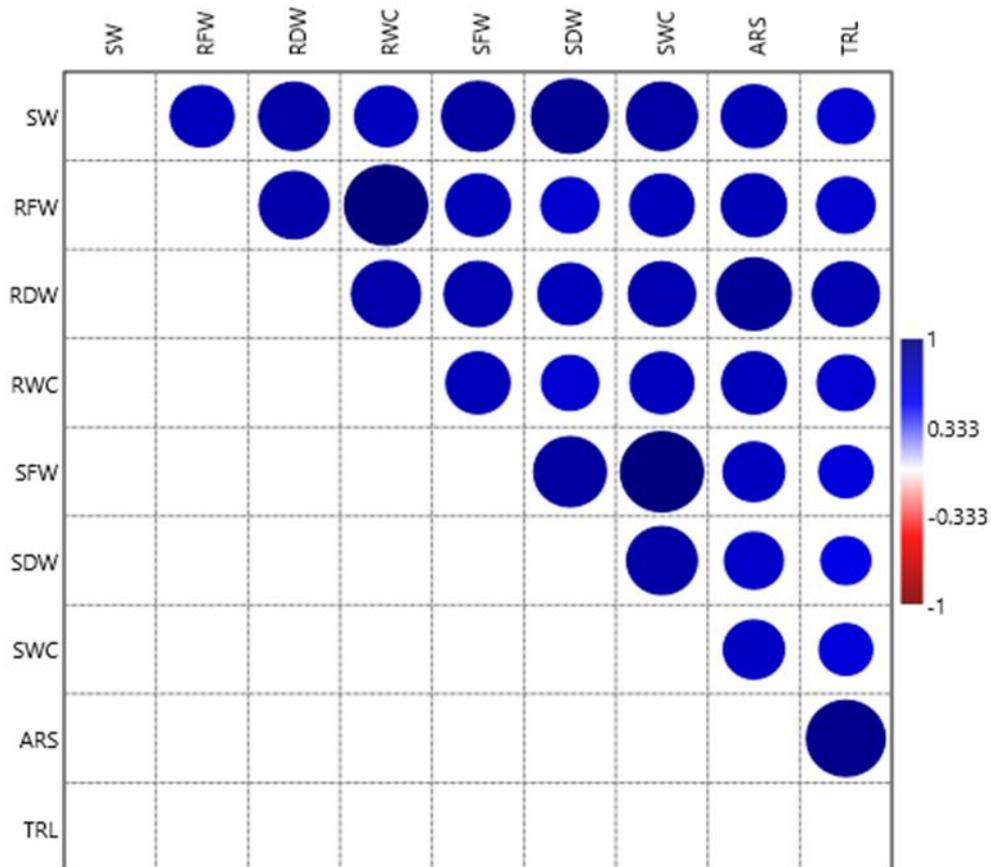


Figura 3.15. Analisi cluster.



**Figura 3.16.** Correlazione tra i caratteri considerati; r, coefficiente di Pearson indicato dalla legenda, blu correlazione positiva; rosso, correlazione negativa. La presenza di un cerchio indica una correlazione significativa e la dimensione riflette la probabilità, che è minore con dimensioni del cerchio più grandi.

## 4. DISCUSSIONE

In passato, i programmi di miglioramento genetico delle piante erano limitati alla caratterizzazione della parte aerea delle piante, per cui i caratteri sono facilmente rilevabili e quantificabili. Questo perché, nonostante i tratti che caratterizzano l'apparato radicale (architettura, anatomia e fisiologia) siano determinanti chiave delle prestazioni delle varietà coltivate, il fatto che le radici si sviluppino nel terreno ne ha impedito lo studio. Le radici svolgono funzioni essenziali, tra cui l'assorbimento di acqua e sostanze nutritive per la crescita delle piante, l'ancoraggio delle piante nel suolo, la conservazione dei nutrienti e l'interazione con gli organismi patogeni e benefici nella rizosfera. Le radici esprimono un'elevata plasticità e un adattamento continuo che consente loro di sfruttare le limitate risorse del suolo. La dinamica dello sviluppo del sistema radicale è controllata dall'ambiente esterno (umidità del suolo, temperatura, nutrienti e pH) e dai meccanismi interni e di conseguenza varia tra le specie e tra individui della stessa specie. I caratteri della radice in quanto tali sono tratti quantitativi controllati da loci dei tratti quantitativi. Una maggiore conoscenza circa il controllo genetico dello sviluppo della radice e della sua fisiologia risulta fondamentale per i programmi di miglioramento genetico volti allo sviluppo di nuove varietà resilienti agli stress abiotici e adattate ad un'agricoltura sostenibile (Lobet e Drave 2013).

La fenotipizzazione della radice è fondamentale per l'identificazione di tratti radicali benefici per le colture, per la loro incorporazione in nuove cultivar mediante miglioramento genetico (Gregory et al. 2009, Kuijken et al. 2015).

Nonostante l'importanza delle radici, la ricerca incentrata sullo sviluppo radicale è limitata dalla difficile accessibilità alle radici che crescono nel suolo. Recentemente, nuove tecniche e approcci sono stati sviluppati per la fenotipizzazione delle radici; tuttavia, la fenotipizzazione della radice è ancora impegnativa ed è necessario aumentare la velocità e la precisione dell'analisi dell'architettura radicale per la sperimentazione su larga scala e per lo screening di grandi popolazioni genetiche (Fiorani e Schurr 2013). Tecniche tradizionali per la caratterizzazione dell'apparato radicale in campo come, ad esempio, il carotaggio del suolo (Wasson et al. 2014), o shovelomics (Trachsel et al. 2011), ovvero lo scavo delle corone delle radici, seguito da lavaggio delle radici e quantificazione dei tratti della radice, sono laboriosi e richiedono tempo e la maggior parte di loro sono a bassa velocità, quindi, inadatti per lo studio di grandi popolazioni genetiche. Negli ultimi anni, soluzioni di automazione, imaging e software hanno aumentato drasticamente le possibilità di non invasività delle misurazioni dei tratti radicali e dei fenotipi caratterizzati in modalità high-throughput (Fiorani e Schurr 2013).

Il primo risultato del lavoro di tesi è stata la messa a punto del sistema *GrowScreenPage* (Gioia et al. 2016) per il fagiolo comune (*P. vulgaris*). Questo sistema permette la caratterizzazione dell'architettura delle radici di ampie collezioni (numero sufficiente di individui per effettuare analisi quali Genome Wide Association e Linkage Mapping) a costi contenuti. Inoltre, l'implementazione di sistemi di analisi di immagini permette l'acquisizione dei dati in maniera automatizzata e rapida. Il protocollo descritto in Gioia et al. (2016) è stato testato in esperimenti pilota e piccole modifiche sono state effettuate per ottimizzare il tutto per la specie in oggetto. Inoltre, cruciale è stato ed è tuttora l'apporto del gruppo di ricerca del Prof. Adriano Mancini, Dipartimento di Ingegneria informatica dell'Università Politecnica delle Marche, che ha messo e sta mettendo a punto le pipelines per l'analisi delle immagini specificatamente per fagiolo. Infatti, è stata riscontrata la difficoltà di utilizzo dei software Open Source per tali analisi, in quanto si sono dimostrati non efficienti nell'analizzare in modo adeguato le immagini dell'apparato radicale.

Il lavoro di messa a punto delle pipelines per l'analisi di immagini è ancora in corso e ulteriori caratteri fondamentali per lo studio della radice saranno a breve disponibili come, ad esempio, la lunghezza della radice primaria, il numero di radici basale, l'angolo delle radici basali ecc... (vedi la sezione Materiali e Metodi). Tali pipelines verranno rese disponibili una volta pubblicati i risultati.

Il sistema messo a punto rappresenta un'efficace strategia per la caratterizzazione di panels di associazione e/ o popolazioni segreganti per studi di associazione volti all'identificazione del controllo genetico della variazione fenotipica dell'apparato radicale.

Il secondo importante risultato del presente lavoro di tesi è stata la caratterizzazione di parametri importanti della radice della collezione HCC, sviluppata nell'ambito del progetto BRESOV, che è rappresentativa della variabilità genetica del germoplasma di *P. vulgaris*. Tale caratterizzazione ha permesso di mettere in evidenza differenze significative tra genotipi e tra gruppi evolutivi. In particolare, come atteso anche relativamente ai dati che sono presenti in letteratura, tutti i caratteri considerati (**RFW**, **RDW**, **RWC**, **SFW**, **SDW**, **SWC**, **ARS** e **TRL**) sono significativamente correlati al peso del seme (**SW**) e tra loro. Ovviamente, occorre tener presente che i caratteri considerati sono tutti relativi alle dimensioni dell'intero apparato radicale e che altri caratteri, come il numero di radici basali, o gli angoli delle radici ecc... potrebbero non essere correlati con i caratteri rilevati nella tesi e tra loro. In più, l'esperimento è stato condotto in una singola condizione ambientale senza apporto di nutrienti e questo potrebbe aver dato vantaggio ai genotipi con seme più grande che hanno all'interno una maggiore quantità di risorse nutritive.

La caratterizzazione effettuata ha messo in evidenza come la storia evolutiva della specie ha fortemente influenzato non solo la parte aerea della pianta ma anche l'apparato radicale. Per tutti i caratteri presi in esame, i genotipi del pool genico andino hanno presentato valori significativamente maggiori rispetto ai genotipi andini. Inoltre, differenze significative si sono evidenziate tra genotipi selvatici, varietà locali e cultivars, gruppi che rappresentano anch'essi tappe fondamentali dell'evoluzione quali domesticazione prima e miglioramento genetico moderno poi. In particolare, i genotipi selvatici hanno presentato valori

significativamente più bassi per tutti i caratteri considerati, seguiti dalle cultivars e dalle varietà locali (unica eccezione il carattere lunghezza totale della radice per cui non è stata identificata una differenza significativa tra cultivars e varietà locali). Quindi, i dati suggeriscono che la domesticazione abbia avuto un effetto nell'aumentare le dimensioni dell'apparato radicale, mentre con il successivo miglioramento genetico si è assistito ad una riduzione. Una possibile spiegazione potrebbe essere legata al fatto che uno dei target della selezione per lo sviluppo delle varietà moderne è stato l'habitus di tipo determinato e come si vede dai nostri dati i tipi determinati presentano valori minori rispetto ai tipi indeterminati; tale differenza è significativa per tre caratteri (RFW, RWC e ARS), anche se la tendenza è la stessa per tutti gli altri caratteri con l'unica eccezione per il contenuto di acqua nella parte epigea che è maggiore nei tipi determinati rispetto agli indeterminati.

Tale caratterizzazione ci ha permesso di individuare genotipi che potrebbero essere interessanti per il miglioramento genetico che presentano i valori più elevati per tutti o quasi tutti i caratteri, ovvero HCC\_37, HCC\_47, HCC\_67 e HCC\_70. Questi genotipi sono varietà locali appartenenti al pool genico andino. Uno è di origine americana (Cile), gli altri sono di Europei. Tra i genotipi selvatici, l'HCC\_28 è risultato avere valori dei caratteri considerati maggiori rispetto agli altri individui selvatici.

## 5. CONCLUSIONI

Nel presente lavoro di tesi è stato messo a punto un sistema high-throughput per la caratterizzazione dell'architettura delle radici per fagiolo comune. Tale sistema è non invasivo, a basso costo e rapido in quanto basato su analisi di immagini. Tale sistema può essere utilizzato per la fenotipizzazione di ampie collezioni e popolazioni segreganti per l'analisi di associazione marcatore-carattere. Il sistema può anche essere utilizzato testando diverse condizioni/trattamenti, come ad esempio diverse soluzioni nutritive. Le pipelines per le analisi di immagini si stanno mettendo a punto per numerosi caratteri e saranno disponibili Open Source.

È stata, inoltre, caratterizzata un'ampia collezione di genotipi rappresentativi della diversità genetica della specie, includendo materiali selvatici, varietà locali e cultivars. Un chiaro effetto dei processi evolutivi è stato evidenziato con differenze significative tra genotipi andini e mesoamericani e tra selvatici, varietà locali e cultivars.

## ELENCO DELLE TABELLE

<b>Tabella 2.1</b>	Lista dei genotipi utilizzati nel presente studio.	18
<b>Tabella 3.1</b>	Numero di repliche, media e deviazione standard per ciascuna linea.	26
<b>Tabella 3.2</b>	Range di variabilità ed ereditabilità per ciascuna linea.	28
<b>Tabella 3.3</b>	Risultati del Test di Tukey ( $P < 0,05$ ) per il peso del seme, e il peso fresco e secco delle radici; lettere diverse indicano differenze significative tra i genotipi per il carattere specifico.	29
<b>Tabella 3.4</b>	Risultati del Test di Tukey ( $P < 0,05$ ) per il contenuto di acqua nelle radici e il peso fresco e secco della parte epigea; lettere diverse indicano differenze significative tra i genotipi per il carattere specifico.	30
<b>Tabella 3.5</b>	Risultati del Test di Tukey ( $P < 0,05$ ) per il contenuto di acqua della parte epigea, la superficie totale e la lunghezza totale della radice; lettere diverse indicano differenze significative tra i genotipi per il carattere specifico.	31

## ELENCO DELLE FIGURE

<b>Figura 1.1</b>	Distribuzione geografica dei principali pool genici delle forme selvatiche di fagiolo comune (blu, Mesoamerica; rosso, Ande; giallo, nord Perù ed Ecuador).	3
<b>Figura 1.2</b>	Diversi habitus di crescita in <i>P. vulgaris</i> (cespuglioso a sinistra e rampicante a destra).	11
<b>Figura 1.3</b>	Germinazione di tipo epigeo.	11
<b>Figura 1.4</b>	Diverso colore dei fiori di <i>Phaseolus vulgaris</i> .	12
<b>Figura 1.5</b>	Semi e baccelli di <i>P. vulgaris</i> .	12
<b>Figura 1.6</b>	Radici primaria (tap-root), basali (basal roots) e laterali (lateral roots)	14
<b>Figura 2.1</b>	GrowScreen-PaGe, un sistema di fenotipizzazione non invasivo e ad alto rendimento basato su carta di germinazione per quantificare la diversità fenotipica delle colture e la plasticità dei tratti delle radici in condizioni di apporto di nutrienti variabile.	22
<b>Foto 2.2</b>	pregerminazione e foto pianta disposta su lastra e foglio assorbente blu.	22
<b>Foto 2.3</b>	esperimento in corso con box sotto le luci accese (foto del 07/03/2022)	23
<b>Figura 3.1</b>	Distribuzione del peso del seme nella collezione HCC.	33
<b>Figura 3.2</b>	Distribuzione del peso fresco della radice nella collezione HCC.	33
<b>Figura 3.3</b>	Distribuzione del peso secco della radice nella collezione HCC.	34
<b>Figura 3.4</b>	Distribuzione del contenuto di acqua della radice nella collezione HCC	34
<b>Figura 3.5</b>	Distribuzione del peso fresco della parte epigea nella collezione HCC.	35
<b>Figura 3.6</b>	Distribuzione del peso secco della parte epigea nella collezione HCC.	35
<b>Figura 3.7</b>	Distribuzione del contenuto di acqua della parte epigea nella collezione HCC.	36
<b>Figura 3.8</b>	Distribuzione della superficie totale della radice nella collezione HCC.	36
<b>Figura 3.9</b>	Distribuzione della lunghezza totale della radice nella collezione HCC.	37
<b>Figura 3.10</b>	Confronto tra genotipi mesoamericani e andini per i caratteri considerati (ANOVA, Test di Tukey, $P < 0,05$ ); ANOVA: SW, $F=47,6$ , $P<0,0001$ ; RFW, $F=17,2$ , $P<0,0001$ ; RDW, $F=10,4$ , $P=0,0015$ ; RWC, $F=17,15$ , $P<0,0001$ ; SFW, $F=36,9$ , $P<0,0001$ ; SDW, $F=42,3$ , $P<0,0001$ ; SWC, $F=35,0$ , $P<0,0001$ ; ARS, $F=5,65$ , $P<0,0184$ ; TRL, $F=5,8$ , $P=0,0169$ ); lettere diverse indicano differenze significative, test di Tukey, $P < 0,05$ .	38
<b>Figura 3.11</b>	Confronto tra genotipi ad habitus di crescita determinato ed indeterminato per i caratteri considerati (ANCOVA, test t di Student, $P < 0,05$ ); ANCOVA: SW, $F=10,5$ , $P<0,0001$ ; RFW, $F=4,4$ , $P=0,014$ ; RDW, $F=3,19$ , $P=0,044$ ; RWC, $F=4,4$ , $P=0,014$ ; SFW, $F=11,4$ , $P<0,0001$ ; SDW, $F=10,2$ , $P<0,0001$ ; SWC, $F=11,3$ , $P<0,0001$ ; ARS, $F=2,2$ , $P=0,011$ ; TRL, $F=1,8$ , $P=0,167$ ); lettere diverse indicano differenze significative, test t di Student, $P < 0,05$ .	39
<b>Figura 3.12</b>	Confronto tra cultivar, varietà locali e genotipi selvatici per i caratteri considerati (ANCOVA, test di Tukey, $P < 0,05$ ); ANCOVA: SW, $F=61,6$ , $P<0,0001$ ; RFW, $F=30,59$ , $P<0,0001$ ; RDW, $F=38,16$ , $P<0,0001$ ; RWC, $F=29,72$ , $P<0,0001$ ; SFW, $F=44,6$ , $P<0,0001$ ; SDW, $F=45,7$ , $P<0,0001$ ; SWC, $F=42,5$ , $P<0,0001$ ; ARS, $F=34,85$ , $P<0,0001$ ; TRL,	40

F=25,65, P<0,0001); lettere diverse indicano differenze significative, test di Tukey, P < 420,05.

- Figura 3.13** Confronto tra varietà da seme e da fagiolino per i caratteri considerati (ANCOVA, test t di Student, P < 0,05); ANCOVA: SW, F=23,34, P<0,0001; lettere diverse indicano differenze significative, test t di Student, P < 0,05. 41
- Figura 3.14** PCA condotta utilizzando tutti i caratteri considerati con genotipi evidenziati in colori diversi a seconda del pool genico, dello stato biologico, della tipologia di mercato e dell'habitus di crescita. 42
- Figura 3.15** Analisi cluster. 43
- Figura 3.16** Correlazione tra i caratteri considerati; r, coefficiente di Pearson indicato dalla legenda, blu correlazione positiva; rosso, correlazione negativa. La presenza di un cerchio indica una correlazione significativa e la dimensione riflette la probabilità, che è minore con dimensioni del cerchio più grandi. 44

## ACRONIMI E ABBREVIAZIONI

<b>Mbp</b>	Mega paia di basi
<b>DNA</b>	Acido desossiribonucleico
<b>AFLP</b>	Amplified Fragment Length Polymorphism
<b>SNP</b>	Single Nucleotide Polymorphism
<b>cpSSR</b>	Chloroplast simple sequence repeats
<b>SSR</b>	Simple sequence repeats
<b>AP</b>	Arbitrary primed
<b>SCAR</b>	Sequence Characterized Amplified Region
<b>m</b>	Metri
<b>mm</b>	Millimetri
<b>cm</b>	Centimetri
<b>C</b>	Centigradi
<b>RSA</b>	Root system architecture
<b>RIL</b>	Recombinant imbreed lines
<b>QTL</b>	Quantitative trait loci
<b>MAS</b>	Marked assisted selection
<b>h</b>	Ore
<b>PMMA</b>	Polimetil metacrilato
<b>l</b>	Litri
<b>UNIVPM</b>	Università politecnica delle marche
<b>PRL</b>	Primary root length
<b>BRL</b>	Total length of basal root
<b>LRL</b>	Total length of lateral root
<b>RLD</b>	Root length density
<b>GRP</b>	Relative growth rate of primary root
<b>GRB</b>	Relative growth rate of basal root
<b>BRN</b>	Total number of basal root
<b>ALB</b>	Average length of basal roots
<b>RSD</b>	Root system depth
<b>RSW</b>	Root system width
<b>CHA</b>	Convex hull area
<b>ARS</b>	Total area of root system
<b>RFW</b>	Roots fresh weight
<b>RDW</b>	Roots dry weight
<b>LFW</b>	Leaf fresh weight
<b>LDW</b>	Leaf dry weight
<b>BRA</b>	Basal root angle
<b>PRA</b>	Primary root angle
<b>PRD</b>	Primary root diameter
<b>BRD</b>	Basal root diameter
<b>RWC</b>	Root water content

<b>SWC</b>	Shoot water content
<b>SW</b>	Seed weight
<b>RTL</b>	Root total length
<b>ANOVA</b>	Analysis of variance
<b>PCA</b>	Principal component analysis
<b>GWAS</b>	Genome-wide association analysis

## BIBLIOGRAFIA

1. Alexander, D. H., Novembre, J., & Lange, K. (2009). Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome research*, *19*(9), 1655-1664.
2. Angioi, S. A., Desiderio, F., Rau, D., Bitocchi, E., Attene, G., & Papa, R. (2009). Development and use of chloroplast microsatellites in *Phaseolus* spp. and other legumes. *Plant Biology*, *11*(4), 598-612.
3. Angioi, S. A., Rau, D., Attene, G., Nanni, L., Bellucci, E., Logozzo, G., ... & Papa, R. (2010). Beans in Europe: origin and structure of the European landraces of *Phaseolus vulgaris* L. *Theoretical and Applied Genetics*, *121*(5), 829-843.
4. Angioi, S. A., Rau, D., Nanni, L., Bellucci, E., Papa, R., & Attene, G. (2011). The genetic make-up of the European landraces of the common bean. *Plant Genetic Resources*, *9*(2), 197-201.
5. Ariani, A., Berny Mier y Teran, J. C., Gepts, P. (2018). Spatial and temporal scales of range expansion in wild *Phaseolus vulgaris*. *Molecular biology and evolution*, *35*(1), 119-131.
6. Asfaw, A., Blair, M. W., & Almekinders, C. (2009). Genetic diversity and population structure of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces from the East African highlands. *Theoretical and Applied Genetics*, *120*(1), 1-12.
7. Baroni, E., & Zanetti, S. B. (1955). Guida botanica d'Italia.
8. Beebe, S. E., Rao, I. M., Blair, M. W., & Acosta-Gallegos, J. A. (2013). Phenotyping common beans for adaptation to drought. *Frontiers in physiology*, *4*, 35.
9. Beebe, S., Rengifo, J., Gaitan, E., Duque, M. C., & Tohme, J. (2001). Diversity and origin of Andean landraces of common bean. *Crop science*, *41*(3), 854-862.
10. Bellucci, E., Bitocchi, E., Ferrarini, A., Benazzo, A., Biagetti, E., Klie, S., ... & Papa, R. (2014). Decreased nucleotide and expression diversity and modified co-expression patterns characterize domestication in the common bean. *The Plant Cell*, *26*(5), 1901-1912.
11. Bennett MD., Leitch I.J. (2010). Angiosperm DNA C-values database (release 7.0, Dec. 2010).
12. Bennett, M. D., & Leitch, I. J. (1995). Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Annals of botany*, *76*(2), 113-176.

13. Bitocchi, E., Bellucci, E., Giardini, A., Rau, D., Rodriguez, M., Biagetti, E., ... & Papa, R. (2013). Molecular analysis of the parallel domestication of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) in Mesoamerica and the Andes. *New Phytologist*, *197*(1), 300-313.
14. Bitocchi, E., Nanni, L., Bellucci, E., Rossi, M., Giardini, A., Zeuli, P. S., ... & Papa, R. (2012). Mesoamerican origin of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is revealed by sequence data. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *109*(14), E788-E796.
15. Bitocchi, E., Rau, D., Bellucci, E., Rodriguez, M., Murgia, M. L., Gioia, T., ... & Papa, R. (2017). Beans (*Phaseolus* spp.) as a model for understanding crop evolution. *Frontiers in plant science*, *722*.
16. Bitocchi, E., Rau, D., Rodriguez, M., & Murgia, M. (2016). Crop improvement of *Phaseolus* spp. through interspecific and intraspecific hybridization. *Polyploidy and hybridization for crop improvement*, 218-280.
17. Blair, M. W., González, L. F., Kimani, P. M., & Butare, L. (2010). Genetic diversity, inter-gene pool introgression and nutritional quality of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) from Central Africa. *Theoretical and Applied Genetics*, *121*(2), 237-248.
18. Bray, R. H. (1954). A nutrient mobility concept of soil-plant relationships. *Soil Science*, *78*(1), 9-22.
19. Broughton, W. J., Hernandez, G., Blair, M., Beebe, S., Gepts, P., & Vanderleyden, J. (2003). Beans (*Phaseolus* spp.)—model food legumes. *Plant and soil*, *252*(1), 55-128.
20. Burle, M. L., Fonseca, J. R., Kami, J. A., & Gepts, P. (2010). Microsatellite diversity and genetic structure among common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces in Brazil, a secondary center of diversity. *Theoretical and Applied Genetics*, *121*(5), 801-813.
21. Caporusso C.A., Progettazione e Sviluppo di un algoritmo per la stima della crescita dell'apparato radicale mediante immagini RGB 2021
22. Chacón S, M. I., Pickersgill, B., & Debouck, D. G. (2005). Domestication patterns in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and the origin of the Mesoamerican and Andean cultivated races. *Theoretical and Applied Genetics*, *110*(3), 432-444.
23. Creech, J. L., & Reitz, L. P. (1971). Plant germ plasm now and for tomorrow. *Advances in Agronomy*, *23*, 1-49.
24. Creelman, R. A., Mason, H. S., Bensen, R. J., Boyer, J. S., & Mullet, J. E. (1990). Water deficit and abscisic acid cause differential inhibition of shoot versus root growth in soybean seedlings: analysis of growth, sugar accumulation, and gene expression. *Plant Physiology*, *92*(1), 205-214.
25. de Dorlodot, S., Forster, B., Pagès, L., Price, A., Tuberosa, R., & Draye, X. (2007). Root system architecture: opportunities and constraints for genetic improvement of crops. *Trends in plant science*, *12*(10), 474-481.

26. Debouck, D. G., Toro, O., Paredes, O. M., Johnson, W. C., & Gepts, P. (1993). Genetic diversity and ecological distribution of *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) in north-western South America. *Economic Botany*, 47(4), 408-423.
27. Den Herder, G., Van Isterdael, G., Beeckman, T., & De Smet, I. (2010). The roots of a new green revolution. *Trends in plant science*, 15(11), 600-607.
28. Ebert, D., & Peakall, R. O. D. (2009). Chloroplast simple sequence repeats (cpSSRs): technical resources and recommendations for expanding cpSSR discovery and applications to a wide array of plant species. *Molecular Ecology Resources*, 9(3), 673-690.
29. Esuperanzi Progettazione e Sviluppo di un algoritmo per il riconoscimento dell'apparato radicale mediante immagini RGB 2021
30. FAOSTAT, 2020.
31. Farooq, M., Gogoi, N., Barthakur, S., Baroowa, B., Bharadwaj, N., Alghamdi, S. S., & Siddique, K. H. (2017). Drought stress in grain legumes during reproduction and grain filling. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 203(2), 81-102.
32. Fiorani, F., & Schurr, U. (2013). Future scenarios for plant phenotyping. *Annu. Rev. Plant Biol*, 64(1), 267-291.
33. Fitter, A. H. (1987). An architectural approach to the comparative ecology of plant root systems. *New phytologist*, 106, 61-77.
34. Frankel, O. H., Frankel, O., & Soulé, M. E. (1981). *Conservation and evolution*. CUP Archive.
35. Free, J. B. (1966). The pollination of the beans *Phaseolus multiflorus* and *Phaseolus vulgaris* by honeybees. *Journal of Apicultural Research*, 5(2), 87-91.
36. Frey, K. J., & Hammond, E. G. (1975). Genetics, characteristics, and utilization of oil in caryopses of oat species. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 52(9), 358-362.
37. Gentry, H. S. (1969). Origin of the common bean, *Phaseolus vulgaris*. *Economic Botany*, 23(1), 55-69.
38. Gepts, P. (1999a). Development of an integrated linkage map. In *Common bean improvement in the twenty-first century* (pp. 53-91). Springer, Dordrecht.
39. Gepts, P. (2001). *Phaseolus vulgaris* (beans). *Encyclopedia of genetics*, 1444, 1445.
40. Gepts, P., & Bliss, F. A. (1985). F1 hybrid weakness in the common bean: Differential geographic origin suggests two gene pools in cultivated bean germplasm. *Journal of Heredity*, 76(6), 447-450.
41. Gepts, P., & Bliss, F. A. (1988). Dissemination pathways of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae) deduced from phaseolin electrophoretic variability. II. Europe and Africa. *Economic Botany*, 42(1), 86-104.
42. Gepts, P., & Papa, R. (2001). Evolution during domestication. *e LS*.

43. Gepts, P., Papa, R., González, A., Acosta, J., & Delgado-Salinas, A. (1999b). Human effects on *Phaseolus vulgaris* adaptation during and after domestication. *Plant evolution in man-made habitats*, 161-181.
44. Gioia, T., Logozzo, G., Attene, G., Bellucci, E., Benedettelli, S., Negri, V., ... & Spagnoletti Zeuli, P. (2013). Evidence for introduction bottleneck and extensive inter-gene pool (Mesoamerica x Andes) hybridization in the European common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm. *PLoS One*, 8(10), e75974.
45. Gregory, P. J., Bengough, A. G., Grinev, D., Schmidt, S., Thomas, W. B. T., Wojciechowski, T., & Young, I. M. (2009). Root phenomics of crops: opportunities and challenges. *Functional Plant Biology*, 36(11), 922-929.
46. Harlan, J. R. (1975). Our Vanishing Genetic Resources: Modern varieties replace ancient populations that have provided genetic variability for plant breeding programs. *Science*, 188(4188), 618-621.
47. Harlan, J. R. (1976). Genetic resources in wild relatives of crops. *Crop science*, 16(3), 329-333.
48. Hetrick, B. A. D. (1991). Mycorrhizas and root architecture. *Experientia*, 47(4), 355-362.
49. Hoogenboom, G., Peterson, C. M., & Huck, M. G. (1987). Shoot growth rate of soybean as affected by drought stress 1. *Agronomy Journal*, 79(4), 598-607.
50. Jin, J., Tang, C., Armstrong, R., & Sale, P. (2012). Phosphorus supply enhances the response of legumes to elevated CO<sub>2</sub> (FACE) in a phosphorus-deficient vertisol. *Plant and Soil*, 358(1), 91-104.
51. Johnson, W. C., & Gepts, P. (1999). Segregation for performance in recombinant inbred populations resulting from inter-gene pool crosses of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Euphytica*, 106(1), 45-56.
52. Johnson, W. C., & Gepts, P. (2002). The role of epistasis in controlling seed yield and other agronomic traits in an Andean x Mesoamerican cross of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Euphytica*, 125(1), 69-79.
53. Kami, J., Velásquez, V. B., Debouck, D. G., & Gepts, P. (1995). Identification of presumed ancestral DNA sequences of phaseolin in *Phaseolus vulgaris*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(4), 1101-1104.
54. Kaplan, L. (1965). Archeology and domestication in American *Phaseolus* (beans). *Economic Botany*, 19(4), 358-368.
55. Koinange, E. M., Singh, S. P., & Gepts, P. (1996). Genetic control of the domestication syndrome in common bean. *Crop Science*, 36(4), 1037-1045.
56. Kuijken, R. C., van Eeuwijk, F. A., Marcelis, L. F., & Bouwmeester, H. J. (2015). Root phenotyping: from component trait in the lab to breeding. *Journal of Experimental Botany*, 66(18), 5389-5401.

57. Kumar, A., Bernier, J., Verulkar, S., Lafitte, H. R., & Atlin, G. N. (2008). Breeding for drought tolerance: direct selection for yield, response to selection and use of drought-tolerant donors in upland and lowland-adapted populations. *Field Crops Research*, 107(3), 221-231.
58. Kwak, M., & Gepts, P. (2009). Structure of genetic diversity in the two major gene pools of common bean (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae). *Theoretical and Applied Genetics*, 118(5), 979-992.
59. Kwak, M., Kami, J. A., & Gepts, P. (2009). The putative Mesoamerican domestication center of *Phaseolus vulgaris* is located in the Lerma–Santiago Basin of Mexico. *Crop Science*, 49(2), 554-563.
60. Liao, H., Yan, X., Rubio, G., Beebe, S. E., Blair, M. W., & Lynch, J. P. (2004). Genetic mapping of basal root gravitropism and phosphorus acquisition efficiency in common bean. *Functional Plant Biology*, 31(10), 959-970.
61. Lobet, G., & Draye, X. (2013). Novel scanning procedure enabling the vectorization of entire rhizotron-grown root systems. *Plant Methods*, 9(1), 1-11.
62. Lorenzetti, F., Albertini, E., Frusciante, L., Rosellini, D., Russi, L., Tuberosa, R., & Veronesi, F. (2018). Miglioramento genetico delle piante agrarie. *Milão: Edagricole*.
63. Lyford, W. H. (1975). Rhizography of non-woody roots of trees in the forest floor. In *Development and Function of Roots Cabot Symposium*.
64. Lynch, J. P., & Brown, K. M. (2001). Topsoil foraging—an architectural adaptation of plants to low phosphorus availability. *Plant and Soil*, 237(2), 225-237.
65. Mackie, W. W. (1943). ORIGIN, DISPERSAL, AND VARIABILITY OP THE LIMA BEAN, PHASEOLUS LUNATUS.
66. Mamidi, S., Rossi, M., Annam, D., Moghaddam, S., Lee, R., Papa, R., & McClean, P. (2011). Investigation of the domestication of common bean (*Phaseolus vulgaris*) using multilocus sequence data. *Functional Plant Biology*, 38(12), 953-967.
67. Martin, G. B., & Adams, M. W. (1987). Landraces of *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) in northern Malawi. II. Generation and maintenance of variability. *Economic Botany*, 41(2), 204-215.
68. Martin, G. B., & Adams, M. W. (1987a). Landraces of *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) in Northern Malawi. I. Regional variation. *Economic Botany*, 41(2), 190-203.
69. Martin, G. B., & Adams, M. W. (1987b). Landraces of *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) in northern Malawi. II. Generation and maintenance of variability. *Economic Botany*, 41(2), 204-215.
70. Matsuoka, Y., Vigouroux, Y., Goodman, M. M., Sanchez G, J., Buckler, E., & Doebley, J. (2002). A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(9), 6080-6084.
71. Messina, V. (2014). Nutritional and health benefits of dried beans. *The American journal of clinical nutrition*, 100(suppl\_1), 437S-442S.

72. Motta-Aldana, J. R., Serrano-Serrano, M. L., Hernández-Torres, J., Castillo-Villamizar, G., Debouck, D. G., & Chacóns, M. I. (2010). Multiple origins of lima bean landraces in the Americas: evidence from chloroplast and nuclear DNA polymorphisms. *Crop Science*, *50*(5), 1773-1787.
73. Nanni, L., Bitocchi, E., Bellucci, E., Rossi, M., Rau, D., Attene, G., ... & Papa, R. (2011). Nucleotide diversity of a genomic sequence similar to SHATTERPROOF (PvSHP1) in domesticated and wild common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, *123*(8), 1341-1357.
74. Nye, P. H. (1966). The effect of the nutrient intensity and buffering power of a soil, and the absorbing power, size and root hairs of a root, on nutrient absorption by diffusion. *Plant and Soil*, *25*(1), 81-105.
75. Ochoa, I. E., Blair, M. W., & Lynch, J. P. (2006). QTL analysis of adventitious root formation in common bean under contrasting phosphorus availability. *Crop Science*, *46*(4), 1609-1621.
76. Papa, R., Acosta, J., Delgado-Salinas, A., & Gepts, P. (2005). A genome-wide analysis of differentiation between wild and domesticated *Phaseolus vulgaris* from Mesoamerica. *Theoretical and Applied Genetics*, *111*(6), 1147-1158.
77. Pimentel, D. (1996). Green revolution agriculture and chemical hazards. *Science of the total environment*, *188*, S86-S98.
78. Pirozynski, K. A., & Malloch, D. W. (1975). The origin of land plants: a matter of mycotrophism. *Biosystems*, *6*(3), 153-164.
79. Plucknett, D. L., Smith, N. J. H., Williams, J. T., & Anishetty, N. M. (1983). Crop germplasm conservation and developing countries. *Science*, *220*(4593), 163-169.
80. Provan, J., Powell, W., & Hollingsworth, P. M. (2001). Chloroplast microsatellites: new tools for studies in plant ecology and evolution. *Trends in ecology & evolution*, *16*(3), 142-147.
81. Purushothaman, R., Zaman-Allah, M., Mallikarjuna, N., Pannirselvam, R., Krishnamurthy, L., & Gowda, C. L. L. (2013). Root anatomical traits and their possible contribution to drought tolerance in grain legumes. *Plant Production Science*, *16*(1), 1-8.
82. Rao, I., Beebe, S., Polania, J., Ricaurte, J., Cajiao, C., Garcia, R., & Rivera, M. (2013). Can tepary bean be a model for improvement of drought resistance in common bean?. *African Crop Science Journal*, *21*(4).
83. Raven, P. H., Evert, R. F., Eichhorn, S. E. (2002). *Biologia delle piante*. Zanichelli.
84. Reynolds, E. R. C. (1975). Tree rootlets and their distribution. In *Development and Function of Roots Cabot Symposium*.
85. Rick, C. M., & CM, R. (1982). Genetic relationships between self-incompatibility and floral traits in the tomato species.

86. Rodriguez, M., Rau, D., Bitocchi, E., Bellucci, E., Biagetti, E., Carboni, A., ... & Attene, G. (2016). Landscape genetics, adaptive diversity and population structure in *Phaseolus vulgaris*. *New Phytologist*, 209(4), 1781-1794.
87. Rossi, M., Bitocchi, E., Bellucci, E., Nanni, L., Rau, D., Attene, G., & Papa, R. (2009). Linkage disequilibrium and population structure in wild and domesticated populations of *Phaseolus vulgaris* L. *Evolutionary Applications*, 2(4), 504-522.
88. Rubio, G., & Lynch, J. P. (2007). Compensation among root classes in *Phaseolus vulgaris* L. *Plant and Soil*, 290(1), 307-321.
89. Santalla, M., Rodiño, A., & De Ron, A. (2002). Allozyme evidence supporting southwestern Europe as a secondary center of genetic diversity for the common bean. *Theoretical and applied genetics*, 104(6), 934-944.
90. Schmutz, J., McClean, P. E., Mamidi, S., Wu, G. A., Cannon, S. B., Grimwood, J., ... & Jackson, S. A. (2014). A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. *Nature genetics*, 46(7), 707-713.
91. Schoonhoven, A. V., & Voysest, O. (1991). Common beans: research for crop improvement.
92. Serrano-Serrano, M. L., Andueza-Noh, R. H., Martínez-Castillo, J., Debouck, D. G., & Chacón S, M. I. (2012). Evolution and domestication of lima bean in Mexico: Evidence from ribosomal DNA. *Crop Science*, 52(4), 1698-1712.
93. Sicard, D., Nanni, L., Porfiri, O., Bulfon, D., & Papa, R. (2005). Genetic diversity of *Phaseolus vulgaris* L. and *P. coccineus* L. landraces in central Italy. *Plant Breeding*, 124(5), 464-472.
94. Singh, S. P. (2001). Broadening the genetic base of common bean cultivars: a review. *Crop science*, 41(6), 1659-1675.
95. Smith, C. W. (1995). *Crop production: evolution, history, and technology*. John Wiley & Sons.
96. Sponchiado, B. N., White, J. W., Castillo, J. A., & Jones, P. G. (1989). Root growth of four common bean cultivars in relation to drought tolerance in environments with contrasting soil types. *Experimental Agriculture*, 25(2), 249-257.
97. Stalker, H. T. (1980). Utilization of wild species for crop improvement. *Advances in Agronomy*, 33, 111-147.
98. Tanksley, S. D., & McCouch, S. R. (1997). Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. *science*, 277(5329), 1063-1066.
99. Toro, O., Tohme, J., & Debouck, D. (1990). *Wild bean (Phaseolus vulgaris L.): description and distribution* (Vol. 181). CIAT.

100. Trachsel, S., Kaeppeler, S. M., Brown, K. M., & Lynch, J. P. (2011). Shovelomics: high throughput phenotyping of maize (*Zea mays* L.) root architecture in the field. *Plant and soil*, 341(1), 75-87.
101. Wasson, A. P., Richards, R. A., Chatrath, R., Misra, S. C., Prasad, S. S., Rebetzke, G. J., ... & Watt, M. (2012). Traits and selection strategies to improve root systems and water uptake in water-limited wheat crops. *Journal of Experimental Botany*, 63(9), 3485-3498.
102. Welch, R. M., House, W. A., Beebe, S., & Cheng, Z. H. I. Q. I. A. N. G. (2000). Genetic selection for enhanced bioavailable levels of iron in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3576-3580.
103. Westphal, E. (1974). *Pulses in Ethiopia, their taxonomy and agricultural significance*. Wageningen University and Research.
104. White, J. W. (1990). Studies at CIAT on mechanisms of drought tolerance of beans. *Research on drought tolerance in common bean*.
105. Wortmann, C. S. (1998). *Atlas of common bean (Phaseolus vulgaris L.) production in Africa* (No. 297). CIAT.
106. Wu, Y., Spollen, W. G., Sharp, R. E., Hetherington, P. R., & Fry, S. C. (1994). Root growth maintenance at low water potentials (increased activity of xyloglucan endotransglycosylase and its possible regulation by abscisic acid). *Plant Physiology*, 106(2), 607-615.
107. Ye, H., Roorkiwal, M., Valliyodan, B., Zhou, L., Chen, P., Varshney, R. K., & Nguyen, H. T. (2018). Genetic diversity of root system architecture in response to drought stress in grain legumes. *Journal of Experimental Botany*, 69(13), 3267-3277.
108. Zhang, X., Blair, M. W., & Wang, S. (2008). Genetic diversity of Chinese common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces assessed with simple sequence repeat markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 117(4), 629-640.
109. Zobel, R. W. (2005). Primary and secondary root systems. *Roots and soil management: interactions between roots and the soil*, 48, 1-14.
110. Zobel, R. W., & Waisel, Y. O. A. V. (2010). A plant root system architectural taxonomy: a framework for root nomenclature. *Plant Biosystems*, 144(2), 507-512.



## RINGRAZIAMENTI

Ringrazio in primis il prof. Papa e la prof.ssa Bitocchi per il loro sostegno durante la stesura della tesi e durante la parte sperimentale, un ringraziamento anche a Lorenzo Rocchetti, il cui aiuto è stato fondamentale per l'analisi statistica dei dati raccolti e un grazie anche al prof. Adriano Mancini per le spiegazioni sul programma d'analisi dell'immagine.

Ringrazio me stesso, per essermi riuscito a divertire e studiare allo stesso tempo in questi tre anni. Un grande grazie va a tutta la mia famiglia per il sostegno che mi ha dato in questi anni, soprattutto mamma, ma anche Maddalena, nonni, zii, Martina, Manuela, Francesco, Daniele, figli di cugine e chi più ne ha più ne metta. Un grande grazie va a Marta per il rendermi felice e sereno e mi fermo qua visto che sono pur sempre ringraziamenti in una tesi. Ringrazio tutti quelli che non ci sono più ma che vorrei ci fossero, a voi un sorso di birra a terra.

Grazie agli amici che mi sostengono da più o meno una vita: Celino, Loris, Patrick, Leo Roscio, Simo, Bonzino, Eugenio, Lorenzo, Jo. Un grosso grazie va anche agli amici conosciuti ad Ancona, quelli conosciuti in corso con me che hanno alleviato la pesantezza di svegliarmi presto la mattina per andare a seguire lezione con cui anche un caffè o una sigaretta diventavano motivo di risate e divertimento e quelli conosciuti per altre vie che mi hanno fatto passare alcuni degli anni più belli della mia vita: grazie a Stefano, Rocco, Francesca e anche se già citati anche Leo, Ge e Lore, senza di voi Ancona non sarebbe stato quel ricordo indelebile che invece sarà per sempre.

Infine grazie al mio tabaccaio e bar di fiducia, perché tabacco e caffè sono pur sempre vizi che salvano dallo stress del quotidiano.