

Variabilità genetica del noce comune (*Juglans regia*) in Piemonte

Ferrazzini D, Monteleone I, Lecce F, Belletti P*

Università di Torino, DIVAPRA Genetica Agraria, via Leonardo da Vinci 44, 10095 Grugliasco (Torino, Italy)- *Corresponding Author: Piero Belletti (piero.belletti@unito.it).

Abstract: Genetic variation of common walnut (*Juglans regia*) in Piedmont, Northwestern Italy. The European or common walnut is a large tree prized as a multipurpose species: it provides valuable timber and produces a high-quality edible nut. The diffusion of the species in Italy has been largely influenced by the human activity, mainly through germplasm movement, selection of genotypes most suited for wood or fruit production and adaptation induced on fruit crop reproductive materials. As a consequence, genetic variability has been reduced, so that programs aimed at its preservation appear of the utmost importance. 104 walnut plants growing in Piedmont, northwestern Italy, were investigated through genetic variation scored at RAPD loci, yielded by PCR amplification of 10 decamer primers. Among the 101 studied loci, only 53 were polymorphic, showing a low level of genetic variation within the studied material. Genetic differentiation was estimated both at individual and geographical area level. Only in few cases trees growing in the same area showed to be genetically similar, while the differentiation between areas accounted for about 10% of the total variation, according to AMOVA. No significant correlation was found between genetic and geographic distances. The results of the study showed that also in Piedmont (such as it was already demonstrated in other parts of Italy) the distribution of common walnut is a direct consequence of the human activity. The selection of individual trees, to be used as basic materials for seed supply, should therefore be based mainly on phenotypic traits, rather than ecological features of the location: in species characterized by artificial diffusion, the adoption of Region of Provenance has a scarce significance and prominence should be given to the phenotype selection.

Keywords: Genetic variation, Molecular markers, Biodiversity, Conservation, Walnut.

Received: Mar 26, 2007 - Accepted: Oct 10, 2007

Citation: Ferrazzini D, Monteleone I, Lecce F, Belletti P (2007). Variabilità genetica del noce comune (*Juglans regia*) in Piemonte. Forest@ 4 (4): 386-394. [online] URL: <http://www.sisef.it/forest@/>.

Introduzione

La struttura genetica delle popolazioni è il risultato di un complesso processo evolutivo, al quale concorrono numerosi fattori, tra cui la frammentazione dell'habitat e il conseguente isolamento delle popolazioni, le mutazioni e gli incroci spontanei, il sistema propagativo e il flusso genico, la deriva genetica e la selezione naturale (Slatkin 1987, Schaal et al. 1998). Nel caso di specie coltivate o comunque utilizzate dall'uomo, occorre considerare anche l'effetto dei trasferimenti di germoplasma, della selezione artificiale e della diffusione di genotipi ritenuti di maggior interesse. È questo il caso del noce comune (*Juglans regia* L.), la cui distribuzione è dovuta principalmente all'attività umana, come conseguenza della

molteplicità dei suoi impieghi. Il centro di origine della specie sembra essere l'Asia centrale, più precisamente la catena montuosa occidentale dell'Himalaya nel Cachemire, Tajikistan e Kirgizstan (Hemery 1998, Malvolti et al. 1997). In Europa, pare ormai certo il noce fosse presente fin da prima dell'ultima glaciazione, che ne avrebbe causato la migrazione verso est. Sebbene alcuni esemplari siano sopravvissuti come relitti (Paganelli & Miola 1991), la ricolonizzazione post-glaciale più massiccia si sarebbe verificata circa 7000 anni fa, a partire da materiali provenienti dall'Asia, attraverso l'Iran, la Turchia e i Balcani. Anche il nostro Paese, tuttavia, stando a quanto rilevato da fossili di polline e di frutti, potrebbe essere un centro di origine della specie (Malvolti et al. 1997).

Tab. 1 - Localizzazione geografica dei siti oggetto di campionamento.

N. pianta		Prov.	Area	Località di campionamento (popolazione)	Coordinate geografiche	
da	a				Lat. N	Long. E
1	17	Cuneo	Valle Pesio	Chiusa Pesio, F.ne Comba	44° 21'	7° 41'
				Peveragno, Montefallonio	44° 19'	7° 39'
				Boves, S. Antonio	44° 19'	7° 32'
				Boves, Pasturone	44° 20'	7° 32'
				Boves, Finetti-Balotin	44° 19'	7° 32'
18	27	Cuneo	Pianura	Monasterolo, C.na Riforano	44° 41'	7° 36'
				Villanova Solaro, M.na Noce	44° 43'	7° 35'
28	31	Torino	Torinese	Giaveno, Sala	45° 06'	7° 21'
47	51			Giaveno, Villa	45° 02'	7° 22'
32	46	Cuneo	Valle Po	Bobbio Pellice, C. Carboneri	44° 48'	7° 08'
				Paesana, Seymandi	44° 40'	7° 17'
				Robella, S. Chiaffredo	44° 40'	7° 18'
52	66	Cuneo	Val Maira	Rifreddo, Monastero	44° 39'	7° 21'
				Cartignano, Cimitero	44° 29'	7° 17'
				Cartignano, Tetti	44° 26°	7° 18'
67	76	Cuneo	Val Grana	Dronero, Pratavecchia	44° 27'	7° 24'
				Monterosso, Valle	44° 25'	7° 20'
				Caraglio, Monte	44° 25'	7° 23'
77	86	Cuneo	Valle Stura	Roccasparvera, M.na Grazie	44° 21'	7° 26'
				Moiola, Valle	44° 19'	7° 24'
87	104	Verbania	Ossola	Crodo, Smeglio	46° 13'	8° 19'
				Baceno, P.te Silogno	46° 15'	8° 19'
				Premia, Bivio Uderzo	46° 16'	8° 21'
				Pioda Bivio Cresta	46° 16'	8° 20'

Attualmente, il noce si trova nel nostro Paese a livello di individui sparsi o in piccoli gruppi, distribuiti lungo i bordi di aree coltivate, lungo le rive dei fiumi o nei centri urbani. Esso è presente in tutte le regioni italiane e si spinge fino a quote di 1.000-1.200 (eccezionalmente 1.500) metri. Le piante sono generalmente isolate e di origine incerta: soltanto in alcuni casi è possibile risalire ad una specifica *cultivar* o a progenie da questa derivata per libera impollinazione (Malvolti et al. 1997).

La pressione selettiva esercitata nel tempo dall'uomo per la produzione di frutti di qualità e la contrazione delle aree dedicate alla coltivazione di questa pianta hanno portato alla riduzione delle risorse genetiche disponibili. Questo ha contribuito a ridurre notevolmente la base genetica da impiegare per la selezione ed il miglioramento per caratteri fenotipici utili per la produzione di legname di qualità (Ducci et al. 1997). Diventa pertanto sempre più importante predisporre piani per la salvaguardia e la conservazione della biodiversità propria della specie. Una delle fasi in cui è possibile avvengano perdite di va-

riabilità genetica è quella dell'approvvigionamento di materiale propagativo, soprattutto se questo è effettuato senza tenere in considerazione le indicazioni scientifiche oggi disponibili per la sua conservazione (AA VV 2006). Inoltre, perdite di variabilità genetica si possono verificare durante tutte le fasi della filiera che dal popolamento di origine portano al materiale da impiegare nei rimboschimenti: i momenti più critici appaiono quelli della raccolta dei semi e della loro lavorazione in stabilimento, nonché le condizioni di allevamento nei vivai (Ducci 2003).

Scopo della ricerca è stato l'esame delle caratteristiche genetiche del noce in Piemonte, per valutarne l'entità e la distribuzione della variabilità, e per definire le più opportune strategie di approvvigionamento di seme in tale regione. In particolare, si è inteso verificare se piante che crescono in aree vicine e omogenee dal punto di vista ecologico presentino similitudini genetiche tra di loro o se, al contrario, le eventuali differenze riscontrate siano in qualche modo correlabili alle caratteristiche ecologiche dei siti di impianto nonché alle loro distanze geografi-

che.

Materiali e Metodi

Materiale vegetale

Gli individui oggetto di analisi sono stati scelti nell'ambito di aree segnalate dall'IPLA S.p.A. (Istituto per le Piante da Legno e l'Ambiente, Torino), sulla base della rappresentatività delle diverse situazioni ecologiche in cui il noce è diffuso in Piemonte. La loro localizzazione è riportata in Tab. 1 ed in Fig. 1. L'area denominata "torinese" (n. 3) presenta una superficie superiore rispetto alle altre: ciò è dovuto al ridotto numero di individui presenti al suo interno, che ha scongiurato una maggior frammentazione dell'area stessa. Si sottolinea che all'interno dell'area considerata non esistono barriere in grado di ostacolare il flusso pollinico tra i vari individui.

I campioni erano costituiti sia da piante isolate che da soggetti presenti in popolazioni più o meno ampie: in questo caso l'analisi ha coinvolto fino a 5 individui per popolazione, scelti con criteri di casualità. Tutte le piante campionate erano adulte, con un'età stimata non inferiore a 30 anni. Non è stato possibile risalire con sufficiente certezza all'origine del materiale da cui le piante sono derivate, anche se si può ipotizzare, con ragionevole certezza, che si tratti di

piante nate da seme locale, non innestate e non appartenenti a particolari *cultivar* o varietà.

Il campionamento ha previsto il prelievo di gemme invernali, raccolte durante il riposo vegetativo delle piante. Se l'estrazione del DNA non è avvenuta immediatamente dopo la raccolta, il materiale è stato conservato, fino al momento dell'utilizzazione, a -20°C.

Analisi di laboratorio

La stima della variabilità genetica è stata effettuata impiegando marcatori RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Il DNA, estratto con metodo CTAB (Doyle & Doyle 1990) leggermente modificato, è stato successivamente amplificato con procedimento PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

Per l'amplificazione sono stati utilizzati i *primers* indicati in Tab. 2: si tratta di *primers* decamerici, prescelti sulla base del polimorfismo evidenziato nell'ambito di ricerche precedenti (Malvolti et al. 1997). La miscela di reazione era composta da buffer di reazione 1x, MgCl₂ 2.5 M, dNTP mix 0.2 µM, *primer* 0.2 µM, 1 unità Taq Polimerasi (Promega), DNA campione 20 ng e H₂O bidistillata sterile necessaria per raggiungere un volume finale di 25 µl. La procedura PCR ha seguito un protocollo comprendente una fase iniziale di 5 minuti a 95°C, 40 cicli (composti da

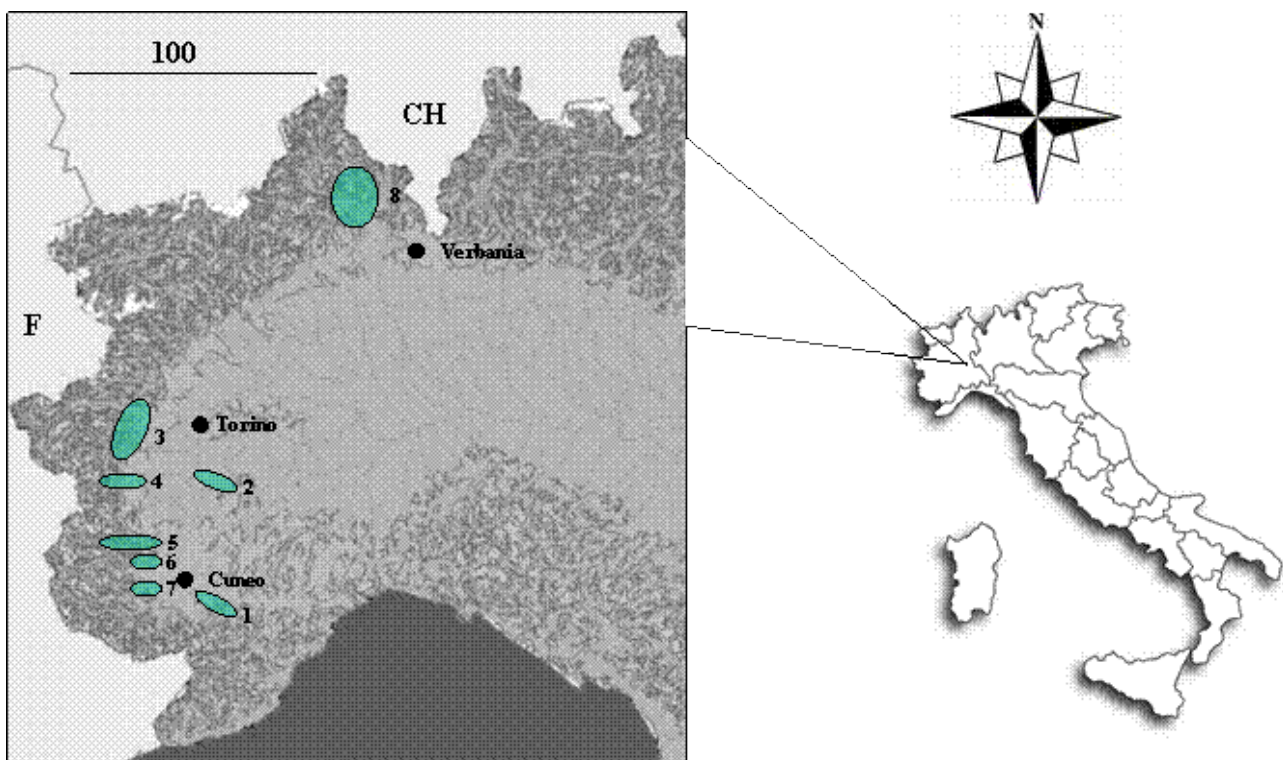


Fig. 1 - Localizzazione delle aree geografiche oggetto di campionamento. 1 = Valle Pesio, 2 = Pianura cuneese, 3 = Torinese, 4 = Valle Po, 5 = Valle Maira, 6 = Valle Grana, 7 = Valle Stura, 8 = Ossola.

Tab. 2 - Primers RAPD decamerici utilizzati per l'amplificazione del DNA.

Primer	Sequenza nucleotidica (da 5' a 3')	Rapporto di basi GC/AT (%)
OPA02	TGCCGAGCTG	70
OPA09	GGGTAACGCC	70
OPA12	TCGGCGATAG	60
OPA18	AGGTGACCGT	60
OPE04	GTGACATGCC	60
OPE07	AGATGCAGCC	60
OPE15	ACGCACAACC	60
OPE18	GGACTGCAGA	60
OPE19	ACGGCGTATG	60
OPE20	AACGGTGACC	60

una fase di denaturazione di 1 minuto a 94°C, una fase di *annealing* di 1 minuto a 36°C e una fase di sintesi di 2 minuti a 72°C) e una fase finale di 8 minuti a 72°C. La separazione elettroforetica delle bande ottenute dall'amplificazione è stata effettuata su gel di agarosio all'1.5%, tenuto a 65 V per 4 ore. L'intero procedimento è stato ripetuto due volte per ciascun primer al fine di verificare la ripetibilità delle analisi: nel caso di mancata conferma dei risultati, le bande non sono state considerate. Nel gel è stato incorporato bromuro di etidio, che ha permesso la visualizzazione del DNA agli UV, ponendo il gel a fine corsa

in un fluorimetro associato ad un digitalizzatore di immagini (GelDoc). I pattern elettroforetici così evidenziati sono stati successivamente elaborati per l'analisi statistica.

Elaborazione dei dati

La stima dei parametri genetici della popolazione di piante considerata è stata calcolata usando il programma statistico POPGENE 1.21 (Yeh & Yang 2000). La variabilità genetica e la ricchezza allelica sono state stimate ricorrendo al computo della diversità genetica (H_e), del numero medio (N) e del numero effettivo (N_e) di alleli per locus e della percentuale di loci polimorfici (P) (Nei 1973, Crow & Kimura 1970). Le distanze genetiche tra singoli individui sono state misurate ricorrendo al parametro Φ_{ST} (Weir & Cockerham 1984). Tali valori sono stati utilizzati per elaborare il dendrogramma delle distanze genetiche secondo il metodo UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic means* - Sneath & Sokal 1973) ed utilizzando il programma NTSYS-pc 2.10j (Rohlf 2001). La ripartizione della diversità genetica è stata effettuata attraverso l'analisi della varianza molecolare (AMOVA), utilizzando il software GENALEX 6 (Peakall & Smouse 2006): in particolare, la diversità genetica è stata valutata tra aree geografiche e, all'interno di queste, tra popolazioni, costituite da piante campionate nella stessa località. Lo stesso

Tab. 3 - Caratteristiche delle bande ottenute a seguito di amplificazione del DNA.

Primer	N. totale frammenti	Peso mol. (range in bp)	Frammenti polimorfici		Frammenti monomorfici	
			Numero	Peso mol. (bp)	Numero	Peso mol. (bp)
OPA02	13	340-1120	7 (54%)	440, 580, 640, 670, 820, 880, 1020	6 (46%)	340, 520, 700, 750, 960, 1120
OPA09	12	340-1260	6 (50%)	400, 540, 680, 860, 1150, 1260	6 (50%)	340, 510, 640, 720, 800, 1050
OPA12	7	330-1760	3 (43%)	960, 1090, 1160	4 (57%)	330, 620, 1260, 1760
OPA18	13	380-1420	4 (31%)	680, 800, 900, 960	9 (69%)	380, 500, 530, 600, 750, 860, 1160, 1280, 1420
OPE04	9	590-1050	2 (22%)	880, 950	7 (78%)	590, 740, 1050, 1100, 1170, 1220, 1400
OPE07	6	460-1350	3 (50%)	460, 530, 810	3 (50%)	950, 1120, 1350
OPE15	11	600-1200	5 (45%)	770, 840, 950, 1020, 1050	6 (55%)	600, 650, 700, 980, 1160, 1200
OPE18	9	670-1270	5 (56%)	670, 820, 850, 950, 1230	4 (44%)	710, 1010, 1100, 1270
OPE19	9	530-1600	5 (56%)	530, 700, 760, 1460, 1600	4 (44%)	580, 630, 860, 1160
OPE20	12	540-1400	8 (67%)	540, 570, 650, 750, 970, 1000, 1070, 1370	4 (33%)	780, 870, 1100, 1400
Totale	101	-	48 (47.5%)	-	53 (52.5%)	-

Tab. 4 - Valori di ricchezza allelica e di diversità genetica nell'ambito delle aree geografiche oggetto di analisi.

Popolamento	Numero medio alleli per locus (N)	Numero effettivo alleli per locus (N _e)	Percentuale loci polimorfici (P)	Diversità genetica (H _e)
1. Valle Pesio	1.37	1.26	36.7	0.141
2. Pianura	1.33	1.22	32.7	0.123
3. Torinese	1.36	1.24	35.6	0.137
4. Valle Po	1.36	1.23	35.6	0.132
5. Val Maira	1.38	1.23	37.6	0.133
6. Val Grana	1.30	1.20	29.7	0.114
7. Valle Stura	1.35	1.23	34.7	0.128
8. Ossola	1.39	1.25	38.6	0.143
Media	1.36	1.23	35.2	0.131
Dev. standard	0.03	0.02	2.7	0.009

software è stato utilizzato per valutare le relazioni tra aree geografiche mediante l'analisi delle Coordinate Principali (PCoA), ricavate dalle distanze genetiche e proiettate in un grafico bidimensionale.

Il Mantel test (Mantel 1967) è stato utilizzato per correlare le matrici delle distanze genetiche e di quelle geografiche, valutate come la distanza in linea d'aria che intercorre tra ciascuna coppia di popolazioni. Il risultato è stato validato ricorrendo a 9999 permutazioni, utilizzando il programma GENALEX 6.

Risultati

L'amplificazione del DNA mediante l'uso dei 10 *primers* prescelti ha consentito l'identificazione di 101 bande. Ciascuna di esse è stata indicata con la sigla del *primer* corrispondente, seguita dal peso molecolare del frammento, espresso in numero di coppie di basi azotate (bp). I marcatori RAPD, valutando la presenza (+ oppure 1) o l'assenza (- oppure 0) della banda, identificano l'esistenza o meno di una sequenza nucleotidica (quella complementare al *primer*, che, se presente, consente il processo di amplificazione del DNA e, quindi, la comparsa della banda). Le caratteristiche generali delle bande ottenute nell'ambito della prova di caratterizzazione del-

le piante sono riportate in Tab. 3.

Dall'esame dei dati si può osservare che il numero medio di bande per *primer* è pari a 10.1, con peso molecolare variabile da 330 a 1.760 bp. Cinquantatre bande su 101 (poco più del 50%) sono risultate monomorfe, cioè presenti in tutti i campioni, i quali pertanto risultano caratterizzati da un solo tipo di allele.

La Tab. 4 riporta i valori di ricchezza allelica e di diversità genetica (assumendo come valido l'equilibrio di Hardy-Weinberg). Il numero medio di alleli per locus è risultato variare tra 1.30 (Val Grana) e 1.39 (Ossola), con valore medio di 1.36; analogamente il numero effettivo di alleli per locus è variato da 1.20 (Val Grana) a 1.26 (Valle Pesio), con valore medio di 1.23. La percentuale di loci polimorfici ha confermato l'andamento generale: valore medio di 35.2 con estremi di variazione compresi tra 29.7 (Val Grana) e 38.6 (Ossola); valori elevati sono stati riscontrati anche nelle valli Pesio e Maira (rispettivamente 36.7 e 37.6). La diversità genetica, infine, è variata da 0.114 (Val Grana) a 0.143 (Ossola), con valore medio di 0.131 e risultati sensibilmente superiori alla media registrati anche in Valle Pesio.

Per quanto concerne i livelli di differenziazione genetica sono state condotte due elaborazioni distinte:

Tab. 5 - Analisi della varianza molecolare (AMOVA) tra aree geografiche e popolazioni oggetto di analisi.

Fonte di variazione	Gradi di libertà	Somma dei quadrati	Componenti della varianza	Percentuale di variazione	P
Tra aree geografiche	7	78757	11251	3.12	< 0.01
Tra popolazioni	14	117190	8371	6.54	< 0.01
Entro popolazioni	82	513533	6263	90.34	< 0.01
TOTALE	103	709481	25884	100	-

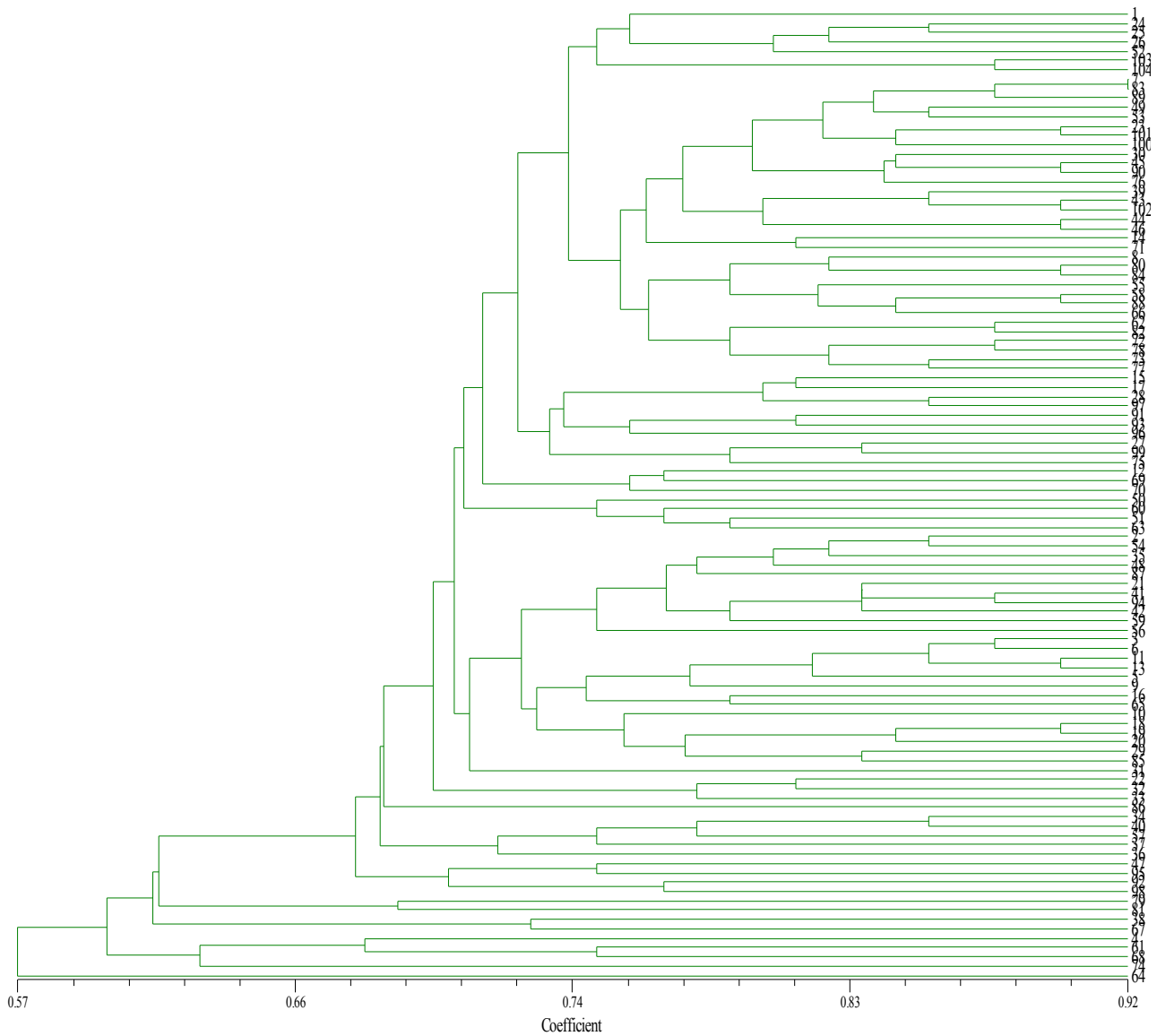


Fig. 2 - Cluster analisi ottenuta dalle distanze genetiche (Φ_{ST}) tra piante singole mediante metodo UPGMA.

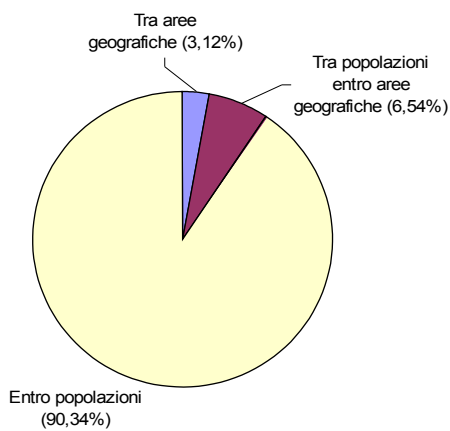


Fig. 3 - Ripartizione della varianza molecolare nelle sue componenti tra popolazioni, tra aree geografiche e tra popolazioni entro area geografica.

tra tutti i singoli individui e tra aree geografiche. Nella prima, come si può osservare dal dendrogramma riportato in Fig. 2, soltanto in pochi casi è stato possibile evidenziare similitudini genetiche tra individui appartenenti alla stessa area geografica ed addirittura alla stessa popolazione (ad esempio per le piante n. 24, 25 e 26 raccolte a Villanova Solaro oppure per quelle n. 43, 44 e 46, provenienti dalla popolazione di Monastero a Rifreddo).

La differenziazione tra aree geografiche, stimata mediante l'analisi AMOVA (Tab. 5), è responsabile del 3.12% della variabilità genetica totale, mentre la diversità tra popolazioni appartenenti alla stessa area è pari al 6.54% della varianza totale (Fig. 3). Come previsto, la più alta percentuale di variabilità genetica (90.34%) è stata riscontrata entro le popola-

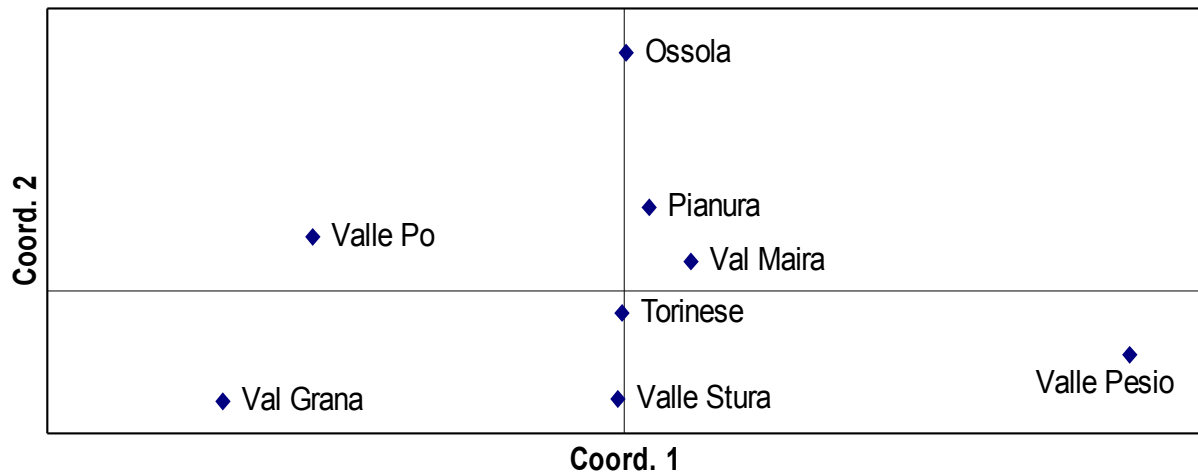


Fig. 4 - Analisi delle coordinate principali (PCoA) ricavata dalla matrice delle distanze genetiche tra le aree geografiche analizzate. La prima coordinata spiega il 59.63% della variabilità complessiva, la seconda il 20.43%.

zioni.

L'analisi delle coordinate principali ha consentito di individuare due set di variabili che spiegano, rispettivamente, il 59.63 e il 20.43% della variabilità complessiva. Dall'analisi del relativo grafico (Fig. 4) si può osservare che la disposizione delle aree nel plot non rispetta la loro localizzazione geografica. Tale dato è confermato dal risultato del test di Mantel (Fig. 5), il quale non evidenzia alcuna relazione statisticamente significativa tra distanze genetiche e distanze geografiche delle singole popolazioni ($P = 0.403$).

Discussione

I risultati della ricerca hanno confermato come anche in Piemonte le caratteristiche genetiche delle popolazioni di noce non siano dissimili da quelle evidenziate in altre aree italiane (Malvolti et al. 1997, Pollegioni et al. 2003, Pollegioni et al. 2006). Il materiale ha presentato un elevato grado di uniformità genetica, comprovato dal fatto che circa il 50% dei marcatori RAPD è risultato monomorfo. A titolo di confronto si riportano i risultati di analoghe ricerche, condotte in aree geograficamente paragonabili a quella oggetto del presente studio, ma su altre spe-

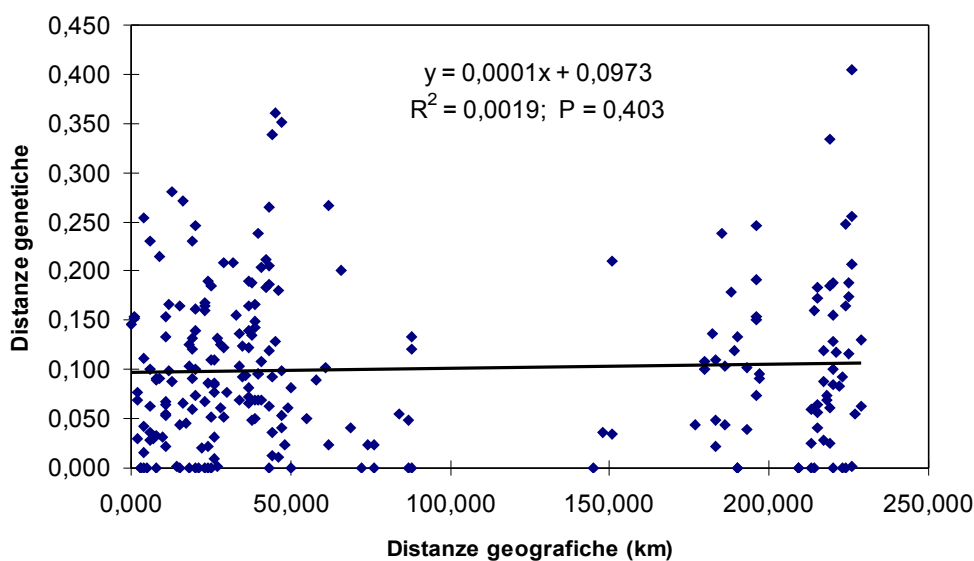


Fig. 5 - Correlazione tra distanze genetiche (Φ_{ST}) e distanze geografiche tra le popolazioni esaminate (Mantel test). Non si evidenzia alcuna relazione statisticamente significativa tra i due parametri ($P = 0.403$).

cie: nel ciavardello la frequenza di bande RAPD monomorfe è risultata limitata al 17% (Belletti et al. 2007a), mentre nella farnia solo 4 marcatori su un totale di 104 sono risultati monomorfi e non hanno quindi presentato variabilità (Castagna et al. 2005). Un elevato livello di uniformità genetica nell'ambito del materiale oggetto del presente studio è stato evidenziato anche dall'analisi di marcatori microsatelliti nucleari (dati non riportati): delle quattro coppie di *primer* analizzate, infatti, solamente due hanno presentato polimorfismo, e per di più ad un livello molto modesto (rispettivamente due e tre alleli). A causa di tale ridotto polimorfismo i dati relativi a questo tipo di marcatori (che, essendo codominanti, avrebbero permesso di distinguere gli eterozigoti dagli omozigoti) non sono stati considerati per la presente ricerca. Anche in questo caso, il contrasto con i valori ricavati dalle analisi condotte su altre specie appare stridente: nel frassino maggiore sono stati individuati 253 alleli in 6 *loci* microsatelliti (Ferrazzini et al. 2007), mentre nel pino silvestre 205 alleli in 7 *loci* (Belletti et al. 2007b). È tuttavia opportuno far notare come, in queste ultime due ricerche, l'areale sottoposto ad indagine fosse di maggiori dimensioni, essendo esteso a tutta l'Italia settentrionale.

Da quanto detto è lecito pensare che la scarsa variabilità genetica del noce comune nel nostro Paese sia per lo più una diretta conseguenza delle attività umane. La specie è, infatti, una delle piante arboree più legate alla storia dell'uomo ed è noto come la domesticazione sia causa di profondi cambiamenti nelle caratteristiche genetiche di una specie, soprattutto a causa della selezione artificiale che finisce con l'erodere il *pool* genetico naturale (Millar & Libby 1991). La diffusione di poche piante o varietà dalle caratteristiche di pregio va a discapito degli individui appartenenti a popolazioni più antiche, con evidenti conseguenze di erosione genetica. La riduzione della diversità e la potenziale perdita di risorse genetiche per la specie sono indicate anche dall'assenza di un chiaro *pattern* geografico della variabilità genetica evidenziata.

Una delle possibili fonti di variazione potrebbe essere collegata alla quota altimetrica dei siti ove si trovano le popolazioni, la quale potrebbe aver favorito la diffusione artificiale di materiale genetico con specifiche caratteristiche di adattamento. Tuttavia, i dati della presente ricerca non hanno evidenziato significative differenze tra popolazioni di pianura e popolazioni di fondo valle, probabilmente anche a causa dell'esiguo *range* di variazione altimetrica considerato (da 270 m s.l.m. della pianura cuneese ai 750 del-

l'Ossola).

Da questa elevata omogeneità genetica discende una scarsa differenziazione dei gruppi di piante esaminati, che risultano essere distribuiti sul territorio in un modo che riflette presumibilmente la modalità di approvvigionamento del materiale utilizzato per la propagazione degli individui. Popolazioni geograficamente vicine o che crescono in condizioni ecologiche simili risultano solo in pochi casi geneticamente più simili tra loro rispetto a popolazioni cresciute in condizioni diverse. Analogamente, costituiscono un'eccezione i casi in cui individui della stessa popolazione sono geneticamente più simili rispetto a piante che crescono in località differenti.

Di conseguenza, l'approvvigionamento di materiale di propagazione da queste piante potrà essere effettuato seguendo come criterio soprattutto il valore fenotipico degli individui, il quale risulta strettamente legato all'adattamento alle particolari condizioni ambientali del luogo in cui la pianta cresce. Pertanto, per una specie come il noce, propagata quasi del tutto artificialmente, applicare il metodo delle Regioni di Provenienza (così come previsto dalla vigente normativa a livello comunitario e nazionale) assume una valenza sfumata. Tuttavia, non è possibile escludere che ricorrendo a marcatori caratterizzati da un maggiore livello di polimorfismo (ad esempio ISSR) oppure ampliando il numero di marcatori RAPD analizzati, sia possibile evidenziare maggiori livelli di diversità genetica, che potrebbero consentire una più dettagliata verifica delle differenze genetiche. L'uso congiunto di diversi tipi di marcatori (morfologici, fenologici, biochimici e molecolari) potrebbe essere il modo migliore per caratterizzare le provenienze.

Ringraziamenti

Ricerca svolta nell'ambito del Progetto RI.SELV.I-TALIA (Sottoprogetto 1.1: Biodiversità e produzione di materiale forestale di propagazione) e con il sostegno finanziario della Regione Piemonte, Direzione Economia Montana e Foreste.

Bibliografia

- AA VV (2006). Manuale per la raccolta, studio, conservazione e gestione *ex situ* del germoplasma. Manuali e Linee Guida n. 37/2006. APAT, Roma, pp. 244.
- Belletti P, Monteleone I, Ferrazzini D (2007a). A population genetic study in a scattered forest species, wild service tree [*Sorbus torminalis* (L.) Crantz], using RAPD markers. European Journal of Forest Research, in corso di stampa.
- Belletti P, Monteleone I, Ferrazzini D, Ducci F, De Rogatis

- A, Proietti R, Guerri S (2007b). Aspetti genetici nella definizione di Regioni di Provenienza. Atti Seminario di sintesi finale dle programma RISELVITALIA, Sottoprogetto 1.1, Arezzo 9-10 gennaio 2007, in corso di stampa.
- Castagna R, Monteleone I, Ferrazzini D, Calvo E, Belletti P (2005). Seme di farnia ad elevato valore genetico. *Sherwood* 111: 5-9.
- Crow GF, Kimura M (1970). An introduction to population genetics theory. Harper and Row, New York, Evanston, London, pp. 591.
- Doyle JJ, Doyle JL (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.
- Ducci F, De Rogatis A, Proietti R (1997). Protezione delle risorse genetiche di *Juglans regia* L. *Annali Istituto Sperimentale Selvicoltura Arezzo XXV e XXVI*: 35-55.
- Ducci F (2003). Criteri ed indirizzi per la raccolta del materiale forestale di propagazione. In: "Biodiversità e vivaistica forestale - Aspetti normativi, scientifici e tecnici". Manuali e Linee Guida n. 18/2003. APAT, Roma, pp. 122.
- Ferrazzini D, Monteleone I, Belletti P (2007). Genetic variability and divergence among Italian populations of common ash (*Fraxinus excelsior* L.). *Annals of Forest Sciences* 64: 159:168.
- Hemery GE (1998). Walnut (*Juglans regia*) seed collection expedition to Kyrgyzstan in Central Asia. *Quarterly Journal of Forestry* 92: 153-157.
- Malvolti ME, Bertignolo I, Spada M, Cannata F (1997). Ricerche sulle risorse genetiche e sulla biologia riproduttiva di *Juglans regia* L. in Italia mediante marcatori molecolari. *Annali Istituto Sperimentale Selvicoltura Arezzo XXV e XXVI*: 9-34.
- Mantel N (1967). The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research* 27: 209-220.
- Millar LI, Libby WJ (1991). Strategies for conserving clinal, ecotypic and disjunct populations diversity in widespread species. In: (Falk DA, Holsinger KE eds) "Genetic and conservation of rare plants". Oxford University Press, U.K, pp. 283.
- Nei M (1973). Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceeding National Academy of Science USA* 70: 3321-3323.
- Paganelli A, Miola A (1991). Chestnut (*Castanea sativa* Mill.) as an indigenous species in northern Italy. *Quaternario* 1: 1-17.
- Peakall R, Smouse PE (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6: 288-295.
- Pollegioni P, Bartoli S, Cannata F, Malvolti ME (2003). Genetic differentiation of four Italian walnut (*Juglans regia* L.) varieties by inter simple sequence repeat (ISSR). *Journal of Genetics & Breeding* 57: 231-240.
- Pollegioni P, Bartoli S, Malvolti ME, Mapelli S, Bertani A, Cannata F (2006). Identificazione di ecotipi italiani di *Juglans regia* L. mediante marcatori molecolari, morfologici e biochimici. *Forest@* 3: 598-609. [online] URL: <http://www.sisef.it/>.
- Rohlf FJ (2001). NTSYS-pc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, version 2.10j. Exeter Publications, New York, USA.
- Schaal BA, Hayworth DA, Olsen KM, Rauscher JT, Smith WA (1998). Phylogeographic studies in plants: problems and prospects. *Molecular Ecology* 7: 465-474.
- Slatkin M (1987). Gene flow and the geographic structure of populations. *Science* 236: 787-792.
- Sneath PHA, Sokal RR (1973). Numerical Taxonomy: the principles and practice of numerical classification. Freeman WH & Co., San Francisco, pp. 573.
- Weir BS, Cockerham CC (1984). Estimating F-statistics for the analysis of populations structure. *Evolution* 38: 1358-1370.
- Yeh FC, Yang R (2000). POPGENE Version 1.32. Dept. of Renewable Resources, University of Alberta, Canada. [online] URL: <http://www.ualberta.ca/~fyeh>.

Author's Box

Piero Belletti - Ricercatore confermato presso la sezione di Genetica Agraria del DIVAPRA (Università di Torino) e docente del corso di "Miglioramento genetico delle piante forestali" nello stesso Ateneo. Si occupa di problematiche legate allo studio e alla definizione di misure di salvaguardia della biodiversità di specie di interesse forestale e ambientale, con particolare riferimento agli aspetti legati alla filiera vivaistica. Diana Ferrazzini e Ignazio Monteleone - Dottori in ricerca, collaboratori presso il citato Dipartimento universitario. Fabrizio Lecce - Laureato in Biotecnologie Agrarie Vegetali
