

Studio, salvaguardia e valorizzazione della biodiversità del vitigno storico *Ribolla Gialla* in Friuli Venezia Giulia

Serena Imazio^{1*}, Gabriella De Lorenzis¹, Osvaldo Failla¹, Attilio Scienza¹, José Vouillamoz², Z. Korosec-Koruza³, Denis Rusjan³, Nikolaos Nikolaou⁴

¹ Dipartimento di Produzione Vegetale, Università di Milano

² University of Neuchâtel, National Centre of Competence in Research 'Plant Survival', Neuchâtel, Switzerland

³ Biotechnical Faculty, Institut of Fruit Growing, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

⁴ Department of Agriculture, Laboratory of Viticulture, Aristotele University of Thessaloniki, Greece

Biodiversity and valorisation of the grapevine variety *Ribolla gialla* historically cultivated in Friuli Venezia Giulia Region (Italy)

Abstract. Ribolla Gialla is an extremely old grape cultivated in the Italian region Friuli-Venezia Giulia in the provinces of Gorizia and Udine. Once part of the Venetian Republic, Friuli Venezia Giulia has been for long time an important step along the Mediterranean spice route from the Byzantine Empire to the trading centre of Venice. During the Middle Ages, travellers passing through this area are supposed to have brought grapevines from Balkans and Anatolia. Referring to historical information and reports Ribolla has been the leading quality wine used as a representative sign to honour famous figures of the ages. Known in Friuli since Roman Empire, for some Authors, Ribolla would correspond to the Roman famous 'Avola' wine. Others believe that the Roman 'Punicinum' used Ribolla as its base wine. After the splendours and reputation gained by Ribolla wines in the past centuries, the beginning of the 1900s marked a difficult period for the wine, with a very modest reputation. And, in the '60s of the past Century the interest in the cultivation of grapevine variety (*Vitis vinifera* L.) Ribolla variety decreased, in the Italian winegrowing region, leaving place for the cultivation of Tocai Friulano, Pinot Bianco and Grigio, Sauvignon, Traminer and Riesling. Despite the historical documents reporting the longstanding tradition of Ribolla cultivation and winemaking in Friuli-Venezia Giulia the origin of this variety is still questionable. The neighbour winegrowing regions, especially Primorska in Slovenia and Dalmatia in Croatia have under cultivation a white grapevine variety called Rebula. In Greece on the Ionic islands of Kefalonia white wine from variety named Robola is produced. The aim of this work is to study the genetic structure of these 3 groups of grapevine varieties and verify the existence of genetic

relationships linking to these accessions which shares the same name.

For this purpose 21 SSR loci were tested to fingerprint 22 Ribolla-Rebula-Robola accessions uniformly distributed in the 4 areas of cultivation. Data obtained proved the existence of some synonym accessions and relationships between Ribolla-Rebula and Robola accessions.

Introduzione

La Ribolla è il vitigno che più ha accompagnato la storia del popolo friulano negli ultimi 700 anni. I primi documenti che testimoniano la sua presenza sul territorio risalgono al 1300 e attestano l'esistenza di un vitigno denominato *Robiola*. La storiografia riferisce dell'esistenza di numerosi documenti e scritti, dei secoli successivi, in cui si descrivono i territori di coltivazione per vitigni con denominazioni riconducibili alla Ribolla (*Raibola, Raboli, Rebola...*). Le sue origini potrebbero essere, tuttavia, ancora più antiche: secondo alcuni potrebbe trattarsi del vitigno *Avola* apprezzato già dagli antichi Romani, mentre altri la vorrebbero come componente del *Pucinum* menzionato più volte da Plinio il Vecchio. Il grande interesse e apprezzamento che il vino prodotto da questo vitigno suscitava nel passato era pari a quello riscosso dalla Malvasia e la *Robiola* veniva offerta ai personaggi illustri in visita presso la città di Udine; il ritrovamento di alcune ordinanze della metà del Quattrocento contro la sofisticazione del vino ottenuto da questo vitigno e l'imposizione di un certificato di denominazione di origine raccontano quanto grande fosse l'interesse per questo storico vitigno friulano e il rischio che il vino da esso ottenuto potesse essere imitato.

Un aspetto interessante della storia di questo vitigno riguarda la presenza di varietà coltivate che portano nella loro denominazione una forte assonanza con la Ribolla. È il caso, ad esempio, della Rebula in

* serena.imazio@unimi.it

Slovenia e della Robola delle isole Ionie coltivate a partire, pare, dall'epoca Medievale. La presenza di questo vitigno apre le porte ad alcuni interrogativi concernenti la zona di origine del vitigno friulano/sloveno/greco. Si ipotizza che la Ribolla possa derivare da una Ribolla introdotta in Grecia e Dalmazia dai Veneziani, ma al momento e per lo stato attuale delle conoscenze non si può neppure escludere che il percorso sia stato l'inverso e cioè che l'opera dei Veneziani non abbia riguardato l'esportazione del vitigno di origine greca dal suo territorio di provenienza ed una successiva introduzione nel Nord-Est italiano.

Attualmente, la Ribolla è considerato un vitigno di confine essendo la sua zona di coltivazione divisa tra il Friuli (Colli orientali del Friuli e Collio Goriziano) e la Slovenia (zona di Goriska Brda). I dati ufficiali sulla sua diffusione indicano che nella parte italiana sono poco meno di un centinaio gli ettari dedicati alla coltivazione del vitigno. Nella zona del Collio Sloveno la situazione è più favorevole con circa 500 ettari vitati a Ribolla. La differenza tra i due territori ha origini databili agli anni Sessanta, quando i viticoltori italiani, diversamente dai loro colleghi sloveni misero in atto una politica di impianto di vitigni più conosciuti e richiesti dal mercato (quali Pinot bianco e grigio, Merlot ...) a discapito delle varietà più tradizionali. A testimoniare il calo di interesse è il ritardo con cui la Ribolla entrerà nella Doc Collio, perché considerata minore, poiché non era mai vinificata da sola, ma unitamente a Pinot bianco e Malvasia Istriana, apportando corpo ed alcolicità al vino.

La storia della Ribolla sembra essere esempio calzante per raccontare la profonda trasformazione subita dalla viticoltura mediterranea tradizionale negli ultimi 30 anni, soprattutto nel nostro Paese. La globalizzazione del mercato enologico, incentivando la coltivazione di poche varietà, ha portato all'abbandono di vitigni tradizionali, come la Ribolla, che in tempi passati hanno goduto di fama e prestigio e che non meriterebbero essere messi a rischio di estinzione.

Allo stesso modo la riscoperta di questo vitigno, iniziata in tempi recenti e tuttora in corso, rappresenta un esempio virtuoso di come un vitigno dimenticato possa essere riscoperto e valorizzato al meglio delle sue possibilità.

Materiali e metodi

Per meglio comprendere la struttura genetica di questo gruppo di vitigni, diversi per zone di coltivazione ma molto vicini per denominazione, si è deciso di realizzare un censimento e successivo campionamento di materiale nelle tre aree di coltivazione menzionate in precedenza.

Censimento e raccolta del materiale vegetale

A tal fine è stato impostato uno studio riguardante la filologia storica che ci ha permesso di individuare, in maniera esaustiva, le zone in cui esiste una etimologia comune per un vitigno a bacca bianca con caratteristiche affini a quelle della Ribolla friulana. In tal modo e seguendo questo filone si è provveduto a recuperare materiale dalle zone storicamente vocate alla sua coltivazione.

Le ricerche bibliografiche si sono rivelate di fondamentale aiuto nel definire e circoscrivere due grandi areali come putativi centri di origine e differenziazione della Ribolla: il primo grande areale comprende la zona Friulana e Slovena; un'area che si estende dalla città di Gorizia alla città di Porec in Croazia comprendendo la zona slovena denominata Brda. Il secondo grande areale, che sulla base delle testimonianze storiche e delle assonanze etimologiche è stato preso in considerazione, comprende alcune isole dell'arcipelago ionico come Zante o Kefalonia. Queste Isole ed in particolare l'isola di Kefalonia sono particolarmente interessanti in quanto vedono la coltivazione, di una varietà a bacca bianca denominata già in tempi molto antichi Robola, quale varietà di punta della produzione ampelografica. La forte similarità etimologica, quasi una sinonimia e la similarità delle condizioni di coltivazione (in entrambe i casi i terreni sono calcarei e ghiaiosi) ci ha spinti a prendere in considerazione anche queste piante nell'ambito del progetto. Un elenco completo del materiale censito e campionato, con le relative provenienze è riportato in tabella 1.

Caratterizzazione molecolare

I campioni censiti ed elencati in tabella 1 sono stati sottoposti ad analisi molecolare a livello di 21 loci microsatellite. Foglioline provenienti dall'apice del germoglio sono state raccolte da ciascun campione per l'estrazione del DNA genomico avvalendosi dell'utilizzo di un kit commerciale (Qiagen DNeasy Plant Kit). Il DNA estratto dai singoli campioni è stato poi sottoposto ad amplificazione tramite PCR a livello di 21 loci SSR nucleari, scelti sulla base del lavoro di Doligez e collaboratori (2006). Una lista completa dei 21 loci, delle sequenze delle rispettive coppie di primers, e della distribuzione sui cromosomi nel genoma di *Vitis vinifera* è presentata in Tabella 2. Il prodotto di amplificazione ottenuto è stato analizzato su sequenziatore ABI Prism® 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems - Life Technologies, Foster City, CA, USA). Ai singoli alleli individuati è stata attribuita una dimensione in bp tramite il software GeneMapper 3.10 (Applied Biosystems - Life Technologies). Le dimensioni definitive sono state

Tab. 1 - Elenco delle accessioni analizzate con relativa origine.
 Tab. 1 - List of analyzed accessions, source and references.

Campione	Codice	Provenienza
ROBOLA 1	RB01	Grecia ZANTE
ROBOLA 2	RB02	Grecia ZANTE
ROBOLA 3	RB03	Grecia KEFALLINIA
ROBOLA 4	RB04	AMPELOGRAPHICAL COLLECTION (University of Thessaloniki)
ROBOLA 5	RB05	AMPELOGRAPHICAL COLLECTION (University of Thessaloniki)
RB CLONE VCR 100	RB07	Collezione ampelografica VCR (Casa 40) AP8FIL7P3
RB CLONE VCR 405	RB08	Collezione ampelografica VCR (Casa 40) (3) AP16F4P1
RIBOLLA RS 1	RB16	Vivaio GENRRJEVO di STANISLAO RADIKON
RIBOLLA RS 2	RB17	
RIBOLLA RS 3	RB18	
RIBOLLA RS 4	RB19	Vivaio CENO di STANISLAO RADIKON
RIBOLLA RS 5	RB20	Vivaio di STANISLAO RADIKON
BELA GLERA 8/1	RB21	Collezione AMPELOCRAFSKI VRT KROMBERK (SLO)
BELA GLERA 5/6	RB22	Collezione AMPELOCRAFSKI VRT KROMBERK (SLO)
GLERA 1	RB23	Collezione AMPELOCRAFSKI VRT KROMBERK (SLO)
GLERA 2	RB24	Collezione AMPELOCRAFSKI VRT KROMBERK (SLO)
GLERA MEDENA	RB25	AMPELOCRAFSKI VRT KROMBERK (SLO)
REBULA true to type	RB26	AMPELOCRAFSKI VRT KROMBERK (SLO)
REBULA B5	RB27	Collezione NEBLON (SLO)
ROBOLA 6	RB37	Grecia KEFALONIA
ROBOLA 7	RB38	Grecia KEFALONIA
ROBOLA 8	RB39	Grecia KEFALONIA

attribuite in seguito a standardizzazione con varietà di riferimento (Barbera, Nebbiolo e Pinot nero).

Analisi dei dati

Il software *Identity 1.0* (Wagner and Sefc, 1999) è stato usato per calcolare il numero di alleli (n), i valori di eterozigosi attesa e osservata (H_e , H_o), la frequenza di alleli nulli (r) and la probabilità di identità (PI). Per comprendere il livello di similarità genetica tra i campioni di diversa provenienza, le frequenze alleliche ottenute dall'analisi con il software *Identity 1.0* sono state utilizzate per calcolare la distanza genetica (percentuale di alleli condivisi, PSA) tra le accessioni prese in esame utilizzando il software *MICROSAT 1.4d* (Minch *et al.*, 1997). La matrice delle distanze così ottenuta è stata utilizzata per ottenere un dendrogramma UPGMA tramite il pacchetto *PHYLIP 3.2* (Felsenstein, 1989).

Il software FaMoZ adattato alla vite è stato utilizzato al fine di individuare eventuali rapporti di parentela di primo grado tra i campioni analizzati. Per verificare la natura dei rapporti di parentela tra le accessioni considerate è stato utilizzato il software *ML-Relate*. Questo programma attribuisce un valore di

verosimiglianza (*likelihood*) per le principali relazioni di parentela basandosi su dati ottenuti da marcatori codominanti come i microsatelliti nucleari. *ML-Relate* è utile nel discriminare tra 4 delle più comuni relazioni di parentela: non imparentati (U), fratellastri (HS), fratelli (FS), genitore-figlio (PO). Per ognuna di queste categorie è attribuito un valore di verosimiglianza aiutando, in questo modo, a definire correttamente i rapporti di parentela, qualora ve ne siano, tra le accessioni considerate.

Risultati e discussione

L'analisi del profilo di 21 microsatelliti su un gruppo di 22 genotipi di Ribolla e Ribolla simili di differente provenienza ha prodotto un totale di 140 alleli. I loci VVMD28, VVIV67 e VVIH54 sono risultati essere più polimorfici, con rispettivamente un numero di loci pari a 12, 11 e 10, mentre il locus VVIN73 ($n = 2$) quello meno polimorfico (tab. 3). Sulla base delle frequenze alleliche, l'allele 184 bp al locus VMC1B11 è risultato essere quello maggiormente osservato con una frequenza all'elica di circa il 64%. Il valore medio di eterozigosi attesa (0,6956) è

Tab. 2 - Elenco delle coppie di primers SSR utilizzati, dei gruppi di associazione e dei riferimenti bibliografici.
 Tab. 2 - List of analysed SSR primers, linkage groups and references.

Gruppo di associazione	Locus SSR	Sequenza primer (5'→3')	Riferimenti
8	VMC1B11	F: CTTTGAAAATTCCTTCCGGGTT R: TATCAAAGCCACCCGTTCTCT	GI:90469634
12	VMC4F3-1	F: AAAGCACTATGGTGGGTGTA R: TAACCAATACATGCATCAAGGA	Di Gaspero <i>et al.</i> , 2000
7	VrZag62	F: GGTGAAATGGGCACCGAACACACGC R: CCATGTCTCTCCTCAGCTTCTCAG	Sefc <i>et al.</i> , 1998
5	VrZag79	F: AGATTGTGGAGGAGGGAACAAACCG R: TGCCCCATTTCAAACCCCTTCC	Sefc <i>et al.</i> , 1998
2	VVIB01	F: TGACCCTCGACCTAAAATCTT R: TGGTGAGTGCAATGATAGTAGA	Merdinoglu <i>et al.</i> , 2005
13	VVIH54	F: CCGCACTTGTGTTGAATTCAG R: CAAACCGTTTTACACCAGCAG	Merdinoglu <i>et al.</i> , 2005
18	VVIN16	F: ACCTCTATAAGATCCTAACCTG R: AAGGGAGTGTGACTGATATTC	Merdinoglu <i>et al.</i> , 2005
17	VVIN73	F: TACTCACCTAACAATACAGCT R: AATACATAAGGTGAAGATGCCT	Merdinoglu <i>et al.</i> , 2005
19	VVIP31	F: TATCCAAGAGACAAATCCCAC R: TTCTTTGTTTCTCGCAAATGG	Merdinoglu <i>et al.</i> , 2005
1	VVIP60	F: GGGGAATAACTAAATGAGGAT R: GTATGAATGCGGATAGTTGTG	Merdinoglu <i>et al.</i> , 2005
9	VVIQ52	F: TAAAAGGATGGTAGATGACAGA R: ACAGGAAAGTGTCAATGGTTA	Merdinoglu <i>et al.</i> , 2005
15	VVIV67	F: TATAACTTCTCATAGGGTTTCC R: TTGGAGTCCATCAAATTCATCT	Merdinoglu <i>et al.</i> , 2005
6	VVMD21	F: GGTGTCTATGGAGTTGATGTTGC R: GCTTCAGTAAAAGGGATTGCG	Bowers <i>et al.</i> , 1999 a
14	VVMD24	F: GTGGATGATGGAGTAGTCACGC R: GATTTAGTTTCATGTTGGTGAAGG	Bowers <i>et al.</i> , 1999 a
11	VVMD25	F: TTCCGTTAAAGCAAAGAAAAAGG R: TTGGATTGAAATTTATTGAGGGG	Bowers <i>et al.</i> , 1999 a
5	VVMD27	F: GTACCAGATCTGAATACATCCGTAAGT R: ACGGGTATAGAGCAAACGGTGT	Bowers <i>et al.</i> , 1999 a
3	VVMD28	F: AACAATTCAATGAAAAGAGAGAGAGAGA R: TCATCAATTCGTATCTCTATTGCTG	Bowers <i>et al.</i> , 1999 a
4	VVMD32	F: TATGATTTTTAGGGGGTGAGG R: GGAAAGATGGGATGACTCGC	Bowers <i>et al.</i> , 1999 a
16	VVMD5	F: CTAGAGCTACCCAATCCAA R: TATACAAAAATCATATTCCTAAA	Bowers <i>et al.</i> , 1996
7	VVMD7	F: AGAGTTGCGGAGAACAGGAT R: CGAACCTTCACACGCTTGAT	Bowers <i>et al.</i> , 1996
5	VVS2	F: CAGCCCGTAAATGTATCCATC R: AAATTCAAATTCATCAACTGG	Thomas and Scott, 1993

minore di quello relativo all'eterozigosi osservata (0,7229), confermando la possibile origine comune di queste accessioni (Sefc *et al.*, 2000). Il valore di PI calcolato su tutti i loci analizzati è pari a 1.0193×10^{-16} , dimostrando un'alta capacità discriminante di questo gruppo di marcatori molecolari per il gruppo di campioni preso in esame. Il locus VVIV67 risulta essere quello con un maggiore grado discriminante (PI = 0,0436), mentre VVIN73 quello con un valore di PI maggiore (0,7377) (tab. 3). In questo lavoro, la

frequenza di alleli nulli è risultata positiva per i loci VMC1B11, VMC4F3, VVIB01, VVIH54, VVIP31, VVLN16, VVMD24, VVMD25 e VVMD32, suggerendo un'assenza di alleli nulli (tab. 3).

Le analisi molecolari hanno evidenziato profili allelici identici, riconducendo le 22 accessioni analizzate ad un totale di 11 genotipi (fig. 1). Tra le accessioni reperite nel territorio italiano sono stati identificati 3 genotipi (genotipo 1: RB07; genotipo 2: RB08; genotipo 3: RB16-17-18-19-20), 4 tra quelle slovene

Tab. 3 - Valori relativi al numero di alleli osservati (n), percentuale dell'eterozigosi osservata ed attesa (He, Ho), frequenza di alleli nulli (r) e probabilità di identità (PI) per ogni locus analizzato.

Tab. 3 - Values of number of observed alleles (n), heterozygosity observed and expected percentage (He, Ho), null alleles frequency (r) and probability of identity (PI) for each analysed locus.

Locus	n	He	Ho	r	PI
VMC1B11	5	0.5496	0.3636	0.1200	0.3160
VMC4F3	8	0.6570	0.5455	0.0673	0.2016
VrZag62	7	0.8099	0.8182	-0.0046	0.1154
VrZag79	9	0.8388	10.000	-0.0876	0.0817
VVIB01	5	0.7149	0.5455	0.0988	0.1916
VVIH54	10	0.8347	0.8182	0.0090	0.0760
VVIN73	2	0.1653	0.1818	-0.0142	0.7377
VVIP31	8	0.8099	0.7273	0.0457	0.1049
VVIP60	5	0.6074	0.6364	-0.0180	0.2490
VVIQ52	4	0.6074	10.000	-0.2442	0.3762
VVIV67	11	0.8884	0.9091	-0.0109	0.0436
VVLN16	4	0.6653	0.6364	0.0174	0.2954
VVMD21	5	0.6488	0.8182	-0.1028	0.3127
VVMD24	4	0.5909	0.5455	0.0286	0.2991
VVMD25	8	0.7810	0.7273	0.0302	0.1301
VVMD27	6	0.6612	0.8182	-0.0945	0.2549
VVMD28	12	0.8760	10.000	-0.0661	0.0495
VVMD32	8	0.7893	0.6364	0.0855	0.1290
VVMD5	8	0.7727	0.9091	-0.0769	0.1447
VVMD7	6	0.6529	0.7273	-0.0450	0.2141
VVS2	5	0.6860	0.8182	-0.0784	0.2037

(genotipo 1: RB21; genotipo 2: RB22-23; genotipo 3: RB25; genotipo 4: RB24-26-27) e 6 tra i campioni provenienti dalle isole Ionie (genotipo 1: RB01; genotipo 2: RB02-03; genotipo 3: RB04; genotipo 4: RB05; genotipo 5: RB37; genotipo 6: RB38-39). Inoltre, è stata riscontrata omologia tra alcuni dei genotipi delle differenti zone di reperimento dei campioni: le accessioni di Ribolla RS1-2-3-4-5, genotipo 3 delle accessioni italiane, hanno evidenziato un profilo allelico identico ai campioni Glera 2, Rebula e Rebula R5, genotipo 4 delle accessioni slovene, riconducendo questo gruppo di accessioni al genotipo true type; mentre l'accessione RB clone VCR 405, genotipo 2 italiano, presenta un'identità genetica con il campione Robola 4, genotipo 3 delle isole Ionie.

Dal confronto di tale profilo con i dati di letteratura a nostra disposizione è emersa la perfetta corrispondenza tra la nostra accessione Bela Glera 1 (RB21) e quella riportata nel lavoro di Stajner e collaboratori (2008) sulla base del confronto delle lunghezze di 8 loci microsatellite (VrZag62, VrZag79, VVMD5, VVMD7, VVMD24, VVMD25, VVMD32, VVS2). Differentemente, non è stata evidenziata nessuna corrispondenza tra i campioni Rebula e Rebula R5 e l'accessione indicata nel lavoro come Rebula.

Dall'analisi filogenetica sono stati identificati 7 gruppi. Il primo raggruppamento comprende le accessioni slovene RB21, RB22 e RB23; il secondo gruppo comprende l'accessione RB25 proveniente dalla Slovenia; nel terzo sono presenti le accessioni greche RB04, RB05, RB37, RB38 e RB39 e l'accessione italiana RB08; il quarto gruppo è composto da 3 accessioni slovene, RB24, RB26 e RB27, da 5 accessioni italiane, RB16, RB17, RB18, RB19 e RB20, e da 2 accessioni provenienti dalla Grecia, RB02 e RB03; nel quinto raggruppamento è presente l'accessione italiana RB07 e nel sesto quella greca RB01 (fig. 1).

I raggruppamenti ottenuti dall'analisi a cluster non sembrerebbero evidenziare una stretta correlazione con i 3 areali di distribuzione di queste accessioni, a conferma dell'ipotesi dell'origine comune di queste accessioni e di eventuali fenomeni di introgressione genetica a cui sono probabilmente state sottoposte. Il grado di similarità genetica tra le accessioni prese in considerazione risulta molto basso, il quarto cluster sembrerebbe essere quello più omogeneo, con un elevato

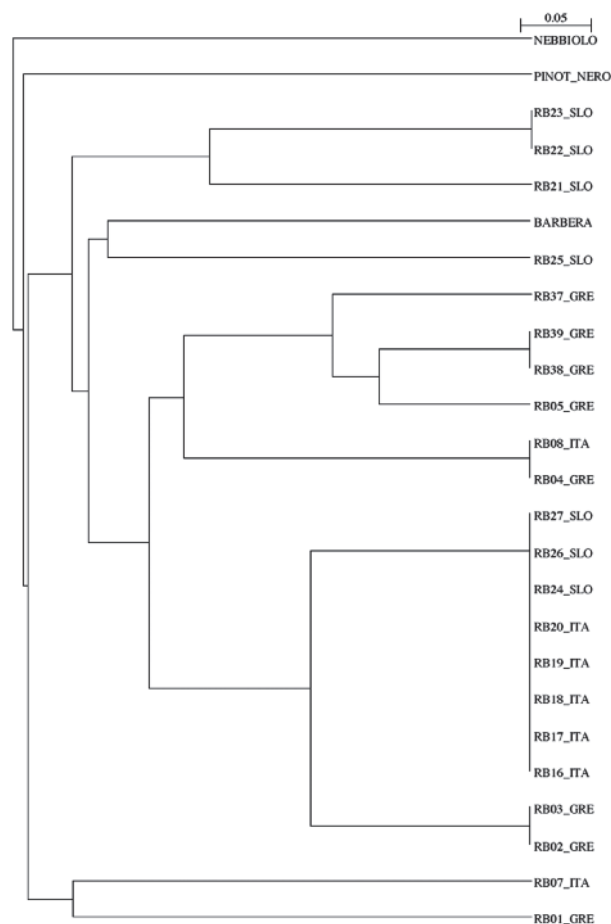


Fig. 1 - Dendrogramma di tipo UPGMA ottenuto dall'analisi dei profili allelici di 21 loci SSR.

Fig. 1 - UPGMA dendrogram generated using allelic profiles of 21 SSR loci.

valore di similarità genetica (1-percentuale di alleli condivisi = 0,85). I campioni RB07 e RB01 hanno evidenziato una minore similarità con le restanti accessioni analizzate, con solo il 60% di omologia. Le varietà Barbera, Nebbiolo e Pinot nero, inserite nell'analisi come outgroup, presentano un basso grado di similarità genetica, evidenziando una bassa correlazione con il gruppo di campioni preso in esame.

La verifica degli eventuali rapporti di parentela ha messo in luce una relazione di tipo FS per i campioni RB16-17-18-19-20 e RB24-26-27 con i campioni RB02-03, queste accessioni condividono 31 alleli su 44. Altre relazioni di tipo FS sono state riscontrate tra le coppie di campioni RB37/RB05, RB38-39/RB05 e RB37/RB38, condividendo rispettivamente il 63%, il 75% e 73% di alleli. Relazioni di tipo HS sono state riscontrate tra la coppia RB22-23/RB21, con il 52% alleli condivisi. Non sono state evidenziate relazioni di tipo padre/figlio tra il gruppo di campioni preso in esame, indice che l'origine di questi genotipi è da rintracciare in varietà differenti da quelle analizzate in questo contesto. Inoltre, il campione RB25 potrebbe essere correlato alla varietà Rebula indicata da Stajner *et al.* (2008) da una relazione PO, in quanto sembrerebbe condividere almeno un allele per gli 8 loci microsatelliti in comune (VrZag62, VrZag79, VVMD5, VVMD7, VVMD24, VVMD25, VVMD32, VVS2).

Al fine di delimitare quale tra le tre aree di attuale coltivazione di questo vitigno possa essere la più probabile zona di origine, la Ribolla gialla *True to type* e i genotipi ad essa più vicini sono stati messi a confronto con i profili molecolari di varietà coltivate nelle regioni di provenienza e con quelli delle varietà internazionali più diffuse. Dall'analisi filogenetica è emersa una forte correlazione tra il vitigno e le varietà autoctone del territorio Sloveno e Friulano (dati non riportati), infatti, il dendrogramma ottenuto dall'analisi a *cluster* ci ha permesso di evidenziare 2 gruppi principali, il gruppo comprendente le varietà internazionali, come Cabernet Sauvignon, Merlot, Pinot nero, Riesling, Sangiovese e Syrah, utilizzate come varietà outgroup, e quello comprendente la Ribolla gialla *true to type* e le varietà austriache, friulane e slovene. Questi risultati ci hanno permesso di ipotizzare sull'esistenza di varietà, provenienti da queste zone e da quelle immediatamente confinanti, correlate da relazioni di parentela di primo grado con la varietà Ribolla gialla, al fine di ampliare le nostre conoscenze sull'origine di questo vitigno. Tra i genotipi presi in considerazione, è stata data maggiore considerazione alla varietà Gouais blanc, un vitigno molto diffuso in epoca medievale nel nord-est della

Francia, occupando la maggior parte dei vigneti (Viala and Vermorel, 1910), pur non costituendo una varietà indigena francese, infatti il termine Gouais blanc risulta essere sinonimo della varietà Heunisch weiss, ampiamente coltivato in passato in Europa centrale e soprattutto in Dalmazia. Le vicende storiche legate a questa varietà fanno ipotizzare ad una possibile importazione di questo vitigno ad opera dei Galli dalle regione dell'Est europeo a quelle della Francia (Bowers *et al.*, 1999b). Le prime analisi molecolari, effettuate sul set di 21 loci microsatelliti utilizzati per l'analisi dei campioni di Ribolla e Ribolla simili, hanno messo in evidenza una relazione di primo grado di tipo PO tra il genotipo Ribolla gialla *true to type* e la varietà Gouais blanc. Sulla base di questi risultati preliminari, è stata ampliata la piattaforma di loci indagati fino ad un totale di 42. La relazione di parentela PO è mantenuta anche in seguito a queste ulteriori analisi, infatti, per tutti i loci presi in considerazione Ribolla gialla *true to type* e Gouais blanc risultano avere almeno un allele in comune per locus.

Conclusioni

I risultati ottenuti da questo lavoro ci permettono di avanzare delle ipotesi sulla zona di origine del vitigno Ribolla e le tappe che ne hanno permesso la diffusione in areali differenti. L'ipotesi più accreditata suppone che la Rebula possa derivare da una Ribolla introdotta in Grecia e Dalmazia dai Veneziani. L'elevato grado di dissimilarità evidenziato tra le varietà reperite nell'areale italo-sloveno, l'omogeneità di alcune accessioni greche, l'individuazione di campioni italiani con un profilo allelico simile sia a quello dei campioni sloveni sia a quello dei campioni greci, i rapporti di parentela individuati tra campioni provenienti dal territorio italiano e sloveno e l'elevata correlazione tra i campioni di Ribolla e le varietà italo-slovene lasciano spazio all'ipotesi di una possibile esportazione del vitigno dall'Europa centro-orientale alle isole greche, dove potrebbe aver dato origine alle accessioni attuali in seguito all'incrocio con varietà presenti in queste zone. L'identificazione di uno dei parentali della varietà Ribolla gialla *true to type* ci hanno permesso di definire meglio le relazioni che intercorrono tra le accessioni analizzate e concedere maggiore credito all'ipotesi dell'origine italo-slovena di questa varietà. Indagini aggiuntive sull'identificazione di varietà, presenti nell'Europa centro-orientale, correlate da rapporti di parentela di tipo padre-figlio potranno confermare questa ipotesi.

Riassunto

La Ribolla è il vitigno che più ha accompagnato la storia del popolo friulano negli ultimi 700 anni.

Un aspetto interessante della storia di questo vitigno riguarda la presenza di varietà coltivate che portano nella loro denominazione una forte assonanza con la Ribolla. È il caso, ad esempio, della Rebula e della Robola coltivate rispettivamente nella Brda Slovena e nelle isole Ionie a partire, pare, dall'epoca Medievale. In questo lavoro si è voluto verificare se le omonimie riscontrate avessero un fondamento anche dal punto di vista genetico. Per tale ragione si è deciso di selezionare un pool di 30 vitigni diversi per provenienza, analizzati a livello di 21 loci SSR. I risultati hanno mostrato come esistano effettivamente delle somiglianze a livello genetico tra le accessioni studiate incoraggiando un approfondimento della ricerca in direzione dell'identificazione di eventuali rapporti di parentela con vitigni tradizionali delle aree di coltivazione della Ribolla, Robola e Rebula.

Parole chiave: *Vitis vinifera*, sinonimi, microsatelliti, SSR.

Bibliografia

- BOWERS J.E., DANGEL G.S., VIGNANI R., MEREDITH C.P., 1996. *Isolation and characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci in grape (Vitis vinifera L.)*. Genome, 39: 628-633.
- BOWERS J., BOURSQUOT J.M., THIS P., CHU K., JOHANSSON H., MEREDITH C., 1999a. *Historical genetics: The parentage of Chardonnay, Gamay, and other wine grapes of northeastern France*. Science, 285: 1562-1565.
- BOWERS J.E., DANGL G.S., MEREDITH C.P., 1999b. *Development and characterization of additional microsatellite DNA markers for grape*. American Journal of Enology and Viticulture, 50: 243-246.
- DI GASPERO G., PETERLUNGER E., TESTOLIN R., EDWARDS K.J., CIPRIANI G., 2000. *Conservation of microsatellite loci within the genus Vitis*. Theoretical & Applied Genetics, 101: 301-308.
- DOLIGEZ A., ADAM-BLONDON A.F., CIPRIANI G., DI GASPERO G., LAUCOU V., MERDINOGLU D., MEREDITH C.P., RIAZ S., ROUX C., THIS P., 2006. *An integrated SSR map of grapevine based on five mapping populations*. Theoretical & Applied Genetics, 113: 369-382.
- FELSENSTEIN J., 1989. *PHYLIP - Phylogeny Inference Package (Version 3.2)*. Cladistics, 5:164-166.
- MERDINOGLU D., BUTTERLIN G., BEVILACQUA L., CHIQUET V., ADAM-BLONDON A.F., DECROOQ S., 2005. *Development and characterization of a large set of microsatellite markers in grapevine (Vitis vinifera L.) suitable for multiplex PCR*. Molecular Breeding 15: 349-366.
- MINCH E., RUIZ-LINARES A., GOLDSTEIN D.B., FELDMAN M., CAVALLI-SFORZA L.L., 1997. *Microsat (version 1.4d): a computer program for calculating various statistics on microsatellite allele data*. University of Stanford: Stanford, California.
- SEFC K.M., REGNER F., GLOSSL J., STEINKELLNER H., 1998. *Genotyping of grapevine and rootstock cultivar using microsatellite markers*. Vitis, 37: 15-20.
- SEFC K.M., LOPES M.S., LEFORT F., BOTTA R., ROUBELAKIS-ANGELAKIS K.A., IBANEZ J., PEJIC I., WAGNER H.W., GLÖSSL J., STEINKELLNER H., 2000. *Microsatellite variability in grapevine varieties from different European regions and evaluation of assignment testing to assess the geographic origin of varieties*. Theor Appl Genet 100: 498-505.
- STAINER N., KOROSK-KORUZA Z., RUSJAN D., JAVORNIK B., 2008. *Microsatellite genotyping of old Slovenian grapevine varieties (Vitis vinifera L.) of the Primorje (coastal) winegrowing region*. Vitis 47: 201-204.
- THOMAS M.R., SCOTT N.S., 1993. *Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphism when analyzed as sequence-tagged sites (STSs)*. Theoretical & Applied Genetics, 86: 985-990.
- VIALA P., VERMOREL V. 1910. *Ampelographie*. Volumes I-VII. Masson, Paris.
- WAGNER H.W., SEFC K.M., 1999. *IDENTITY 1.0*. Centre for Applied Genetics, University of Agricultural Sciences, Vienna, Austria.