

Il caso Gropello della Val di Non chiarito con le analisi del DNA

Grazie al confronto di marcatori microsatelliti è stata risolta la confusione tra alcuni Gropelli diffusi nel Bresciano e il Gropello coltivato in Val di Non, che risulta essere un vitigno con profilo genetico caratteristico differente

Laura Costantini, Italo Roncador, M. Stella Grando

Il nome «Gropello» è stato attribuito – in forma storicamente documentata a partire dal XVI secolo – a vitigni molto dissimili tra loro, aventi in comune il grappolo compatto, di forma cilindro-conica con ali poco o per niente pronunciate, e gli acini serrati.

L'etimologia di tale termine sembra derivare da «grop» o «gropo» che, in dialetto veneto, significa appunto nodo.

In passato i Gropelli erano coltivati soprattutto in Veneto (Vicenza, Verona, Treviso), in Trentino (Val di Non) e in Lombardia (Brescia e Bergamo). Essi sono stati però progressivamente sostituiti da vitigni maggiormente apprezzati. Ciononostante, in Trentino – dove il Gropello (foto 1) è ancora presente in pochi appezzamenti della Val di Non localizzati sulla cosiddetta «Terza Sponda», presso i comuni di Cagnò, Revò e Romallo (foto 2) – si è potuto assistere negli ultimi anni a un risveglio di interesse nei suoi confronti.

Tale attenzione si è manifestata con varie iniziative, tra le quali possono essere citate, a titolo di esempio: la costituzione dell'associazione «Amici del Gropello», la realizzazione di diversi incontri, in cui è emersa – anche a livello istituzionale – la volontà di valorizzare questa coltivazione e l'attivazione da parte dell'Istituto agrario di San Michele all'Adige di un progetto che si inserisce nel programma nazionale per la tutela della biodiversità, finalizzato alla salva-

guardia del «Gropello della Val di Non».

Questo interesse è giustificato dal fatto che il Gropello noneso rappresenta verosimilmente una delle poche varietà autoctone locali.

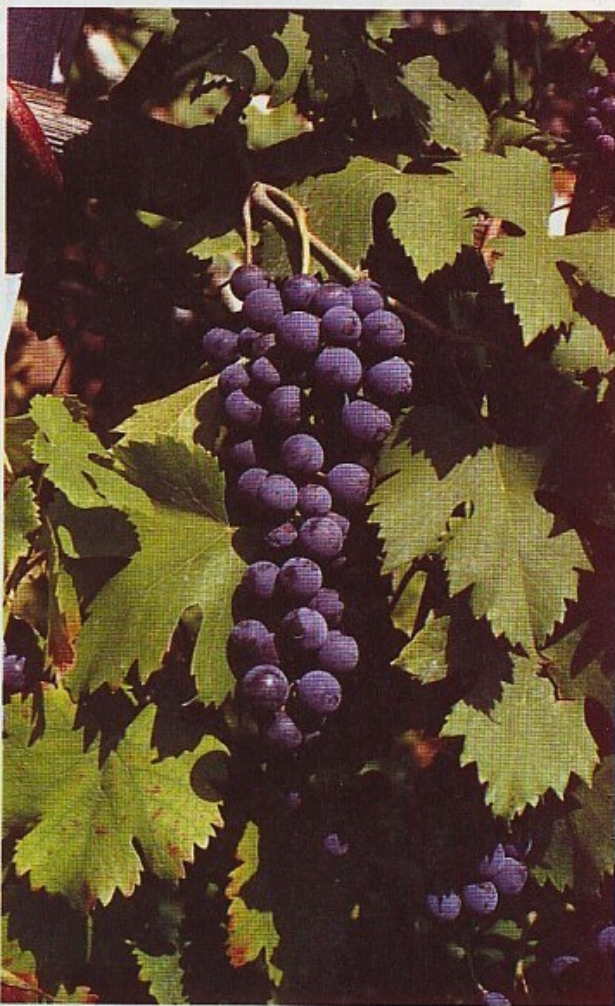


Foto 1 - Gropello di Revò

Per molti anni in Trentino esso ha influenzato positivamente l'economia della «Terza Sponda», soprattutto tra la fine del 1800 e l'inizio del 1900. Fino al termine della I Guerra mondiale la Val di Non ha costituito un'importante zona viticola dell'Impero austro-ungarico e il suo vitigno principale era rappresentato appunto dal Gropello. A partire dagli anni 20 vari fattori hanno determinato il progressivo abbandono di questa coltura: le crittogame, la fillossera, il passaggio della regione all'Italia, la formazione del lago di Santa Giu-

stina in seguito alla costruzione dell'omonima diga. Il crescente sviluppo della frutticoltura negli ultimi 30 anni ha fissato ulteriormente la contrazione della coltura viticola. Di conseguenza, la produzione di Gropello ha subito un calo drastico, passando dai 47.000 hL degli anni 1910-1914 ai 400 hL del 2000 (tre quarti dei quali ottenuti a Revò).

Al momento attuale il Gropello della Val di Non non è una varietà autorizzata per la trasformazione ma sono in corso le procedure per ottenerne l'iscrizione al Registro nazionale delle varietà di vite, nel quale già figurano altri Gropelli: il Gropello di Mocasina, il Gropello gentile e quello di S. Stefano.

Nel tempo, i vari Gropelli sono stati identificati in base alle loro caratteristiche fenotipiche, acquistando in molti casi nomi variabili a seconda della regione geografica di coltivazione. Ciò ha creato, come si può facilmente immaginare, una certa confusione.

I casi che abbiamo giudicato più interessante chiarire in questo lavoro riguardano, da una parte, il Gropello di S. Stefano, ritenuto da alcuni autori coincidente con il Gropello della Val di Non e da altri con quello di Mocasina (foto 3), dall'altra, il Gropello gentile e il Grop-

pellone, che rappresentano presumibilmente la stessa varietà.

I GropPELLI sopracitati sono stati, quindi, sottoposti ad analisi molecolare, allo scopo di definirne le reciproche relazioni.

Un approccio di questo tipo, basato sull'analisi del DNA, permette di ottenere un profilo genetico unico del materiale in esame, se questo è derivato da semi diversi, che può essere utilizzato per l'identificazione specifica. Lo stesso risultato non può essere assicurato dai tradizionali approcci descrittivi delle cultivar basati su ampelografia e ampelometria che, fondandosi sull'osservazione di caratteri fenotipici, possono essere influenzati da fattori ambientali, di sviluppo e dalla soggettività dell'analisi.

Tra le tecniche che utilizzano marcatori del DNA per la caratterizzazione varietale e la definizione di relazioni genetiche tra i vitigni, la più informativa si basa sui marcatori molecolari microsatelliti. Si tratta di sequenze di DNA genomico ripetute in tandem di lunghezza variabile (aventi unità ripetitive lunghe da 1 a 4 nucleotidi), che possono essere analizzate mediante l'amplificazione via PCR (*Polimerase Chain Reaction* - reazione a catena della polimerasi) utilizzando primers specifici per le regioni fiancheggianti.

I microsatelliti presentano alcune caratteristiche che li rendono strumenti potenti nell'identificazione varietale, oltre che in altre applicazioni quali la determinazione di relazioni genetiche, gli studi di popolazione e la mappatura genetica: l'elevato polimorfismo, la locus-specificità, la stabilità somatica, l'eredità di tipo codominante, la distribuzione casuale e frequente nel genoma. Il ricorso all'analisi dei marcatori microsatelliti per un'accurata caratterizzazione delle varietà di vite è sempre più diffuso. Esso è giustificato - come vari studi hanno dimostrato - dalla loro riproducibilità, dall'elevato potere discriminante che li rende capaci di distinguere in modo non ambiguo sementali molto simili, dalla semplicità e rapidità dell'analisi nonché dalla possibilità di scambiare sequenze e risultati.

Materiali e metodi

I ventidue campioni di GropPELLO che sono stati sottoposti ad analisi molecolare vengono riportati in *tabella 1*. Essi provengono da vigneti localizzati in Trentino (Val di Non) e nel bresciano (Valtenesi).

In tutti i casi, eccetto quello del GropPELLO di Mocasina, il materiale da



Foto 2 - Vigneti di Revò, verso il ponte Castelaz

analizzare è stato prelevato da più individui appartenenti putativamente alla stessa varietà, coltivati in diverse aziende o di diversa età.

L'estrazione del DNA dai 22 campioni è stata effettuata seguendo il protocollo messo a punto da Doyle e Doyle (1990), con le modifiche apportate da Steenkamp *et al.* (1994). Il confronto tra i campioni è stato eseguito su nove loci microsatelliti.

In questo modo, è stata assegnata a ogni individuo la taglia degli alleli amplificati a ogni locus microsatellite, vale a dire la lunghezza espressa in paia di basi (bp). Il confronto dei profili genetici (genotipi) dei vari individui ai nove loci microsatelliti esaminati in questo studio ha permesso di evidenziare i casi di identità e di valutare possibili relazioni genetiche tra i campioni risultati diversi.

Risultati e discussione

La bibliografia relativa ai GropPELLI è piuttosto vasta.

La fonte italiana più antica è rappresentata dal bresciano Agostino Gallo (1550), che è stato il primo a citare le uve «GropPELLE», includendo in questo gruppo anche uve bianche.

Tabella 1 - Campioni analizzati

Varietà	Provenienza	Sigla
GropPELLO di Revò (della Val di Non)	Revò - Val di Non	GR-R 2, 3, 4, 6, 10, 13, 14, 15, 16, 17, 22, 27; GB1, GB2
GropPELLO di Mocasina	Azienda Comincioli - Valtenesi	F. 15, V. 4
GropPELLO di S. Stefano	Istituto Sper. Vitic. Conegliano	GS 1
GropPELLO di S. Stefano	Azienda Comincioli - Valtenesi	GS 2
GropPELLO gentile	Azienda Franzoni - Valtenesi	F. 1, V. 4
GropPELLO gentile	Azienda Pasini, Valtenesi (origine Vivai Coop. Rauscedo)	F. 4, V. 3
GropPELLONE	Azienda Pasini, Valtenesi	F. 13, V. 2
GropPELLONE	Azienda Comincioli, Valtenesi	GP1, GP2

Le notizie successive vengono fornite da Andrea Bacci (fine XV secolo), il quale fa riferimento a un GropPELLO diffuso nel bresciano, simile per la compattezza del grappolo alle «Pignole», che dava un vino gradevole e potente esportato dentro otri in Germania.

Numerose sono le successive citazioni sui GropPELLI che risalgono soprattutto al XIX secolo.

Il lavoro più significativo è, comunque, quello realizzato da Italo Cosmo e Fabio Sardi sul GropPELLO di S. Stefano e sul GropPELLO gentile che è stato pubblicato nel 1964, all'interno del III volume sui «Principali vitigni da vino coltivati in Italia», a cura del Ministero dell'agricoltura e foreste.

In questo testo sono presenti, oltre alle schede descrittive dei due vitigni, alcune citazioni bibliografiche (tra cui anche quelle di Gallo e Bacci) e considerazioni sui vari GropPELLI, compresi quello della Val di Non e il GropPELLONE.

Prima di presentare i risultati dell'a-

Analisi dei marcatori del Dna

I ventidue campioni sono stati confrontati ai seguenti nove loci microsatelliti: VVS2 (Thomas e Scott, 1993), VVMD5, VVMD7 (Bowers *et al.*, 1996), VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD31 (Bowers *et al.*, 1999), *ssrVrZAG62* e *ssrVrZAG79* (Sefc *et al.*, 1999).

La mix per la reazione di PCR era costituita da circa 100 ng di DNA genomico, 1,5 mM di MgCl₂ (1mM con i primers VVMD25, VVMD28 e VVMD31), 100 µM di ogni dNTP, 0,2 µM di ogni primer e, infine, 0,5 U di Taq DNA polimerasi (Bioline). Uno dei primers di ogni coppia era marcato in modo fluorescente con fosforamiditi (HEX, 6-FAM e TET, Abi Prism).

Le reazioni di PCR sono state effettuate usando due tipi di termociclatore: Gene Amp PCR System 9600 (Perkin Elmer) e T3 Thermocycler (Biometra). In entrambi i casi le condizioni di reazione erano le seguenti: 5 minuti di denaturazione a 95 °C, 30

cicli di denaturazione (45 secondi a 94 °C), annealing (30 secondi a 50 °C), estensione (1 minuto e 30 secondi a 72 °C) in presenza dei primers VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, *ssrVrZAG62* e *ssrVrZAG79* e 35 cicli di denaturazione (45 secondi a 94 °C), annealing (45 secondi a 56 °C), estensione (1 minuto a 72 °C) in presenza dei primers VVMD25, VVMD28 e VVMD31; 7 minuti finali di estensione a 72 °C.

L'avvenuta amplificazione è stata verificata correndo 6 µL di prodotto PCR su gel di agarosio all'1,5%, successivamente colorato con bromuro di etidio.

I frammenti di DNA sono stati poi sottoposti ad analisi in elettroforesi capillare, utilizzando il sequenziatore genetico automatico ABI Prism 310 con il software GeneScan (2.1), il polimero POP-4 e lo standard interno TAMRA.

analisi molecolare da noi effettuata, riportiamo qui di seguito alcuni passi tratti dal lavoro di Cosmo e Sardi per dare un'idea della confusione generata dall'attribuzione di numerosi nomi diversi al Groppello.

«Questo Groppello della Val di Non è comunque risultato lo stesso che sotto il nome di Groppello di S. Stefano si ritrova in provincia di Brescia.

Un competente tecnico del luogo, il prof. Ricchini, che per molti anni operò nella zona di Salò, parla infatti di un Groppello nero: vitigno fondamentale della Valtènesi, del quale se ne distinguono due tipi, uno chiamato Groppello gentile (in dialetto anche "fino" oppure Groppello moliner per il colore più chiaro dei suoi tralci) e l'altro Groppellone, che sarebbe il più diffuso perché il più rustico. Dai caratteri ampelografici che il Marzotto riporta, questo Groppellone non sarebbe altro che una modificazione ambientale del Groppello della Val di Non, nel bresciano divenuto a un certo momento Groppello di S. Stefano. E poiché dai nostri rilievi in sito il Groppellone sarebbe invece risultato una modificazione del Groppello gentile non si esclude che si sia creata

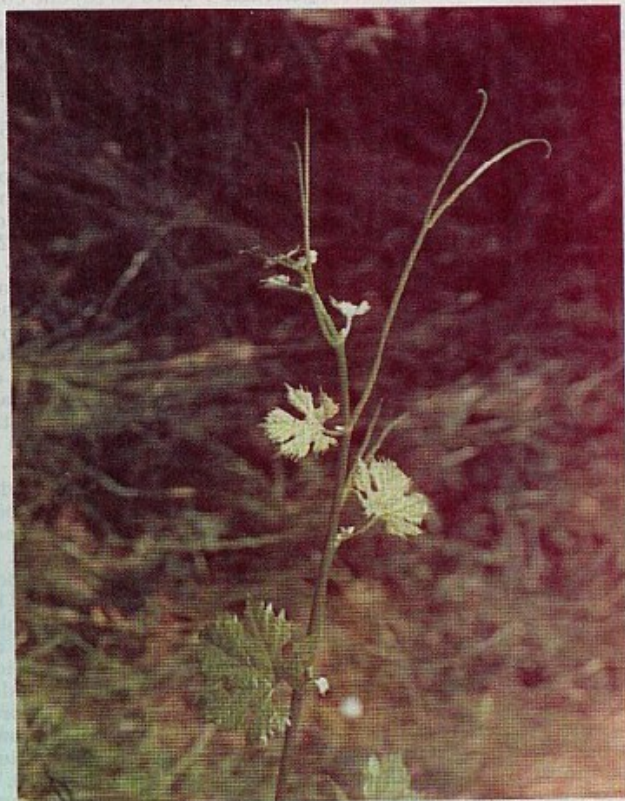
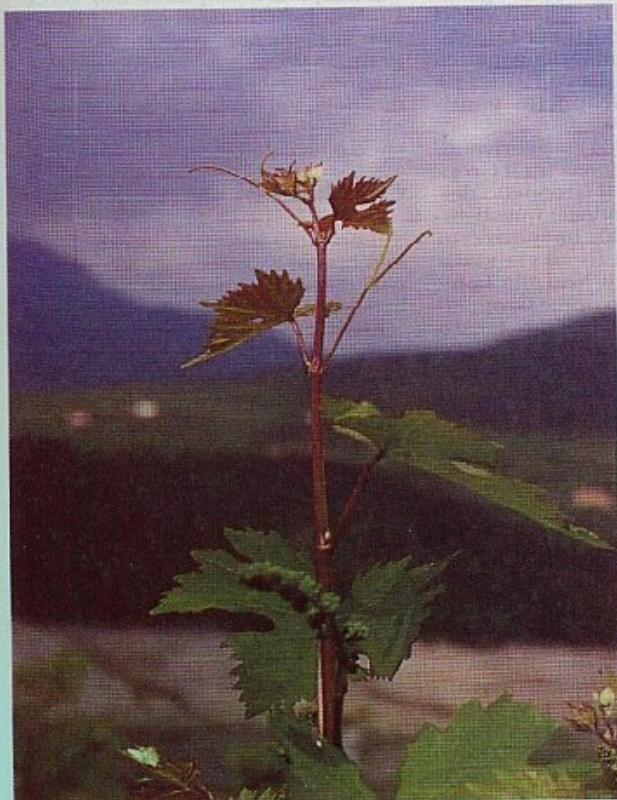


Foto 3 - Confronto tra gli apici del Groppello di Revò e quello di Mocasina

Tabella 2 - Genotipi dei campioni in esame ai loci microsatelliti indicati

Varietà	Campioni (sigla)	Loci microsatelliti (*)																	
		VVS2	VVMS5	VVMD7	VVMD25	VVMD27	VVMD28	VVMD31	VrZAG62	VrZAG79									
Groppello di Revò (della Val di Non)	GR-R 2-4, 6, 10, 13-17, 22, 27	130	140	225	235	237	247	239	253	177	183	226	266	209	213	194	199	249	-
	GB1, GB2	130	40	225	235	237	247	239	253	177	183	226	266	209	213	194	199	249	-
Groppello di Mocasina	F. 15, V. 4	130	154	223	-	245	251	241	247	183	191	234	246	207	209	194	-	238	249
	GS 1	130	154	223	-	245	251	241	247	183	191	234	246	207	209	194	-	238	249
Groppello di S. Stefano	GS 2	130	154	223	-	245	251	241	247	183	191	234	246	207	209	194	-	238	249
	F. 1, V. 4	140	154	223	-	245	251	241	253	183	-	234	242	209	213	194	203	238	249
Groppello gentile	F. 4, V. 3	140	154	223	-	245	251	241	253	183	-	234	242	209	213	194	203	238	249
	F. 13, V. 2	140	154	223	-	245	251	241	253	183	-	234	242	209	213	194	203	238	249
Groppellone	F. 13, V. 2	140	154	223	-	245	251	241	253	183	-	234	242	209	213	194	203	238	249
	GP1, GP2	140	154	223	-	245	251	241	253	183	-	234	242	209	213	194	203	238	249

(*) Lunghezza degli alleli nei diversi loci espressa in paia di basi.

col tempo una certa confusione, per cui certi viticoltori chiamano Groppello gentile quello che altri chiamano invece Groppello di S. Stefano e viceversa».

I risultati da noi ottenuti vengono riportati in *tabella 2*, sotto forma di lunghezza in paia di basi degli alleli individuati ai diversi loci per i campioni analizzati.

Essi rappresentano, come è già stato detto, il profilo genetico di ogni campione, in corrispondenza delle regioni microsatelliti indagate.

Questi dati ci hanno permesso di formulare le seguenti considerazioni relativamente alla similarità genetica tra i campioni analizzati.

■ Tutti i campioni provenienti dalla Val di Non (Revò), indicati come GR-R e GB, presentano lo stesso profilo caratteristico di marcatori molecolari, che li distingue dalle altre accessioni analizzate. Essi possono quindi essere considerati individui appartenenti alla stessa varietà. Risulta perciò opportuna l'attività di selezione clonale già avviata su questo materiale che possiamo chiamare Groppello di Revò.

■ Il Groppello gentile (F. 1, V. 4 e F. 4, V. 3) e il Groppellone (F. 13, V. 2; GP1 e GP2) costituiscono un'unica varietà. L'identità dei loro profili dimostra l'origine del materiale dallo stesso seme. Le due tipologie potrebbero dipendere da influenze delle diverse aree di coltivazione o essere imputate all'esistenza di diversi cloni.

Lo stesso risultato è riportato anche in *Villa et al. (1997)* e in *Scienza et al. (1999)*, dove vengono forniti per il Groppello gentile (vale a dire la varietà iscritta al Registro nazionale delle varietà di vite) i seguenti sinonimi: Groppello comune, Groppello fine per la tipologia a grappolo piccolo e Groppellone per quella a grappolo grande.

Questa varietà non mostra una stretta parentela con il Groppello di Revò, dal momento che risultano condivisi solo 7 alleli su 18 (38,9%).

■ Il Groppello di Mocasina (F. 15, V. 4)

coincide con il Groppello di S. Stefano. Anche in questo caso il risultato da noi ottenuto è in accordo con quanto riportato in *Villa et al. (1997)* e *Scienza et al. (1999)*, dove il Groppello di S. Stefano e il Groppello moliner vengono citati come sinonimi del Groppello di Mocasina. Il termine «moliner» (che significa mugaio, quindi infarinato, imbiancato) fa riferimento alla tomentosità dell'apice e della pagina inferiore della foglia che contraddistingue il Groppello di Mocasina dal Groppello gentile/Groppellone.

Il Groppello di Mocasina ha degli alleli in comune sia con il Groppello di Revò (5/18) che con il Groppello gentile/Groppellone (12/18). Questi valori possono essere tradotti per tale varietà in una bassa similarità genetica con il Groppello di Revò (27,8%) e maggiore con il Groppello gentile/Groppellone (66,7%).

Cosmo e Sardi (1964) suggerivano, invece, la corrispondenza tra il Groppello di S. Stefano e il Groppello della Val di Non. Rifacendosi a questi autori Giovannini (2000) ha ipotizzato che il Groppello di Revò sia stato esportato dalla Val di Non alla Lombardia e che lo stesso nome Groppello di S. Stefano potesse essere legato alla Val di Non (le chiese di Revò e Cloz sono, infatti, dedicate a S. Stefano; la campana maggiore della chiesa di Revò è chiamata «stefana» e, infine, uno dei rioni di Cloz è detto di S. Stefano).

L'incongruenza delle ipotesi riportate non dovrebbe, però, sorprendere se si considera che i nostri risultati, come quelli di *Villa et al. (1997)* e a differenza, invece, delle considerazioni fatte da Cosmo e Sardi (1964), sono supportati da dati molecolari.

È possibile fare, a questo punto, ancora alcune considerazioni relativamente all'origine delle varietà analizzate in questo lavoro:

■ in Val di Non sono presenti viti appartenenti alla varietà Groppello gentile. Va, comunque, detto che vi sono giunte dalla Lombardia per errore, in quanto acquistate come Groppello. Il

Groppello gentile è attualmente coltivato nella zona del bresciano, così come il Groppello di Mocasina. Entrambi vengono utilizzati per produrre il vino doc Garda classico. Essi sono annoverati tra i vitigni antichi della Lombardia (*Villa et al., 1997; Scienza et al., 1999*); ■ il Groppello di Revò rappresenta verosimilmente una varietà autoctona della Val di Non. Questo incoraggia il crescente interesse di cui è stato fatto oggetto negli ultimi tempi e può costituire uno stimolo alla salvaguardia e alla valorizzazione di tale risorsa che tendenzialmente rischia di andare persa.

L'auspicato ampliamento dell'attuale produzione di questo vitigno ben si inserisce, inoltre, in un programma volto a diversificare le produzioni agricole della «Terza Sponda» della Val di Non, promuovendone allo stesso tempo lo sviluppo agrituristico e turistico.

Conclusioni

Il presente lavoro ha inteso chiarire le relazioni genetiche tra alcuni Groppelli diffusi nel bresciano e il Groppello coltivato in Val di Non (Trentino).

Attraverso il confronto dei profili di marcatori del DNA, il Groppellone è stato confermato un sinonimo della varietà Groppello gentile. È inoltre emerso che il Groppello di Mocasina e quello di S. Stefano rappresentano la stessa varietà, pur essendo iscritti separatamente al Registro nazionale delle varietà di vite e che il Groppello di Revò (Val di Non) è un vitigno con un profilo genetico caratteristico, differente dagli altri Groppelli esaminati.

**Laura Costantini
Italo Roncador
M. Stella Grando**

Centro sperimentale

Istituto agrario di San Michele all'Adige

Trento

E-mail: laura.costantini@ismaa.it

La bibliografia verrà pubblicata negli estratti.