Sommario

ISSN 1121-1423

ASSOCIAZIONE NATURALISTICA PIEMONTESE

Rivista Piemontese di Storia Naturale

Volume XXXVII - Anno 2016

ANP

Museo Civico F. Eusebio - Alba
Museo Civico Craveri di Storia Naturale - Bra
Museo Civico di Storia Naturale - Carmagnola

ISSN 1121-1423

ASSOCIAZIONE NATURALISTICA PIEMONTESE

Rivista Piemontese di Storia Naturale

Volume XXXVII - Anno 2016

ANP

Museo Civico F. Eusebio - Alba
Museo Civico Craveri di Storia Naturale - Bra
Museo Civico di Storia Naturale - Carmagnola

Astrid Pizzo* - Franco Rota** - Giacomo Olivero***

Analisi genetica condotta su alcune popolazioni piemontesi di *Vinca minor* L. tipica (Apocynaceae) e della sua varietà *atropurpurea* Sweet: studio di un processo evolutivo in atto

ABSTRACT - *Genetic analysis on some piedmontese populations of typical* Vinca minor *L. (Apocynaceae) and its variety* atropurpurea *Sweet: study of an evolutionary process in progress*.

Of the numerous floristic entities of the *Vinca* L. genus, the authors analyze in particular *Vinca minor* L., describing both the morphological characteristics and the habitat preferences, along with the diffusion zone. A more in-depth discussion is then carried out concerning the variant *Vinca minor atropurpurea* Sweet, detectable in the oak woods of the Rock of Campione (Cherasco), in the province of Cuneo, which constitutes, together with other examples of typical *Vinca* from the same site and other locations in Piedmont, the main topic of the research. The primary aim of the study is to verify whether a possible genetic difference exists between *Vinca minor atropurpurea* Sweet and other species of *Vinca*. The survey involved the analysis of the polymorphism of molecular markers of chloroplast and nuclear DNA. According to the overall results, only a slight, non-specific nuclear DNA polymorphism between the variants taken into consideration has been found. No difference of chloroplast gene sequencing was found. The evidence does not so far suggest that *Vinca minor* L. var. *atropurpurea* Sweet represents a new species of periwinkle.

KEY WORDS - Rocca del Campione, Bosco Crociato, Bosco delle Sorti della Partecipanza, Museo Civico Craveri di Storia Naturale, Università di Torino, SRAP, DNA.

RIASSUNTO - Fra le numerose entità del genere *Vinca* L., gli autori analizzano in particolare la *Vinca minor* L. di cui, oltre all'areale di diffusione, descrivono sommariamente sia le caratteristiche morfologiche sia le preferenze ambientali.

* Università degli Studi di Torino - Dipart. di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi
** Museo Civico Craveri di Storia Naturale - Bra. freurota@gmail.com
*** Liceo Scientifico Giolitti-Gandino - Bra

Segue una più approfondita trattazione della variante *Vinca minor* L. *atropurpurea* Sweet, presente nella cerreta della Rocca del Campione (Cherasco), sita in provincia di Cuneo, che costituisce, unitamente ad altri campioni di *Vinca* tipica provenienti sia dal medesimo sito sia da altre località piemontesi, l'oggetto primario della ricerca effettuata. Ci si propone infatti precipuamente di verificare fra di esse una eventuale difformità genetica. L'indagine ha comportato l'analisi del polimorfismo dei marcatori molecolari su DNA cloroplastico e nucleare: tuttavia, in base ai risultati complessivi ottenuti, tra gli individui presi in considerazione è possibile notare solamente un lieve polimorfismo aspecifico del DNA nucleare. Nessuna differenza a livello del sequenziamento dei geni cloroplastici è stata evidenziata. Al momento, non esistono presupposti sufficienti per suggerire che *Vinca minor* L. var. *atropurpurea* Sweet possa rappresentare una nuova specie di pervinca.

INTRODUZIONE

Alla famiglia delle Apocynaceae appartengono in Italia, secondo Pignatti (1982), piante erbacee e arbustive facenti capo ai generi *Trachomitum* Wood., *Nerium* L. e *Vinca* L.. Quest'ultimo, oltre a *Vinca major* L., *Vinca sardoa* (Stearn) Pign., *Vinca difformis* Pourret, comprende anche la ben nota e assai comune *Vinca minor* L. che, unitamente alla sua varietà *atropurpurea* Sweet, costituisce l'oggetto della presente ricerca.

Il suo areale di diffusione geografica più generale è essenzialmente centroeuropeo (fig. 1), poiché si estende dalle regioni orientali della penisola Iberica sino all'Ucraina e al Caucaso settentrionale, con esclusione quindi delle Isole Britanniche e della Scandinavia a nord e dei territori dei Balcani meridionali, della Grecia e della Turchia a sud. Tuttavia, essendo essa una pianta assai decorativa e resistente ai climi più rigidi, fu per molti secoli ed è tutt'oggi oggetto di intensa coltivazione; ciò ha comportato che in alcuni settori delle regioni sopracitate, anche esterne al predetto areale, la specie sia comunque presente, e ciò sia verosimilmente imputabile alla antica spontaneizzazione di esemplari sfuggiti a coltura. In Italia essa è ampiamente diffusa in tutto il territorio, ad esclusione della Sardegna, ma con spiccate preferenze ecologiche per le regioni meno calde; infatti predilige quasi sempre il sottobosco luminoso, oltre che le ripe e gli erbosi freschi ben drenati e scarsamente soleggiati.

Si tratta di una pianta erbacea perenne la cui forma biologica è quella delle camefite reptanti (Ch rept), essenze con gemme perennanti poste a non più di 20 cm dal suolo; ha portamento strisciante con rizomi prostrati da cui originano sia fusti eretti recanti i fiori sia fusti sterili, lunghi fino ad un metro, che ospitano esclusivamente foglie e che radicano ai nodi sul ter-

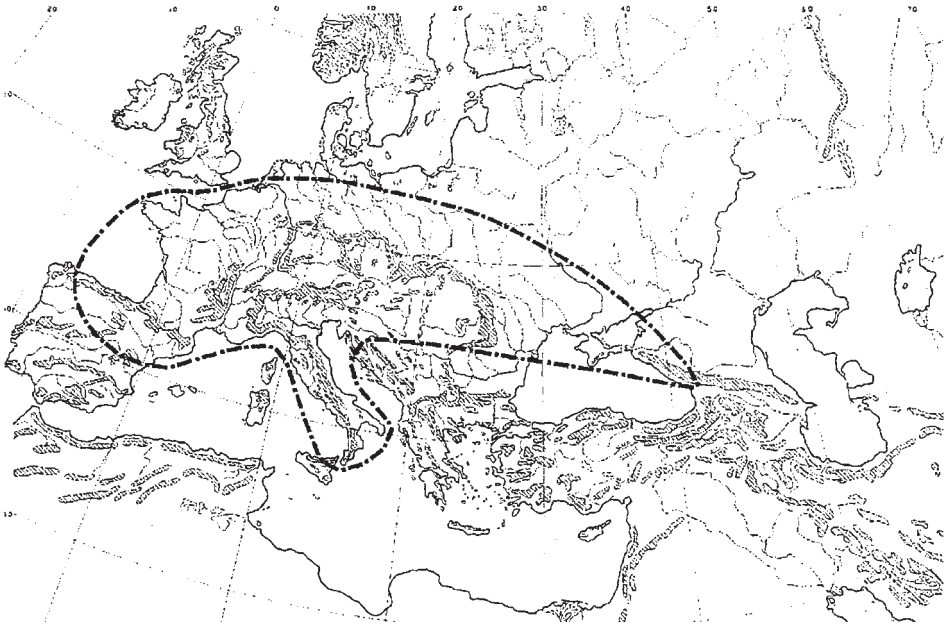


Fig. 1 - L'areale di distribuzione della *Vinca minor* secondo W.T. Stearn (1973).

reno, ove formano vastissimi popolamenti fitti e tappezzanti. Entrambi poi, alti generalmente sino a 10-15 cm, sono provvisti di foglie sempreverdi opposte, subsessili o brevemente picciolate, di forma ellittico-lanceolata, acuta od ottusa all'apice, con lamina a margine ciliato intero; esse sono glabre, lucide, di colore verde scuro sulla pagina superiore, più chiare, opache e con nervature reticolate in rilievo su quella inferiore.

I fiori, ascellari, sono situati singolarmente all'apice di un lungo peduncolo e sono provvisti di un calice di 3 mm diviso su 2/3 in lacinie triangolari a margine intero con un dentello per lato nella porzione basale; la corolla, gamopetala, composta da cinque petali spatolati ad apice troncato, misura circa 2,5-3 cm di diametro ed è solitamente azzurra. Gli stami sono filamentosi e recano ciascuno un ciuffo di peli; le antere sono giallastre, appiattite, ad apice ricurvo sopra lo stimma verdastro, mentre l'ovario è supero e lo stilo filiforme e giallastro. I frutti, acuminati all'apice, sono cilindrici e composti da due follicoli capsuliformi divergenti contenenti semi neri, ovali, glabri, scanalati.

NOTE E CONSIDERAZIONI SULLA *Vinca minor* L. var. *atropurpurea* Sweet.

I connotati cromatici della corolla della *Vinca minor* tipica vengono definiti dai floristi come segue: « azzurra, rr. rosea o bianca» (Fiori, 1925-29), «generalmente blu» (Stearn, 1972), «azzurro-violacea» (Zangheri, 1976), «azzurro-violetta» (Pignatti, 1982).

Tuttavia, nel sottobosco erbaceo della cerreta della Rocca del Campione, sita a 235 m s.l.m. nel territorio di Cherasco (CN-Piemonte) in stretta contiguità con la riva destra del Tanaro (fig. 2), è significativamente presente, oltre alla *Vinca minor* tipica, che forma quasi ovunque vasti popolamenti (fig. 3), anche una *Vinca* che si differenzia nettamente dal tipo; in primo luogo, per il colore particolarissimo della corolla che, pur se soggetto ad una certa variabilità, determinata dalla intensità della luce presente e dallo stadio di maturazione del fiore nel suo complesso, presenta costantemente

Fig. 2 - La Rocca del Campione.

una tinta tipicamente rosso-viola-porporina (Rota & Olivero, 2011) (fig. 4).

Essa, variamente frammista alle altre pervinche tipiche, forma colà, nel sottobosco, almeno sette popolamenti ben differenziati ed evidenti, il maggiore dei quali, situato sul cacume del rilievo, raggiunge in purezza un'estensione di circa 225 m²; alcuni altri, meno estesi, sono a volte infiltrati dalle congeneri a fiori azzurri e, accanto ad individui recanti corolle con 5 petali, altri ne possiedono 6, 7, e anche 8 (Rota *lg.*, 14/4/2009 - BRA) (figg. 5-6). La molteplicità degli insediamenti e la relativa distanza fra di essi lascerebbe supporre che sia da molto tempo in atto la disseminazione spontanea di questa entità che fruttifica regolarmente.

Il popolamento maggiore è a noi noto da oltre 30 anni (Rota *lg.*, 24/4/1984 - BRA *et* ALB) e si è da allora mantenuto totalmente inalterato, mentre degli altri, di recentissimo rinvenimento, non siamo in grado di valutare l'età né l'evoluzione nel tempo. Tenuto conto dei ritrovamenti, relativamente distanti fra loro, della pluralità delle colonie presenti, della affatto

Fig. 3 - Popolamenti di *Vinca* tipica nel sottobosco della Rocca del Campione.

naturale compagine vegetazionale complessiva, della posizione isolata della Rocca e della sua lontananza dalle abitazioni (le vecchie cascine più prossime distano in linea d'aria alcune centinaia di metri, mentre le due villette presenti nei coltivi circostanti sono di recentissima costruzione), ci pare di essere legittimati ad escludere tassativamente che possa trattarsi della spontaneizzazione anche remota di soggetti casualmente sfuggiti a coltura. A ciò si aggiunga poi che, per quanto ci consta, non sono noti in Italia altri simili insediamenti allo stato selvatico e che rarissimamente ci è stato dato di osservarne nei giardini.

Non è quindi da trascurare l'ipotesi che la *Vinca* della Rocca del Campione possa costituire un primo rinvenimento allo stato spontaneo, non solo per le Langhe, ma anche per tutto il territorio nazionale.

A questo riguardo, registriamo tuttavia il dato fornitoci da W.T. Stearn (1972) in *Flora europaea*, che nella trattazione del genere *Vinca,* lamenta l'incertezza dei limiti dell'areale di distribuzione naturale della *Vinca minor*, dovuta sia alla presenza di relitti di antiche coltivazioni sia ad intenzionale naturalizzazione.

Ciò, in particolare per il Regno Unito, che risulta escluso dall'areale di diffusione spontanea della specie ma che ospita in realtà consistenti popolamenti di questa essenza, sia nella forma tipica che nelle sue varianti di colore. A tal proposito registriamo che proprio nel Kent, dove cresceva selvatica, questa variante *atropurpurea* fu scoperta negli anni venti del secolo scorso dalla sig.ra Marion Cran che, esperta di giardinaggio, ne intraprese poi la coltivazione e la distribuzione.

Il succitato autore (1973) annovera poi, fra le varietà cromatiche di questa specie vegetanti allo stato spontaneo, anche il «reddish-purple», e, pur ammettendo che «la nomenclatura di queste forme non è completamente chiara a causa della mancanza di illustrazioni colorate associate con nomi definiti», la considera come una specie inequivocabilmente sfuggita a coltura, e le attribuisce un colore «typycally blue-violet but varyng to pale blue, reddissh purple and white». Tutto ciò considerato, e tenuto conto delle argomentazioni che precedono, ci è parso di poter ascrivere le sopradescritte entità della Rocca del Campione alla *Vinca minor* L. var. *atropurpurea* Sweet.

Ad eccezione del colore, assai modeste e ben poco evidenti sono le altre differenze fra la morfologia del tipo e quella dei fiori a cinque petali di questa varietà; esse si estrinsecano essenzialmente in alcune particolarità del fiore, e in specie del tubo corollino. Nettamente diverso appare invece, nel suo complesso, l'apparato florale degli individui di questa variante recanti 6, 7 e anche 8 petali e che, anche se in assoluto poco numerosi, risul-

tano tuttavia non infrequenti qualora si consideri l'esiguità e la scarsa estensione delle colonie presenti, delle quali ben due mostrano individui in gran parte dotati di questa particolarità. Un solo esemplare a 6 petali è stato invece rinvenuto nei vastissimi popolamenti a fiori azzurri del medesimo sito.

Tuttavia, il numero cromosomico documentato da Stearn (1973), per le varie popolazioni di *Vinca minor* e per 5 delle sue varianti, fra le quali anche *Vinca minor* var. *atropurpurea*, è in ogni caso pari a 2n = 46.

RAGIONI E OBIETTIVI DELLA RICERCA

La ricerca si propone di verificare l'esistenza o meno di una possibile diversità genetica fra *Vinca minor* L. tipica e la sua varietà *atropurpurea* Sweet; ciò anche considerato che esemplari di quest'ultima, trasferiti altrove e sottoposti a coltura, producono da parecchi lustri fiori rosso-viola-porporini, dimostrando in tal modo di possedere caratteristiche genetiche loro proprie, ormai definitivamente fissate e del tutto indipendenti dal substrato. È stata perciò eseguita un'analisi del polimorfismo di marcatori molecolari (su DNA cloroplastico e nucleare) di popolazioni di *Vinca minor* L. (tipica e sua variante cromatica) provenienti dalla Rocca del Campione, rapportate altresì a quelle, sclusivamente tipiche, di altre popolazioni situate al di fuori di tale sito; si noti che la Rocca del Campione costituisce un'area ad alto valore naturalistico recentemente indagata nell'ambito delle ricerche botaniche svolte sotto il patrocinio del Museo di Storia naturale "Craveri" di Bra (Rota & Olivero, 2011).

Alla presente ricerca, condotta dal Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi dell'Università di Torino (Prof. Piero Cervella e D.ssa Astrid Pizzo), hanno partecipato il suddetto Museo braidese e, all'interno della propria Area di Progetto nella biologia, due studenti del Liceo Agnelli di Torino; essa, considerato l'interesse non solo floristico del caso, è stata finanziata da enti (Società Amici dei Musei di Bra, Comune di Bra, Comune di Cherasco) e da privati (G. Olivero, E. Molinaro, F. Rota).

MATERIALI E METODI

Per verificare l'esistenza dell'eventuale diversità genetica tra la pervinca tipica e la sua variante si è deciso di confrontare due segmenti di DNA cloroplastico tramite amplificazione via PCR e sequenziamento, un metodo in

grado di mostrare differenze puntiformi nella sequenza di basi azotate tra i geni amplificati.

Successivamente sono state eseguite analisi *multilocus* aspecifiche di tipo SRAP (Sequence-related amplified polymorphism) (Li & Quiros, 2001) sul DNA totale nel tentativo di trovare differenze aspecifiche tra le due entità.

Si tratta di una tecnica che mira ad amplificare finestre di lettura casuali (open reading frames, ORFs) attraverso l'uso di due primer di circa 17-18 nucleotidi che consistono di una sequenza di 13-14 basi, dove le prime 10-11 sono una sequenza aspecifica (filler sequences, diverse per ogni tipologia di primer), seguite da CCGG nel primer forward e AATT nel reverse. Vi sono poi 3 nucleotidi selettivi variabili. I primer sono in grado di ibridarsi e amplificare in modo aspecifico molti tratti complementari del DNA, producendo un pattern di bandeggiamento caratteristico quando fatti migrare su un gel di poliacrilammide. Alcuni frammenti possono mancare se, in un dato campione, mancano alcune delle sequenze complemen-

Fig. 4 - La *Vinca minor* tipica a confronto con la varietà *atropurpurea*.

Figg. 5-6 - Esemplari di *Vinca minor* var. *atropurpurea* con corolla a 7-8 petali.

tari, che dunque non vengono amplificate: la presenza/assenza di tali bande costituisce un elemento di valutazione del polimorfismo genetico e del grado di differenziamento.

È importante precisare che eventuali differenze genetiche riscontrate tra l'entità tipica e la variante *atropurpurea* non indicano in alcun modo che le sequenze geniche variabili individuate siano coinvolte nell'espressione dei tratti che determinano la differenza fenotipica (colore, conformazione della corolla, ecc.) ma soltanto che tali divergenze possono essere il prodotto secondario di un isolamento genetico, la cui durata e consistenza deve poi essere valutata e stimata. Il presente lavoro quindi non intende evidenziare e analizzare i geni direttamente coinvolti nell'esibizione dei nuovi caratteri fenotipici.

I campioni

Ogni campione è stato conservato ad una temperatura di -20°C fino al momento delle analisi.

Le tabelle mostrano i dettagli dei campioni ottenuti tramite il Museo di Storia Naturale di Bra (P1, P2, PA, C1, C2, A1, A2, A3, A4, P6) e di quello fornito dall'Università di Torino (PT), afferenti rispettivamente al sett. flor. 31 delle Langhe (P1, PA, C1, C2, A1, A2, A3, A4), 32 del Roero (P2, P6), 38 della Pianura di VC e NO (PT) (Montacchini & Forneris, 1980). Le località di raccolta di Pocapaglia (Bosco Crociato) e di Trino Vercellese (Bosco delle Sorti della Partecipanza) distano in linea d'aria dalla Rocca del Campione (Cherasco), rispettivamente 8 e 67 km (fig. 7).

Campione 1 (2011)

Campione	Specie	Ambiente	Provenienza	Località	Colore
P1	*Vinca minor*	Sottobosco	Rocca del Campione	Cherasco	Azzurro-violetta
P2	*Vinca minor*	Sottobosco	Bosco Crociato	Pocapaglia	Azzurro-violetta
PA	*Vinca minor* var. *atropurpurea* Sweet	Sottobosco	Rocca del Campione	Cherasco	Rosso-viola-porporina
PT	*Vinca minor*	Sottobosco	Bosco delle Sorti della Partecipanza	Trino	Azzurro-violetta

Nella seconda tranche di analisi sono stati considerati, per la sola tecnica SRAP, altri individui provenienti dalle stesse aree, onde aumentare il grado di dettaglio sulla variabilità interna delle singole popolazioni.

Campione 2 (2012)

Campione	Specie	Ambiente	Provenienza	Località	Colore
C1	*Vinca minor*	Sottobosco	Rocca del Campione	Cherasco	Azzurro-violetta
C2	*Vinca minor*	Sottobosco	Rocca del Campione	Cherasco	Azzurro-violetta
PA	*Vinca minor* var. *atropurpurea* Sweet	Sottobosco	Rocca del Campione	Cherasco	Rosso-viola-porporina
A1	*Vinca minor* var. *atropurpurea* Sweet	Sottobosco	Rocca del Campione	Cherasco	Rosso-viola-porporina
A2	*Vinca minor* var. *atropurpurea* Sweet	Sottobosco	Rocca del Campione	Cherasco	Rosso-viola-porporina
A3	*Vinca minor* var. *atropurpurea* Sweet	Sottobosco	Rocca del Campione	Cherasco	Rosso-viola-porporina
A4	*Vinca minor* var. *atropurpurea* Sweet	Sottobosco	Rocca del Campione	Cherasco	Rosso-viola-porporina
P2	*Vinca minor*	Sottobosco	Bosco Crociato	Pocapaglia	Azzurro-violetta
P6	*Vinca minor*	Sottobosco	Bosco Crociato	Pocapaglia	Azzurro-violetta
PT	*Vinca minor*	Sottobosco	Bosco delle Sorti della Partecipanza	Trino	Azzurro-violetta

Allestimento delle analisi SRAP

Per l'amplificazione del DNA totale sono state utilizzate diverse combinazioni di due tipologie di primer: EcoRI (8 diverse varianti) e MseI (8 diverse varianti). Le PCR sono state eseguite in 25 millilitri con 5 minuti di denaturazione a 95° seguiti da 5 cicli a 94° 1 min, 35° 1 min, 72° 1 min, 35 cicli a 94° 1 min e 72° 1 min, seguiti da 10 min di elongazione a 72°.

Analisi dei risultati SRAP

Al termine delle reazioni di PCR, i vari campioni sono stati fatti migrare su gel di Agar per vedere in modo preliminare quantità e distribuzione dei frammenti di DNA amplificati. Sono state scelte le combinazioni di primer

in grado di evidenziare pattern genetici significativi e con il maggior numero di bande amplificate, sia monomorfiche che polimorfiche; i prodotti di PCR sono successivamente stati fatti migrare su un gel di poliacrilammide in grado di separare bande con piccolissime differenze di taglia.

Analisi del primo campione:

Terminata la migrazione, nei pattern che presentavano polimorfismo tra i diversi campioni sono state identificate le singole bande e i dati trasposti su matrici di presenza-assenza in Microsoft Excel, e analizzate con l'AFLP-SURVEY. Per l'analisi delle matrici è stato impostato un test di 1000 bootstrap per le distanze genetiche.

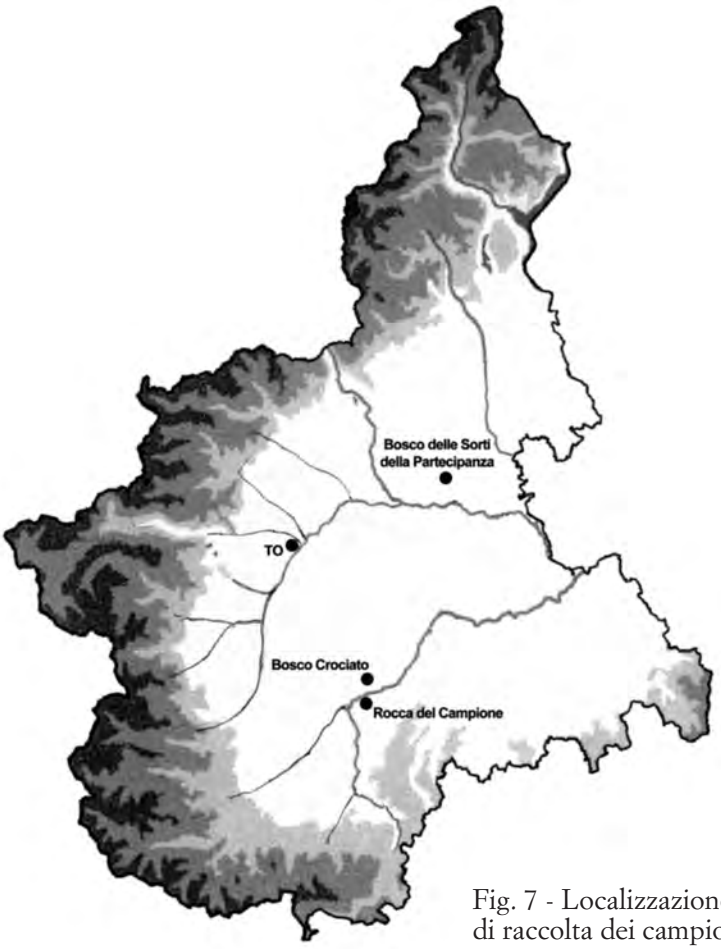


Fig. 7 - Localizzazione geografica dei siti di raccolta dei campioni presi in esame.

Le distanze sono state a loro volta inserite nel programma Phylip Drawtree, che ha permesso la visualizzazione dei dati sotto forma di albero.

Analisi del secondo campione:

Le combinazioni di primer più variabili sono state analizzate su gel di poliacrilammide alla ricerca di bande che potessero evidenziare in modo univoco la variante *atropurpurea.*

Analisi del DNA cloroplastico (cpDNA)

Oltre alle analisi sul DNA totale sono state condotte anche ricerche mirate sulle sequenze di DNA cloroplastico nel primo campione.

Il cpDNA presenta una forma circolare ed è composto solo di pochi geni, di cui ne sono stati amplificati due per verificare le eventuali differenze presenti.

Una volta estratto il DNA dagli individui, si è preparata una reazione di PCR al fine di amplificare i geni selezionati.

I geni scelti per l'analisi sono stati individuati tramite consultazione della GenBank e sono trn L-F spacer (Ferri *et al.*, 2009) e rps16 (Moore *et al.*, 2010); i primer sono riportati di seguito:

Trn L-F spacer

from *Vinca minor*: tRNA-Leu (trnL) gene, partial sequence; trnL-trnF intergenic spacer, complete sequence; and tRNA-Phe (trnF) gene, partial sequence; chloroplast

Sequence (5'->3')	Length	Tm	GC%
Forward primer GGTTCAAGTCCCTCTATCCC	20	50.84	55.00%
Reverse primer ATTTGAACTGGTGACACGAG	20	50.30	45.00%

rps 16

from *Nerium oleander*: ribosomal protein S16 (rps 16) gene, complete cds; chloroplast

Sequence (5'->3')	Length	Tm	GC%
Forward primer GTGGTAGAAAGCAACGTGCGACTT	24	58.22	50.00%
Reverse primer TGCGGATCGAACATCAATTGCAAC	24	57.13	45.83%

I campioni purificati mediante procedura di freeze-squeeze sono stati inviati alla Genechron - Enea di Roma per il sequenziamento su entrambi gli strands.

RISULTATI

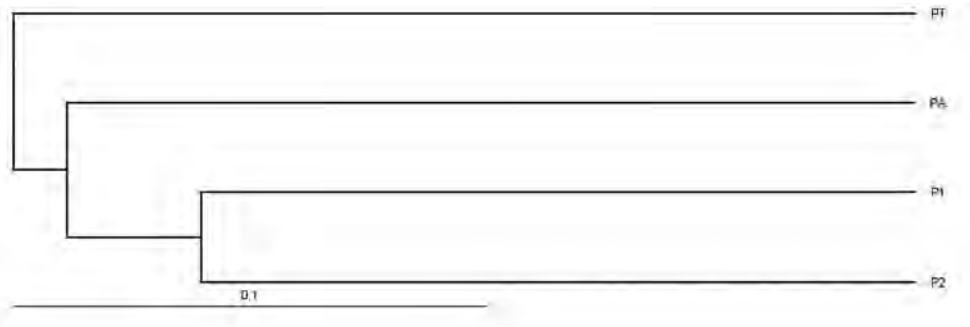
Risultati delle SRAP

Dalla matrice di presenza-assenza dei frammenti amplificati nel primo campione, per tutte le combinazioni testate insieme sono state calcolate le distanze genetiche di Nei:

Nei's genetic distance after Lynch and Milligan-1994

	P1	P2	PA	PT
P1	0.0000	0.3014	0.3498	0.4123
P2	0.3014	0.0000	0.3664	0.3066
PA	0.3498	0.3664	0.0000	0.4241
PT	0.4123	0.3066	0.4241	0.0000

I dati analizzati con Phylip hanno dato come risultato il seguente diagramma.



Per quanto riguarda l'analisi del secondo campione, finalizzata alla ricerca di pattern indicativi di un differenziamento univoco della variante *atropurpurea*, i pattern non hanno messo in evidenza alcun profilo di amplificazione univocamente identificativo degli individui appartenenti a questa variante.

Risultati del sequenziamento dei geni del DNA cloroplastico del primo campione

Per quanto riguarda il cpDNA, il sequenziamento dei due geni non ha permesso di riscontrare alcuna differenza tra i campioni analizzati, che presentano totale monomorfismo. Non risulta pertanto necessario analizzare altri individui con questa tecnica.

CONSIDERAZIONI FINALI

In base ai risultati complessivi ottenuti dalle analisi eseguite, è possibile notare soltanto un lieve polimorfismo aspecifico del DNA nucleare tra gli individui presi in considerazione, anche se non è possibile identificare alcun profilo di amplificazione specifico e univoco per la variante *atropurpurea*, che quindi non può essere identificata tramite questo approccio. Nessuna differenza a livello del sequenziamento dei geni cloroplastici è stata evidenziata. Al momento, non esistono presupposti sufficienti per suggerire che *Vinca minor* L.var. *atropurpurea* Sweet possa rappresentare una nuova specie di pervinca.

Ciò che al momento può essere segnalato come elemento di interesse a partire dai risultati ottenuti e che stimola ulteriori approfondimenti, è la maggiore somiglianza, nonostante la maggiore distanza geografica, tra i campioni di pervinca tipica di Rocca del Campione (P1) e di Pocapaglia (P2). Questi ultimi risultano infatti essere più simili tra loro (distanza genetica di Nei: 0.3014) dei due individui, tipici e variante *atropurpurea*, provenienti entrambi dallo stesso sito, Rocca del Campione (distanza genetica di Nei: 0.3498): questo dato potrebbe indicare l'instaurarsi di un qualche isolamento genetico tra le due varianti. La varietà *atropurpurea* (PA), resta comunque più simile all'individuo tipico proveniente dal suo stesso popolamento (distanza genetica di Nei: 0.3498) che a quello tipico di Pocapaglia (distanza genetica di Nei: 0.3664).

Infine, è stata individuata una maggiore differenza del campione di Trino rispetto agli altri (valori delle distanze genetiche di Nei: 0.4123 da P1, 0.3066 da P2 ed 0.4241 da PA), in accordo con l'ipotesi che il differenziamento genetico cresca al crescere della distanza geografica (circa 67 km in linea d'aria da Cherasco). Il campione del Bosco delle Sorti della Partecipanza di Trino è comunque significativamente più differenziato rispetto alle altre popolazioni piemontesi, un risultato che tende ad indebolire l'ipotesi che la var. *atropurpurea* possa essere un vero caso di isolamento genetico e che quindi possa configurarsi come una diversa specie.

I risultati indicano la completa assenza di differenziamento a livello cloroplastico e un basso/moderato livello di differenziamento a livello del DNA totale; questi dati suggeriscono che il grado di isolamento genetico o geografico tra gli individui considerati sia comunque piuttosto basso, o stabilitosi in un tempo molto recente.

BIBLIOGRAFIA

FERRI G., ALU'M., CORRADINI B., BEDUSCHI G., 2009 – Forensic Botany: species identification of botanical trace evidence by using a multigene barcoding approach. International Journal of Legal Medicine 123: 395-401.

FIORI A., 1925-29 – Nuova flora analitica d'Italia. Edagricole, Bologna.

LI G., QUIROS C. F., 2001 – Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica*. Theoretical and Applied Genetics 103: 455-461.

MOORE M.J., SOLTIS P.S., BELL C.D., BURLEIGH J.G., SOLTIS D.E., 2010 – Phylogenetic analysis of 83 plastid genes further resolves the early diversification of eudicots. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 107(10): 4623-4628.

MONTACCHINI F., FORNERIS G., 1980 – Studio del popolamento vegetale del Piemonte sulla base dei dati dell'*Herbarium Pedemontanum*. Atti del Congresso dell'Associazione Nazionale dei Musei Scientifici, Torino, 1978: 103-115.

PIGNATTI S., 1982 – Flora d'Italia. Edagricole, Bologna.

ROTA F., OLIVERO G., 2011 – La flora vascolare spontanea della "Rocca del Campione" (Cherasco - Piemonte) e segnalazione di *Vinca minor* L. var. *atropurpurea* Sweet. Rivista Piemontese di Storia Naturale, 32: 55-101.

STEARN W.T., 1972 – *Vinca* L., in TUTIN T.G., HEYWOOD V.H., BURGES A., MOORE D.M., VALENTINE D.H., WALTERS S.M., WEBB D.A., *"Flora europaea"*, Cambridge University Press.

STEARN W.T., 1973 – A synopsis of the genus *Vinca* including its taxonomic and nomenclatural history. In: Taylor W.I. & Farsworth (eds.) - The *Vinca* alkaloids: botany, chemistry and pharmacology. New York, Chapt. 1: 19-44.

ZANGHERI P., 1976 – Flora italica. Cedam, Padova.

SOMMARIO

ESTIVI F., BOUVET D., PANDOLFO A., FRIARD O. - Bibliografia Botanica del Piemonte e della Valle d'Aosta
Botanical Bibliography of Piemonte and Valle d'Aosta regions 3

GOTTSCHLICH G., SOLDANO A. - Contributo alla conoscenza del genere *Hieracium* s.l. (*Hieracium* s.str., *Pilosella, Schlagintweitia*) nella provincia di Biella (Piemonte, Italia)
Contribution to the knowledge of the genus Hieracium *s.l.* (Hieracium *s.str.*, Pilosella, Schlagintweitia) *in the Biella province (Piedmont, Italy)* 15

PIZZO A., ROTA F., OLIVERO G. - Analisi genetica condotta su alcune popolazioni piemontesi di *Vinca minor* L. tipica (Apocynaceae) e della sua varietà *atropurpurea* Sweet: studio di un processo evolutivo in atto
Genetic analysis on some piedmontese populations of typical Vinca minor *L. (Apocynaceae) and its variety* atropurpurea *Sweet: study of an evolutionary process in progress* 33

EVANGELISTA M., SEGLIE D. - Primo ritrovamento in Piemonte di *Placobdella costata* (Fr. Müller, 1846) (Annelida, Hirudinida, Glossiphoniidae)
First record of Placobdella costata *(Fr. Müller, 1846) in Piedmont (Annelida, Hirudinida, Glossiphoniidae)*. 49

COTTARELLI V., BORRONI I., MURA G. - Primo rinvenimento di *Branchipus schaefferi* Fischer, 1834 in acque temporanee d'alta quota delle Alpi italiane e nuove informazioni sulla distribuzione in Italia di *B. schaefferi* e *B. blanchardi* Daday, 1908 (Branchiopoda, Anostraca)
First record of Branchipus schaefferi *Fischer, 1834 in temporary pools at high altitude on the Italian Alps and new data on the distribution of* B. schaefferi *and* B. blanchardi *Daday, 1908 in Italy (Branchiopoda, Anostraca)*. 59

DELMASTRO G. B., VINÇON G. - The redescovery of *Isoperla obscura* (Zetterstedt, 1840) in Italy (Plecoptera, Perlodidae, Isoperlinae)
Riscoperta di Isoperla obscura *(Zetterstedt, 1840) in Italia (Plecoptera, Perlodidae, Isoperlinae)* 73

GIULIANO D., PIANO E. - Gli odonati del Lago del Malpasso (San Giorio di Susa, Torino)
The dragonflies of the Malpasso Lake (San Giorio di Susa, TO - NW Italy) 79

BATTISTI A., CERRATO C., VITERBI R., BIONDA R., SAVOLDELLI P. - Gli Ortotteri dei Parchi Naturali Veglia-Devero e Alta Valle Antrona
The Orthoptera of "Veglia-Devero" and "Alta Valle Antrona" Natural Park 93

CIRACÌ A. - Nuova segnalazione di *Ameles spallanzania* (Rossi, 1792) (Insecta, Mantodea) dalla pianura vercellese (Piemonte, Italia Nord-occidentale)
Finding of Ameles spallanzania *(Rossi, 1792) (Insecta, Mantodea) in the Vercelli plain (Piedmont, North-west Italy).* 117

GHIANO S. - Cinipidi galligeni (Hymenoptera Cynipidae) della Rocca del Campione (Cherasco - CN, Piemonte)
Cynipid gall wasps (Hymenoptera Cynipidae) of the Rocca del Campione (Cherasco - CN, Piedmont) 121

MOSCA A., FERRARA A. M., GRIECO C., GRASSO I., MOSSI G., PERNA M., ROBERTO P. - Diffusione di *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse, 1895) (Diptera, Culicidae) in Piemonte e prima segnalazione per la Valle d'Aosta
Spread of Aedes (Stegomyia) albopictus *(Skuse, 1895) (Diptera, Culicidae) in Piedmont and first record for the Aosta Valley (NW Italy)* 127

BISIO L., ALLEGRO G., GIUNTELLI P. - I Coleotteri Carabidi della Valle Gesso (Alpi Marittime) (Coleoptera Carabidae)
Carabid beetles of the Gesso Valley (Maritime Alps, Piedmont, Cuneo, Italy) (Coleoptera Carabidae) 137

ALLEGRO G., CASALE A., CHIARABAGLIO P. M., DELLA BEFFA G. - I Carabidi del Bosco delle Sorti della Partecipanza di Trino (Coleoptera, Carabidae) (Italia, Piemonte)
The Ground Beetles of 'Bosco delle Sorti della Partecipanza di Trino' (Coleoptera, Carabidae) (Italy, Piedmont) 189

CURLETTI G. - New Neotropical *Agrilus* species (Coleoptera, Buprestidae)
Nuove specie Agrilus *neotropicali (Coleoptera, Buprestidae)* 211

LANA E., SELLA R. - Le grotte del Monte Fenera e la loro fauna
The caves of the Mount Fenera and their fauna 225

MOSTINI L. - Animali "nocivi": specie, taglie e premi per la cattura. Una rassegna documentale dal XVIII al XX secolo
"Noxious" animals: species, bounties and prizes for capture. A review from 18th to 20th century 299

GIULIANO D. - Gli uccelli del S.I.C. IT1110033 "Stazioni di *Myricaria germanica*"
The birds of the S.C.I. IT1110033 "Stazioni di Myricaria germanica" *(Piedmont, Italy)*. 311

SELVAGGI A. - SOLDANO A. - PASCALE M. - DELLAVEDOVA R.(EDS.)
Note floristiche piemontesi n. 706-773
Floristic notes in Piedmont region (NW Italy) 327

COMUNICAZIONI - Ricordo di Angelo Morisi - Informations - *In memory of Angelo Morisi* 365

Recensioni - Books rewies 373