

Il Progetto di ricerca “Metodi di analisi e strategie per la conservazione della variabilità genetica in popolazioni selvatiche di vertebrati omeotermi” sviluppa metodologie per l'analisi della variabilità genetica basate:

- sull'analisi di caratteri morfologici, utilizzando metodologie multivariate che consentono di stimare gli effetti genetici indipendentemente dagli effetti non genetici e che sono appropriate per la discriminazione morfometrica tra gli individui e la classificazione delle popolazioni;
- sull'analisi elettroforetica delle proteine e degli enzimi del sangue e dei tessuti, per stimare la diversità genetica entro popolazione e le distanze genetiche tra popolazioni conspecifiche ed interspecifiche;
- sull'analisi del DNA mitocondriale, effettuata tramite analisi dei frammenti di restrizione oppure delle sequenze nucleotidiche, per stimare la diversità genetica entro e tra popolazioni, per individuare le relazioni di prossimità tra popolazioni conspecifiche e le relazioni filogenetiche tra specie diverse;
- sull'analisi del DNA *fingerprinting*, utilizzando metodi che rivelano loci singoli o multipli, per il controllo delle relazioni di paternità in specie riprodotte in cattività, o per la misura del successo riproduttivo in popolazioni naturali.

La sperimentazione di questi metodi e la definizione dei loro ambiti di applicabilità a specie differenti ed a problemi che necessitano di livelli di risoluzione variabili richiede:

- lo sviluppo ed il controllo di metodologie di prelievo e di conservazione dei campioni biologici di vario tipo e di differente origine;
- la sperimentazione di metodologie che consentano di ottenere informazioni sulla variabilità genetica a partire da campioni in stato di conservazione non sempre ottimale;
- la sperimentazione di metodologie che consentano di operare su materiali conservati in museo.

Quest'attività di ricerca produce le necessarie informazioni preliminari per la realizzazione di progetti applicativi o finalizzati, che vengono espressi nei programmi di sperimentazione.

Attività collegate al Progetto di ricerca

I riconoscimenti a livello internazionale sull'importanza degli studi di genetica condotti nel nostro Istituto sono testimoniati anche dalle richieste avanzate da numerose riviste scientifiche internazionali al Dott. Ettore Randi di fungere da *referee*. In particolare nel 1999 si è dato riscontro dalla seguenti riviste: *Acta Theriologica*, *The Auk*, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *Journal of Mammalian Evolution*, *Hereditas*, *Ethology*, *Ecology & Evolution*, *Biological Conservation*, *Molecular Ecology*, *Journal of Zoology*, *Animal Conservation*, *Heredity*, *The Italian Journal of Zoology*

L'attività pubblicistica non rientrante nella produzione scientifica dei temi di ricerca è stata la seguente:

1999

N. 2

- RANDI E. - Mitochondrial DNA. In: Baker A. J. (ed.), *Molecular Methods in Ecology*, Blackwell Science (in stampa).
- RANDI E. - Genetica di popolazione di specie selvatiche. In: Ingegnoli V., R. Massa (eds.), *"Fondamenti di Conservazione Biologica"*, UTET, Milano.

RAPPRESENTANZE IN ORGANI CONSULTIVI

- Comitato scientifico del Centro Interuniversitario di Ricerche sulla Selvaggina e sui Miglioramenti Ambientali a fini Faunistici (Università di Firenze) (Dott. Ettore Randi).
- Gruppo Lontra Italia (Dott. Ettore Randi).
- Gruppo per la reintroduzione del Gobbo rugginoso (Dott. Ettore Randi).
- I.U.C.N. Captive Breeding Specialist Group (Dott. Ettore Randi).
- I.U.C.N. Pig and Pecary Specialist Group (Dott. Ettore Randi).
- I.U.C.N./W.P.A Partridge, Quail and Francolin Specialist Group (Dott. Ettore Randi).
- I.U.C.N./Bird life/W.P.A Pheasant Specialist Group (Dott. Ettore Randi).
- I.U.C.N. Lagomorph Specialist Group (Dott. Ettore Randi).
- Comitato direttivo dell'Associazione Teriologica Italiana (Dott. Ettore Randi).
- Comitato direttivo dell'Associazione A. Ghigi per la biologia e conservazione dei vertebrati (Dott. Ettore Randi).

- Comitato italiano per le reintroduzioni del Centro Italiano Studi Ornitologici (C.I.S.O.) (Dott. Ettore Randi).
- Comitato scientifico per lo studio e la protezione dell'Orsobruno nel Trentino (Dott. Ettore Randi).

PARTECIPAZIONE A CONGRESSI

- Il ritorno del Lupo, Bologna, 10 settembre 1999. Comunicazione presentata: "Indagini genetiche e lupi" (Dott. Ettore Randi).
- Biologia e gestione della fauna di montagna, Villetta Barrea, 25-29 ottobre 1999. Comunicazione presentata: "Genetic studies in galliforms" (Dott. Ettore Randi).
- World Pheasant Association Annual Convention 1999, Cleres (Francia), 25-26 settembre 1999. Comunicazione presentata: "Conservation genetics of *Lophura*" (Dott. Ettore Randi).
- Large Carnivores Coordination Group, Cuneo, 29-30 luglio. Comunicazione presentata: "Large Carnivores and genetic issues" (Dott. Ettore Randi).
- Modern developments in population genetics theory, Paris, 31 agosto-2 settembre (Dott. Ettore Randi).
- IX Convegno della Società Italiana di Ecologia, Lecce, 14-17 settembre 1999. Comunicazioni presentate: "Variabilità genetica nel Lupo e nel Gatto selvatico", "Diversità genetica e speciazione in popolazioni di Lagomorfi (Leporidi) e di Ungulati (Cervidi)", "Recente diffusione del Cinghiale in Italia: analisi delle possibili cause e conseguenze genetiche ed ecologiche", "Struttura filogeografica in popolazioni paleartiche di Galliformi (Tetraonidi ed *Alectoris*)" (Dott. Massimo Pierpaoli, Dott. Ettore Randi, Dott. Cristiano Tabarroni).
- IV Convegno Nazionale dei Biologi della Selvaggina, Bologna, 28-30 ottobre 1999. Comunicazioni presentate: "Ibridazione tra cane e Lupo: effetti genetici e storici nella popolazione di Lupo in Italia", "Genetica e conservazione delle popolazioni di grandi carnivori in Europa occidentale", "Metodi genetici non-invasivi per l'analisi della struttura e dinamica delle popolazioni selvatiche", "Analisi della variabilità genetica in specie e popolazioni appartenenti al genere *Lepus*", "Diversità genetica e struttura filogeografica in popolazioni di Coturnice (*Alectoris*)", "Variabilità genetica e

struttura filogeografica in popolazioni di Tetraonidi", "La posizione del Capriolo appenninico (*Capreolus capreolus*) all'interno delle linee mitocondriali italiane"; Poster presentati: "Metodologie di analisi genetica delle specie iscritte nelle Appendici I e II della Convenzione di Washington (CITES)", "Ricerca di marcatori genetici per l'identificazione di ibridi tra gatto selvatico e gatto domestico", "Ibridazione ed introgressione di popolazioni naturali di Quaglia comune con quaglie giapponesi allevate", "Filogenesi e speciazione in *Cervus*: Cervo europeo, wapiti e sika sono specie distinte che possono ibridizzare", "Il progetto di reintroduzione della Pernice rossa in Provincia di Grosseto" (Dott. Vittorio Lucchini, Dott.ssa Nadia Mucci, Dott. Massimo Pierpaoli, Dott. Ettore Randi, Dott. Cristiano Tabarroni).

FREQUENTATORI ESTERNI

Nell'ambito di una collaborazione ad un progetto di ricerca del C.N.R. sulla biologia e tassonomia di alcune specie di mammiferi in Venezuela, coordinato dal Prof. E. Capanna dell'Università di Roma, ha effettuato una prima permanenza di studio presso il nostro laboratorio di genetica la Dott.ssa Rosa Moscarella dell'Università di Caracas (Venezuela). In particolare, la Dott. Moscarella frequenta il laboratorio per apprendere le tecniche di genetica applicate all'analisi della genetica di popolazioni e filogenesi nei Cervidi.

ATTIVITÀ DIDATTICA

Il Dott. Ettore Randi ha tenuto tre lezioni su "Genetica e biologia della conservazione" nell'ambito della Scuola di specialità in genetica applicata, Dipartimento di Biologia Evoluzionistica, Università degli Studi di Bologna.

TIROCINI PRE- E POST-LAUREA

Presso il laboratorio di genetica hanno concluso il tirocinio post-laurea la Dott.ssa Stefania D'Amico e la Dott.ssa Cinzia Montanari, che sono state applicate rispettivamente in attività concernenti le analisi del DNA in quaglie giapponesi ed europee per la ricerca degli ibridi e le tecniche di estrazione e analisi del DNA.

TESI DI LAUREA CONCLUSE NEL 1999

- GIANNINO MARIA LAURA, 1997-1999 - Variabilità genetica in popolazioni di Gracchio corallino (*Pyrrhocorax pyrrhocorax*). Corso di laurea in Scienze Biologiche, Università di Milano (correlatore Dott. Ettore Randi).

TESI DI LAUREA PROSEGUITE O INIZIATE NEL 1999

- DAVOLI FRANCESCA, 1999-.... - Variabilità genetica nelle popolazioni italiane di Lontra (*Lutra lutra*). Corso di laurea in Scienze Naturali, Università di Ferrara (correlatore Dott. Ettore Randi).
- DE BARBA MARTA, 1999-.... - Variabilità genetica nella popolazione di Orso (*Ursos arctos*) nel parco Nazionale d'Abruzzo. Corso di laurea in Scienze Biologiche, Università di Bologna (correlatore Dott. Ettore Randi).
- FABBRI ELENA, 1999-.... - Variabilità genetica nella popolazione italiana di Lupo (*Canis lupus*). Corso di laurea in Scienze Naturali, Università di Ferrara (correlatore Dott. Ettore Randi).
- RAVAIOLI ELENA, 1999-.... - Variabilità genetica in popolazioni di *Crossoptilon* e *Gallus*. Corso di laurea in Scienze Biologiche, Università di Bologna (correlatore Dott. Ettore Randi).

CONSUNTIVO FINANZIARIO DEL LABORATORIO DI GENETICA PER TIPOLOGIE DI SPESE

TIPOLOGIA DI SPESA	SPESE PREVENTIVATE AL 1.1.1999	VARIAZIONI INTERVENUTE NELL'ANNO	RISORSE ASSEGNATE	IMPEGNI ASSUNTI	AVANZO AL 31.12.1999
Spese in conto capitale Capp. 12 04	25.000.000	- 25.000.000	-	-	-
Spese correnti Cap. 04 03	51.800.000	- 28.800.000	23.000.000	23.000.000	-
TOTALE	76.800.000	- 53.800.000	23.000.000	23.000.000	-

CONSUNTIVO FINANZIARIO DEI TEMI DI RICERCA

TEMI DI RICERCA	SPESE PREVENTIVATE AL 1.1.1999	VARIAZIONI INTERVENUTE NELL'ANNO	RISORSE ASSEGNATE	IMPEGNI ASSUNTI	AVANZO AL 31.12.1999
Analisi della diversità genetica in popolazioni naturali ed allevate di Lontra (<i>Lutra lutra</i>)	6.150.000	- 1.150.000	5.000.000	4.237.525	762.475
Analisi della struttura genetica e della posizione sistematica delle popolazioni endemiche o peculiari della fauna italiana nel contesto della fauna europea e paleartica	28.057.000	- 4.514.826	23.542.174	23.542.174	-
Analisi della variabilità genetica in popolazioni di Galliformi alpini (Coturnice e Tetraonidi)	4.800.000	- 3.090.657	1.709.343	1.709.343	-
Analisi della diversità genetica nella popolazione italiana di Lupo (<i>Canis lupus</i>)	2.850.000	4.570.000	7.420.000	4.419.904	3.000.096
Analisi della diversità genetica in popolazioni di Gatto selvatico (<i>Felis silvestris</i>)	4.500.000	- 4.118.134	381.866	381.866	-
Variabilità genetica in popolazioni selvatiche ed allevate di Ungulati e Galliformi	96.286.000	- 63.738.209	32.547.791	32.445.559	102.232
TOTALE	142.643.000	- 72.041.826	70.601.174	66.736.371	3.864.803

CONSUNTIVO FINANZIARIO DEI PROGRAMMI DI SPERIMENTAZIONE

PROGRAMMI SPERIMENTAZIONE	SPESE PREVENTIVATE AL 1.1.1999	VARIAZIONI INTERVENUTE NELL'ANNO	RISORSE ASSEGNATE	IMPEGNI ASSUNTI	AVANZO AL 31.12.1999
Controlli genetici in allevamenti di selvaggina che producono animali per reintroduzioni o ripopolamenti)	-	-	-	-	-
Analisi genetica per la riproduzione in cattività della Pernice rossa (<i>Alectoris rufa</i>) destinata alla reintroduzione in Toscana	80.000.000	- 40.000.000	40.000.000	31.137.404	8.862.596
Metodologie di analisi genetica applicate al controllo della riproduzione in cattività di specie protette di vertebrati omeotermi	28.000.000	-	28.000.000	16.529.000	11.471.000
Diversità genetica in popolazioni allevate di Fasianidi	53.000.000	- 47.096.352	5.903.648	2.188.804	3.714.844
TOTALE	161.000.000	- 87.096.352	73.903.648	49.855.208	24.048.440

FINANZIAMENTI ESTERNI FINALIZZATI

ENTE EROGATORE		IMPORTO
Consiglio Nazionale delle Ricerche	L.	4.089.174 ⁽¹⁾
Ministero per le Politiche Agricole e Forestali	L.	29.839.000 ⁽²⁾
Ministero dell'Ambiente	L.	28.000.000 ⁽³⁾
Parco Nazionale della Majella	L.	5.000.000 ⁽⁴⁾
Parco Naturale Alpi Marittime-Regione Piemonte	L.	7.420.000 ⁽⁵⁾
Amministrazione provinciale di Grosseto	L.	40.000.000 ⁽⁶⁾
Museum National d'Histoire Naturelles de Paris	L.	5.903.648 ⁽⁷⁾
Totale	L.	120.251.822

(1) Quota parte del contributo di L. 50.000.000 per l'anno 1999 derivante dalla convenzione triennale 1997-1999 per una collaborazione di ricerca nel settore della conservazione della natura.

(2) Quota parte per l'anno 1999 del contributo complessivo di L. 977.000.000 derivante dalla convenzione relativa al progetto "La fauna selvatica nella valorizzazione delle risorse agricole e territoriali".

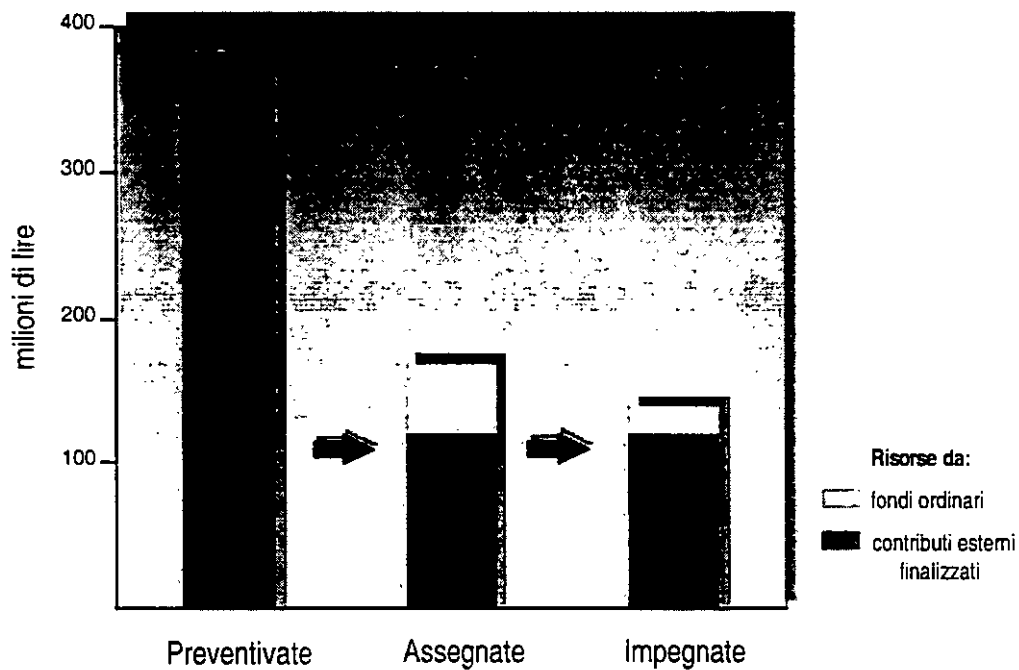
(3) Quota parte per l'anno 1999 del contributo complessivo di L. 140.000.000 per il biennio 1998-1999.

(4) Contributo derivante dalla convenzione relativa al progetto "Conservazione della Lontra nel Parco Nazionale della Majella".

(5) Contributo derivante dalla convenzione relativa al progetto "Il Lupo in Regione Piemonte".

(6) Quota parte per l'anno 1999 del contributo complessivo di L. 240.000.000 per il triennio 1998-2001.

(7) Contributo derivante dalla convenzione relativa al progetto "Analisi genetiche di popolazioni allevate di Fasianidi".

RISORSE FINANZIARIE PER IL PROGETTO DI RICERCA

Temi di ricerca

Analisi della diversità genetica in popolazioni naturali ed allevate di Lontra (*Lutra lutra*)

Responsabile scientifico: Dott. Ettore Randi

Anno di inizio

1995

Anno di conclusione

2000

CONSUNTIVO FINANZIARIO DEL TEMA DI RICERCA PER TIPOLOGIE DI SPESE

TIPOLOGIA DI SPESA	SPESE PREVENTIVATE AL 1.1.1999	VARIAZIONI INTERVENUTE NELL'ANNO	RISORSE ASSEGNATE	IMPEGNI ASSUNTI	AVANZO AL 31.12.1999
Spese in conto capitale Capp.	-	-	-	-	-
Spese correnti Cap. 04 03	2.900.000	1.100.000	4.000.000	4.000.000	-
Missioni Cap. 02 03	3.250.000	- 2.250.000	1.000.000	237.525	762.475
Pubblicazioni/estratti Capp.	-	-	-	-	-
Borse di studio/Assegni di ricerca Capp.	-	-	-	-	-
TOTALE	6.150.000	- 1.150.000	5.000.000	4.237.525	762.475

FINANZIAMENTI ESTERNI FINALIZZATI

ENTE EROGATORE	IMPORTO
Parco Nazionale della Majella	L. 5.000.000 (*)

(*) Quota parte per l'anno 1999 del contributo complessivo di L. 10.000.000 derivante dalla convenzione relativa al progetto "Conservazione della Lontra nel Parco Nazionale della Majella".

Collaborazioni

- Dipartimento di Biologia, Università di Aarhus (Danimarca).
- Gruppo per la Reintroduzione della Lontra in Italia.

Descrizione della ricerca e risultati conseguiti

Questa ricerca origina da una richiesta del Gruppo per la Reintroduzione della Lontra in Italia, gruppo a cui l'Istituto aderisce. La popolazione italiana di Lontra è in fase di complessivo declino e molte popolazioni locali sono estinte. Il Gruppo Lontra ha proposto ed ha allo studio un progetto di reintroduzione di questa specie in alcune aree protette. I soggetti per la reintroduzione dovrebbero derivare da individui riprodotti in cattività presso alcune strutture private in Italia ed all'estero. L'origine della popolazione allevata è poco chiara, ed in particolare si sospetta che siano presenti genotipi di origine extra europea. In questo caso, la reintroduzione della Lontra rischierebbe di introdurre genotipi estranei alla popolazione italiana. Il progetto di analisi genetica si propone di:

- sviluppare metodi di analisi del DNA mitocondriale e dei microsatelliti, anche utilizzando campioni di materiale biologico raccolti in natura (peli, escrementi) ed in museo (pelli), al fine di rendere possibile l'analisi genetica senza dover necessariamente catturare gli animali;
- analizzare la diversità genetica nella popolazioni di Lontra dell'Europa occidentale, al fine di individuare eventuali peculiarità genetiche della popolazione italiana;

- analizzare la diversità genetica in alcune popolazioni di Lontra numerose (ad es. Danimarca), al fine di stimare gli effetti del declino demografico e dell'isolamento geografico in popolazioni rarefatte (ad es. Italia);
- stimare la distanza genetica tra popolazione allevata e popolazioni naturali, in particolare quella italiana, per definirne le compatibilità genetiche in caso si realizzassero i progetti di reintroduzione;
- analizzare le componenti fenotipiche e genetiche di resistenza agli stress ambientali, componenti che potrebbero avere influenzato le dinamiche delle popolazioni naturali e che potrebbero influenzare i risultati delle reintroduzioni.

Già nel 1988 è stato sviluppato un programma preliminare per la messa a punto dei metodi di laboratorio che consentono di evidenziare la variabilità genetica nella Lontra. Si sono quindi sviluppati metodi di analisi del DNA mitocondriale e dei microsatelliti.

Nel 1999 si è avviata una collaborazione con il Parco Nazionale della Majella per l'analisi genetica della popolazione di Lontra presente nell'area del Parco stesso. Sono stati pertanto sperimentati metodi di estrazione del DNA da campioni non invasivi (escrementi) raccolti nel corso dell'attività di campo. Sono stati inoltre sperimentati metodi per l'amplificazione del DNA che consentano di identificare sequenze di DNA mitocondriale, sequenze legate al sesso e loci nucleari ipervariabili (DNA *fingerprinting*). In questo modo si sono sviluppati protocolli di laboratorio utilizzabili per l'identificazione delle linee materne della popolazione di Lontra presente nel Parco Nazionale, oltre che per l'identificazione del sesso e del DNA *fingerprinting* in ogni individuo campionato. Sono inoltre proseguite le analisi molecolari di campioni di Lontra provenienti da altre popolazioni europee.

Pubblicazioni prodotte negli anni

1995	N. 0
------	------

1996	N. 0
------	------

1997

N. 1

- PERTOLDI C., V. LOESCHCKE, A. B. MADSEN, E. RANDI - Developmental stability in the Eurasian otter (*Lutra lutra*) in Denmark. Ann. Zool. Fennici, 34: 187-196.

1998

N. 1

- PERTOLDI C., A. B. MADSEN, E. RANDI, A. BRAUN, V. LOESCHCKE - Variation of skull morphometry of Eurasian otters (*Lutra lutra*) in Denmark and Germany. Ann. Zool. Fennici, 45: 87-94.

1999

N. 2

- MUCCI N., C. PERTOLDI, A. B. MADSEN, V. LOESCHCKE, E. RANDI - Extremely low mitochondrial DNA control-region sequence variation in the otter (*Lutra lutra*) population in Denmark. Hereditas, 130: 331-336.
- PERTOLDI C., V. LOESCHCKE, A. BRAUN, A. B. MADSEN, E. RANDI - Craniometric variability and developmental stability. Two useful tools for assessing the population viability of Eurasian otter (*Lutra lutra*) population in Europe. The Biological Journal of the Linnean Society (in stampa).



Analisi della struttura genetica e della posizione sistematica delle popolazioni endemiche o peculiari della fauna italiana nel contesto della fauna europea e paleartica

Responsabile scientifico: Dott. Ettore Randi

Anno di inizio

Anno di conclusione

1996

2000

CONSUNTIVO FINANZIARIO DEL TEMA DI RICERCA PER TIPOLOGIE DI SPESE

TIPOLOGIA DI SPESA	SPESE PREVENTIVATE AL 1.1.1999	VARIAZIONI INTERVENUTE NELL'ANNO	RISORSE ASSEGNATE	IMPEGNI ASSUNTI	AVANZO AL 31.12.1999
Spese in conto capitale Capp.	-	-	-	-	-
Spese correnti Cap. 04 03	5.557.000	- 2.480.400	3.076.600	3.076.600	-
Missioni Cap. 02 03	-	-	-	-	-
Pubblicazioni/estratti Cap. 04 03	500.000	512.574	1.012.574	1.012.574	-
Borse di studio/Assegni di ricerca Capp. 02 01, 02 04	22.000.000	- 2.547.000	19.453.000	19.453.000	-
TOTALE	28.057.000	- 4.514.826	23.542.174	23.542.174	-

FINANZIAMENTI ESTERNI FINALIZZATI

ENTE EROGATORE	IMPORTO
Consiglio Nazionale delle Ricerche	L. 4.089.174 (*)

(*) Quota parte del contributo di L. 50.000.000 per l'anno 1999 derivante dalla convenzione triennale 1997-1999 per una collaborazione di ricerca nel settore della conservazione della natura.

Collaborazioni

- Istituto di Paleontologia ed Evoluzione, Dipartimento di Biologia, Università di Montpellier (Francia).

Descrizione della ricerca e risultati conseguiti

Studi zoologici condotti con i tradizionali metodi della sistematica morfologica hanno evidenziato alcune peculiarità nelle popolazioni meridionali di Cinghiale (sottospecie maremmana e sarda), Capriolo (sottospecie meridionale), Camoscio (sottospecie endemica abruzzese) e Lepre. Queste peculiarità morfologiche devono essere verificate utilizzando i moderni metodi della genetica molecolare, non solo per ridefinire aspetti della biogeografia e tassonomia di queste specie, ma soprattutto per:

- concorrere ad una migliore definizione dei popolamenti faunistici italiani e per una contributo alla stima della biodiversità;
- fornire agli enti che amministrano le aree interessate da queste popolazioni e a chi ha in progetto operazioni di reintroduzione o ripopolamento le necessarie informazioni per operare correttamente.

Con l'anno 1999 si è concluso il programma triennale di attività di cui alla convenzione con il Consiglio Nazionale della Ricerche. Tale programma si proponeva l'obiettivo di analizzare la struttura della variabilità genetica in popolazioni di alcune specie di vertebrati omeotermi appartenenti alla fauna selvatica italiana, allo scopo di individuarne le peculiarità, di stimare l'eventuale impatto antropico e di fornire informazioni utili per definire strategie di conservazione della diversità genetica delle popolazioni e delle specie.

Le specie oggetto di studio sono state:

- Lupo (*Canis lupus*),
- Gatto selvatico (*Felis silvestris*),
- Stambecco (*Capra ibex*),
- Camoscio alpino e Camoscio d'Abruzzo (genere *Rupicapra*).

La realizzazione di tale progetto prevedeva la raccolta di campioni biologici da cui fosse possibile ottenere DNA; la definizione e sperimentazione di metodi di estrazione del DNA; l'analisi del DNA utilizzando metodologie appropriate.

Nel corso del triennio di attività il programma di ricerca si è sviluppato nelle seguenti direzioni:

- è stata completata la raccolta dei campioni biologici delle specie oggetto di studio;
- sono stati definitivamente messi a punto diversi metodi di estrazione del DNA, ed in particolare:
 - a) metodi di estrazione rapida a partire da campioni freschi di tessuti,
 - b) metodi di estrazione rapida a partire da campioni di sangue,
 - c) metodi di estrazione appropriati per campioni biologici che contengono piccole quantità di DNA,
 - d) metodi di estrazione di campioni biologici degradati o di materiali museali;
- i campioni biologici ed i campioni di DNA sono stati archiviati e si è proceduto alla costituzione di una banca dati elettronica;
- sono stati sviluppati metodi di analisi del DNA che consentono di evidenziare i livelli di variabilità genetica appropriati per la risoluzione dei vari problemi oggetto di studio.

In riferimento alle singole specie oggetto di studio, sono stati ottenuti i risultati di seguito esposti.

LUPO (*Canis lupus*)

La popolazione italiana di Lupo è rimasta separata dalle altre popolazioni europee per oltre un secolo, a seguito dell'eradicazione della specie nell'arco alpino. La popolazione appenninica ha subito una forte contrazione numerica ed il suo areale distributivo ha raggiunto un minimo verso la fine degli anni