

Atti 5° Congresso SISEF: Foreste e Società - Cambiamenti, Conflitti, Sinergie
(a cura di: E. Lingua, R. Marzano, G. Minotta, R. Motta, A. Nosenzo, G. Bovio)

Global change e risalita della treeline: conseguenze genetiche della colonizzazione dei pascoli alpini

Piotti A*, Piovani P, Scalfi M, Leonardi S, Menozzi P

Dipartimento di Scienze Ambientali, Università degli Studi di Parma, Parco Area delle Scienze 11/A, I-43100 Parma (Italy) - *Corresponding author: Andrea Piotti (andre@dsa.unipr.it).

Abstract: *Global change and upward shift of treeline in the Alps: genetic consequences of pastures colonization.* In the Alps global warming and change in land use, in particular the drastic reduction in cattle grazing, are causing a progressive treeline ecotone upwards shift. The colonization dynamics of woody species are modulated by high selective pressure on seedlings due to the extreme ecological conditions of this habitat. We studied the colonization dynamics of Norway spruce in a treeline plot, at the upper limit of the Paneveggio forest (Trentino, Italy). We have exhaustively sampled the study stand, collecting needle tissue from all the adults and the juveniles detected, and we have genotyped all the samples (376) with 4 SSR markers. Parentage relationships between the few adults presents in the stand (23) and the juveniles were established. Our results indicate that, in spite of extreme ecological condition of the treeline environment, local adaptations do not seem to favour local parents: only 4% of juveniles have both parents among local adult trees, while 96% of juveniles are completely or partially sired outside the sampling area. Assessing parentage relationship also allowed the estimation of relative reproductive success of local adult trees. Out of a total of 23 adult trees, 5 trees were involved in the 59% of successful reproductive events detected inside the sampling area.

Keywords: *Picea abies*, Treeline, Gene flow, Parentage analysis, Alps.

Received: Jan 09, 2006 - Accepted: Jan 12, 2007.

Citation: Piotti A, Piovani P, Scalfi M, Leonardi S, Menozzi P, 2007. *Global change e risalita della treeline: conseguenze genetiche della colonizzazione dei pascoli alpini.* Forest@ 4 (1): 69-78. [online] URL: <http://www.sisef.it/>.

Introduzione

Negli ultimi decenni stiamo assistendo ad un progressivo innalzamento delle temperature medie (Houghton 2001, WMO 2002), e si prevede che questo trend aumenterà rapidamente nei prossimi anni (Zwiers 2002). Le condizioni climatiche influenzano l'ecofisiologia, la produttività e la distribuzione delle specie arboree (Walther 2004). Gli ambienti d'alta montagna, come le Alpi, sono particolarmente vulnerabili ai cambiamenti climatici (Theurillat & Guisan 2001). Le temperature minime annue nelle Alpi sono aumentate di 2 °C nell'ultimo secolo, soprattutto dagli anni Ottanta in poi (Beniston et al. 1997). Inoltre, nelle aree alpine stiamo assistendo ad un progressivo abbandono dei pascoli d'altura (Dirnböck et al. 2003). L'effetto congiunto di questi due

fattori sta promuovendo l'innalzamento dell'ecotono di *treeline*, la zona tra il limite superiore continuo del bosco e gli ultimi individui isolati ritrovabili a quote superiori (Körner 1998).

Il processo di colonizzazione nelle piante forestali è stato studiato con un approccio modellistico da Austerlitz et al. (2000) e i risultati del modello sviluppato hanno mostrato che, per specie caratterizzate da uno stadio giovanile prolungato e dal conseguente ritardo del primo evento riproduttivo, la prima fase della colonizzazione di una nuova area è supportata principalmente dall'arrivo di nuovi migranti dalle popolazioni sorgente, piuttosto che dalla riproduzione degli individui colonizzatori insediati. Questa dinamica determina una scarsa differenziazione genetica tra la popolazione sorgente e quella

neofondata, tendendo a diminuire l'effetto del fondatore. I risultati del modello trovano riscontro in recenti lavori riguardanti specie arboree (Mariette et al. 1997, Raspé & Jacquemart 1998, Cespedes et al. 2003, Erickson et al. 2004, Levèfre et al. 2004).

Vi sono però pochi studi riguardanti la variabilità genetica in popolazioni di specie forestali disposte lungo transetti altitudinali, tutti eseguiti con marcatori enzimatici, che hanno evidenziato sia l'esistenza di elevata variabilità tra quote differenti per determinati *loci* (Grant & Mitton 1977, Lundkvist 1979), sia una decrescita della variabilità all'aumentare della quota (Taira et al. 1997, Premoli 2003). La spiegazione maggiormente plausibile di tali risultati è che la selezione imponga sia una perdita di variabilità al crescere della quota, dovuta alle difficoltà di insediamento di genotipi provenienti da quote inferiori, che causerebbe un marcato effetto "collo di bottiglia" (*bottleneck*); sia un gradiente di varianti genotipiche adattate alle differenti condizioni ecologiche e microambientali presenti lungo transetti altitudinali (Mitton 1995). In tale scenario l'effetto della selezione contrasterebbe le conseguenze dell'elevato flusso genico caratteristico delle specie forestali, specialmente in quelle ad impollinazione e disseminazione anemofila (Hamrick et al. 1992).

L'ambiente di *treeline* riveste grande importanza principalmente per l'alta pressione selettiva sperimentata dalle specie residenti, dovuta alle condizioni ecologiche estreme che lo contraddistinguono (basse temperature, elevata ventosità, copertura nevosa prolungata - Dullinger et al. 2004), e per l'elevata sensibilità nei confronti delle variazioni di temperatura (Walther 2004). Nonostante ciò non sono mai stati eseguiti lavori riguardanti la genetica della colonizzazione legata allo *shift* altitudinale delle foreste.

La genetica della colonizzazione può venire studiata finemente analizzando i *pattern* del flusso genico e la loro influenza sulla struttura genetica nell'area di espansione. Esistono due approcci principali, basati sull'utilizzo di marcatori molecolari, allo studio della microstrutturazione spaziale: lo studio della distribuzione spaziale di alleli e/o genotipi (Epperson 2003) e la stima diretta del flusso genico mediante l'analisi di paternità o di parentela (Jones & Ardren 2003). Recentemente, gli studi sulle relazioni di parentela sono stati notevolmente incentivati dallo sviluppo di marcatori molecolari altamente polimorfici, come i microsatelliti (SSR), e di nuove procedure statistiche (Marshall et al. 1998, Gerber et al. 2000, rivisti da Jones & Ardren 2003). Nelle specie forestali i marcatori genetici sono stati utilizzati soprattutto per

stimare la distanza di dispersione del polline e l'efficienza d'impollinazione mediante l'analisi di paternità svolta direttamente sui semi campionati sulle piante madri (Dow & Ashley 1998, Streiff et al. 1999, Garcia et al. 2005, Robledo-Arnuncio & Gil 2005). Ma Dow & Ashley (1996) hanno sottolineato, nonostante l'importanza dello studio delle dinamiche d'impollinazione, come la *fitness* degli organismi studiati dipenda dalla prole insediata con successo e che sopravvive nei primi stadi di crescita. Di conseguenza, la determinazione delle relazioni di parentela negli individui già insediati rappresenta l'unico approccio che permette di evidenziare gli eventi di dispersione geneticamente ed ecologicamente rilevanti.

In questo studio abbiamo eseguito l'analisi di parentela in un'area di *treeline* nella foresta di abete rosso nel Parco Naturale di Paneveggio-Pale di San Martino, utilizzando un approccio probabilistico "most likely". Questa metodica è stata sviluppata per assegnare la progenie analizzata ai potenziali genitori non escludibili in base ad incompatibilità genetica, attribuendo la parentela in modo categorico al genitore o alla coppia di genitori più probabile (Meagher & Thompson 1986). I risultati permettono di determinare quali siano i *pattern* di impollinazione e di disseminazione nell'area di studio, il flusso genico proveniente dall'esterno, il successo riproduttivo e l'eventuale esistenza di relazioni tra successo riproduttivo e variabili morfo-fisiologiche nelle piante adulte presenti nell'area.

Materiali e Metodi

Specie studiata

L'abete rosso (*Picea abies* (L.) Karst.) è una delle specie forestali più comuni ed economicamente importanti d'Europa. Il suo areale naturale si estende dalla Francia ad ovest (longitudine 5° E) fino agli Urali (55° E) ad est, e dalla Norvegia (latitudine 70° N) a nord fino alla Macedonia (42° N) a sud (Schmidt-Vogt 1977). L'areale può venire suddiviso in due macroaree principali: un'area boreale nord-est europea e un'area montana centroeuropea (Giesecke & Bennett 2004). La struttura genetica di *P. abies* rispecchia questa suddivisione (Vendramin et al. 2000; Sperisen et al. 2001; Collignon et al. 2002), supportando l'ipotesi di ricolonizzazione da due rifugi glaciali formulata in base ai dati palinologici (Huntley & Birks 1983). In Italia l'abete rosso si ritrova su tutto l'arco alpino e in alcune piccole popolazioni nell'Appennino settentrionale (Bernetti 1995).

La maggior parte degli studi molecolari su questa



Fig. 1 - Individuo insediato nell'area di *treeline* campionata.

specie hanno riguardato la distribuzione della variabilità genetica in macroaree (Acheré et al. 2005); al contrario, sono state scarsamente studiati la microstrutturazione spaziale ed i *pattern* del flusso genico contemporaneo (ad eccezione di Leonardi et al. 1996, Bucci & Menozzi 2002, Burczyk et al. 2004).

Area di studio

L'area di studio si trova nella foresta di Paneveggio (latitudine 46°18' N, longitudine 11°45' E), sulle pendici del monte Cavallazza (2324 m s.l.m.) nella parte superiore della Valbona. La temperatura media annua è 2.4 °C e le precipitazioni annuali 1316 mm a Passo Rolle (Gandolfo & Sulli 1993), a 3 km dall'area di studio. La copertura nevosa persiste a 1700 m s.l.m. per circa 5 mesi (Cavada & Piussi 1974). La foresta è stata utilizzata intensamente per l'alpeggio

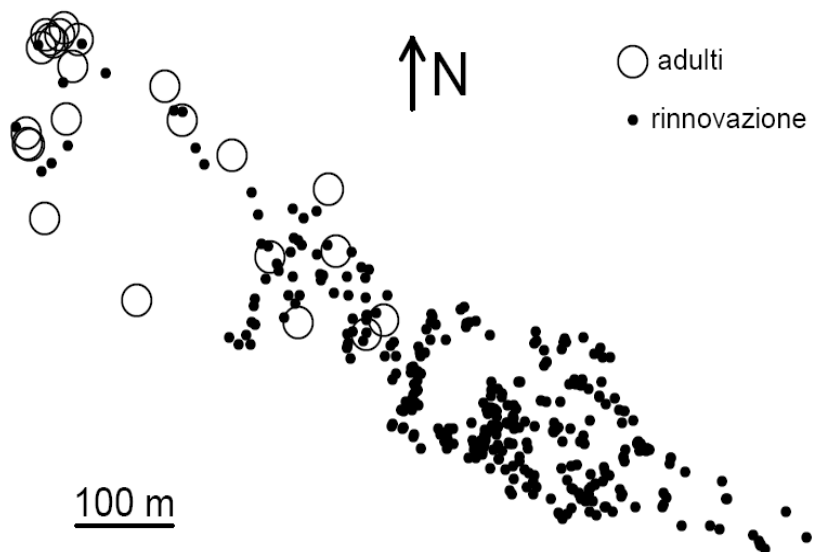
fino agli anni Settanta, successivamente il pascolo è stato abbandonato progressivamente e l'area è stata ripopolata dal camoscio, dal capriolo e dal cervo (Motta & Nola 1996); la crescente densità delle popolazioni di ungulati selvatici sta determinando ingenti danni alla rinnovazione all'interno della foresta (Motta & Franzoi 1997).

L'area di studio è un *plot* di 16 ha (200 m x 800 m) che si estende altitudinalmente dal limite continuo del bosco (Laghi del Colbricon, 1927 m s.l.m.) sulle pendici del Monte Cavallazza fino all'ultimo individuo di abete rosso che siamo stati in grado di individuare al limite superiore della zona di colonizzazione (2200 m s.l.m.). Nell'area è stato riscontrato un gradiente di morfotipi tipico delle zone di *treeline*: da individui di piccole dimensioni a portamento arbustivo (*krummholz*) nella fascia superiore (Fig. 1), fino alle morfologie classiche di grandi dimensioni e a portamento arboreo al limite continuo del bosco.

Strategia di campionamento

In totale sono stati prelevati campioni di tessuto (aghi) da 376 abeti, rappresentanti tutti gli individui presenti nella zona di colonizzazione e tutti gli individui adulti della fascia altitudinale immediatamente sottostante. Gli individui campionati sono stati classificati come potenziali genitori (23) e rinnovazione (353) in base al fatto che sia stata riscontrata la presenza di strobili sulla chioma. Tutti gli individui campionati sono stati mappati utilizzando un distanziometro laser Leica DISTO3 ed una bussola (Fig. 2). Inoltre, di ogni individuo campionato sono state misurate altezza e circonferenza alla base, utilizzando

Fig. 2 - Mappa degli individui campionati. Gli adulti (cerchi grandi vuoti) si trovano nella fascia altitudinale inferiore del *plot*, mentre la rinnovazione (cerchi piccoli pieni) si estende fino a circa 2200 m s.l.m.



un ipsometro laser Haglöf Vertex III e una cordella metrica.

Analisi genetica

Da 70 mg di ogni campione di aghi è stato estratto il DNA, utilizzando il kit di estrazione Qiagen Plant DNeasy96. La genotipizzazione è avvenuta utilizzando quattro marcatori microsatellite (SSR): tre sviluppati da Scotti et al. (2002) e uno da Pfeiffer et al. (1997). La PCR (*polymerase chain reaction*) è stata effettuata utilizzando un *thermal cycler* PTC100 (MJ Research) in un volume totale di 25 μ l. Per i primer EATC1B2, EATC2B2 e EATC1E3 è stata utilizzando una mix di reazione contenente 10 ng di DNA, 100 μ M di ciascun dNTP, 10X PCR *buffer* (100mM Tris-HCl (pH 8.8 a 25°C), 500mM KCl, 0.8% Nonidet P40), 2.5 mM di MgCl₂, 0.1 μ M di *primer forward* e 0.25 μ M di *primer reverse* e 1 U di *Taq* Polimerasi (Fermentas). Per SpAGG03 è stata utilizzando una *mix* di reazione contenente 10 ng di DNA, 100 μ M di ciascun dNTP, 10X PCR *buffer* (100mM Tris-HCl (pH 8.8 a 25°C), 500mM KCl, 0.8% Nonidet P40), 2.5 mM di MgCl₂, 0.2 μ M di ciascun *primer* e 1 U di *Taq* Polimerasi (Fermentas). Le condizioni di reazione per la PCR sono state: 95 °C per 10 min, 7 cicli "touch-down" (95 °C per 30 sec, T_a + 7 °C per 30 sec, 72 °C per 30 sec), 28 cicli di amplificazione (95 °C per 45 sec, T_a per 45 sec, 72 °C per 45 sec) e uno *step* finale di estensione di 72 °C per i *primer* EATC1B2, EATC2B2 e EATC1E3. Le condizioni di reazione per la PCR per SpAGG03 sono state: 94 °C per 10 min, 34 cicli di amplificazione (94 °C per 45 sec, T_a per 45 sec, 72 °C per 45 sec) e uno *step* finale di estensione di 10 min a 72 °C. I prodotti di PCR sono stati analizzati mediante elettroforesi capillare sul sequenziatore CEQ2000 della Beckman Coulter.

Analisi dei dati

Per ogni *locus* sono state calcolate le frequenze alleliche, l'eterozigosi attesa (H_e) in base alla formula proposte da Hartl & Clark (1997), il numero di alleli (N_a), il numero di alleli privati (N_{par}, Maguire et al. 2002), e il numero effettivo di alleli (N_e = 1 / (1 - H_e), Brown & Weir 1983).

La differenziazione genetica tra potenziali genitori e rinnovazione è stata misurata utilizzando i coefficienti F_{ST} e R_{ST} (Slatkin 1995) calcolati mediante l'AMOVA (*Analysis of Molecular Variance* - Excoffier et al. 1992). L'R_{ST} è un analogo dell'F_{ST} stimato in base allo *stepwise mutation model*, un modello specifico per marcatori microsatellite che tiene in considerazione le differenze di dimensione tra gli alleli (Michalakis

& Excoffier 1996). La significatività dei risultati è stata valutata mediante 1000 permutazioni, seguendo il metodo di Lindenmayer & Peakall (2000). Per tutte le analisi genetiche è stato utilizzato il *software* GenA-LEx v. 6 (Peakall & Smouse 2005).

L'analisi di parentela è stata svolta utilizzando il *software* FaMoz (Gerber et al. 2003). In primo luogo è stata calcolata la probabilità di esclusione del nostro set di marcatori, seguendo la formula proposta da Jamieson & Taylor (1997). Successivamente per tutte le possibili combinazioni singolo genitore/figlio e coppia di genitori/figlio è stato calcolato il LOD (*likelihood ratio*) score, cioè il rapporto tra la probabilità di un singolo adulto/coppia di adulti di essere il genitore/genitori di un determinato individuo giovane, e la probabilità che tale relazione sia casuale (Gerber et al. 2000).

Con il *software* utilizzato è possibile determinare la soglia oltre la quale i *LOD score* vengono considerati statisticamente significativi. Tale soglia viene calcolata simulando una progenie proveniente dall'esterno rispetto all'area campionata e confrontando la distribuzione dei conseguenti *LOD score* con quelli ottenuti sui dati reali. La soglia è rappresentata dall'intersezione delle curve delle due distribuzioni (Gerber et al. 2000). Successivamente, utilizzando un "*categorical allocation approach*" (Jones & Ardren 2003), la parentela è stata assegnata alle coppie o ai singoli genitori aventi il *LOD score* statisticamente significativo maggiore.

Assegnata la parentela è stato possibile quantificare sia la dispersione all'interno dell'area campionata, sia il flusso genico dall'esterno. In particolare, il tasso di immigrazione dall'esterno è stato calcolato sia come numero di individui originatisi interamente o parzialmente fuori dall'area di studio, sia a livello gametico come il numero di gameti prodotti all'esterno sul numero totale di gameti campionati.

Inoltre, grazie ai risultati dell'analisi di parentela è stato possibile calcolare le distanze di disseminazione e di dispersione del polline all'interno dell'area di studio, basandosi sulle assunzioni presentate da Dow & Ashley (1996): (i) se un individuo giovane è compatibile con un solo genitore, allora questo genitore viene considerato il produttore del seme; e (ii) se un individuo giovane è compatibile con una coppia di genitori, il genitore più vicino viene considerato il produttore del seme, mentre quello più lontano il produttore del polline.

Infine, è stato calcolato il successo riproduttivo di ogni potenziale genitore all'interno dell'area di studio considerando il numero totale di eventi riprodut-

Tab. 1 - Variabilità genetica nei potenziali genitori e nella rinnovazione *locus per locus* (N_a = numero di alleli; N_e = numero effettivo di alleli; N_{pa} = numero di alleli privati; H_e = eterozigosi attesa).

Stage	Locus	N_a	N_e	N_{pa}	H_e
Potenziali genitori	SpAGG03	12	7.389	0	0.865
	EATC1B2	4	1.418	0	0.295
	EATC1E3	5	2.396	0	0.583
	EATC2B2	9	3.796	0	0.737
Rinnovazione	SpAGG03	17	9.463	5	0.894
	EATC1B2	12	1.694	8	0.41
	EATC1E3	11	2.512	6	0.602
	EATC2B2	20	2.788	11	0.641

tivi (via polline o via seme) attribuiti ad un individuo. La relazione tra il successo riproduttivo e i tratti morfologici misurati (altezza e diametro alla base) è stata indagata utilizzando un modello lineare generalizzato basato sulla distribuzione di Poisson (McCullagh & Nelder 1989). La significatività del modello è stata testata utilizzando l'analisi sequenziale della devianza.

L'elaborazione statistica dei dati risultanti dall'analisi di parentela è stata effettuata utilizzando il pacchetto statistico R (R Development Core Team 2005).

Risultati

I 4 marcatori microsatellite sono risultati essere altamente variabili, con un numero medio di 12.5 alleli per *locus* sull'intero set di dati. La frazione di individui giovani (rinnovazione) è caratterizzata da una quota rilevante di alleli che non sono presenti nei genitori (7.5 in media), mentre nessun allele privato è stato riscontrato tra i potenziali genitori (Tab. 1). La

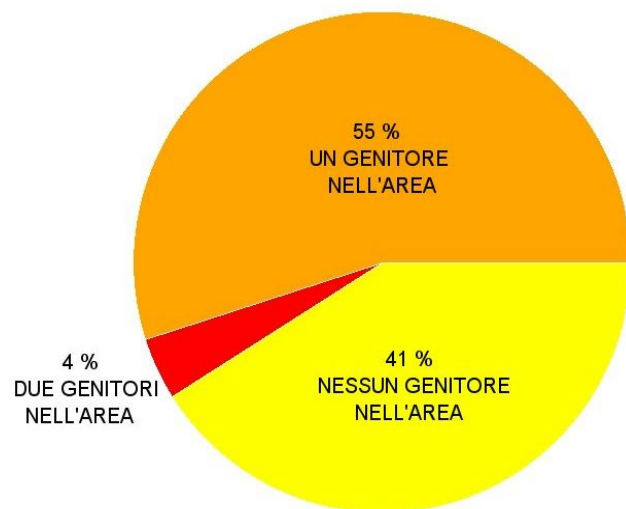
differenziazione genetica tra potenziali genitori e rinnovazione è risultata essere molto bassa, con un valore di F_{ST} di 0.009 e di R_{ST} di 0.03.

Le probabilità di esclusione del nostro set di marcatori (0.994 per le coppie di genitori e 0.815 per i singoli genitori) sono sufficientemente alte per discriminare tra l'esiguo numero di individui adulti presenti nell'area.

Analizzando i *LOD score* che sono risultati essere maggiori rispetto alla soglia di significatività calcolata mediante 10000 simulazioni, si è evidenziato che tra i 353 individui giovani presenti nell'area di studio 210 individui (59%) sono compatibili con almeno un potenziale genitore presente nell'area di studio. Tra di essi 196 (55%) sono compatibili con un solo genitore, mentre 14 (4%) sono compatibili con una coppia di genitori. Ben 143 individui giovani (41%) sono invece risultati provenire interamente dall'esterno (Fig. 3). A livello gametico ciò significa che il 68% dei gameti campionati sono frutto di flusso genico dall'esterno.

In base alle assunzioni di Dow & Ashley (1996), la distanza media di disseminazione nell'area è risultata essere 341.95 ± 184.15 m (Fig. 4).

Il successo riproduttivo medio dei potenziali genitori nell'area è di 9.74 figli, e varia da 0 (le piante 2369, 2378 e 2379 non risultano essere genitori di alcun individuo giovane) fino ai 52 figli della pianta 2336, che risulta essere di gran lunga l'individuo col maggior successo riproduttivo (Fig. 5). Il successo riproduttivo è risultato essere dipendente dal diametro delle piante ($\chi^2_{[1]}=12.114$, $P<0.001$) ma non dall'altezza ($\chi^2_{[1]}=0.875$, $P=0.349$). Il diametro, valutato nel modello a parità di altezza, ha un effetto positivo sul successo riproduttivo ($b = 0.0191 \pm 0.0052$ SE, $P<0.001$). Questo implica che apparentemente alla *treeline*, a parità di altezza, piante con fusto più largo abbiano un vantaggio su individui più affusolati.

**Fig. 3** - Origine della rinnovazione nell'area di studio.

Distribuzione delle distanze di disseminazione

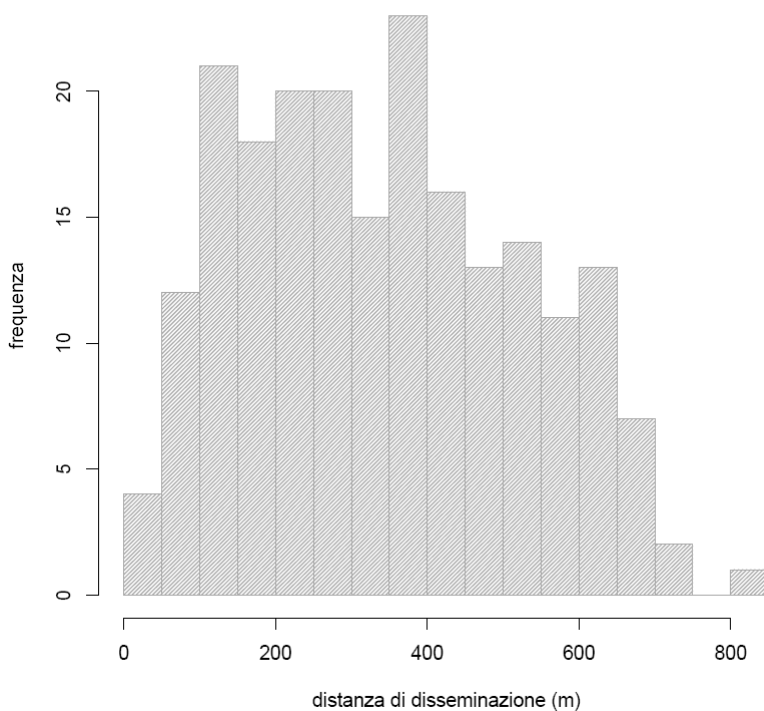


Fig. 4 - Distribuzione delle distanze di disseminazione relative agli eventi riproduttivi evidenziati con l'analisi di parentela nell'area di studio.

Discussione

In questo studio vengono analizzati i *pattern* del flusso genico in un'area di *treeline* che sta venendo colonizzata dall'abete rosso. La causa di questo spo-

stamento è probabilmente legata sia all'abbandono del pascolo d'altura che allo *shift* altitudinale favorito dal riscaldamento globale.

I nostri risultati dimostrano chiaramente che nella

Successo riproduttivo individuale

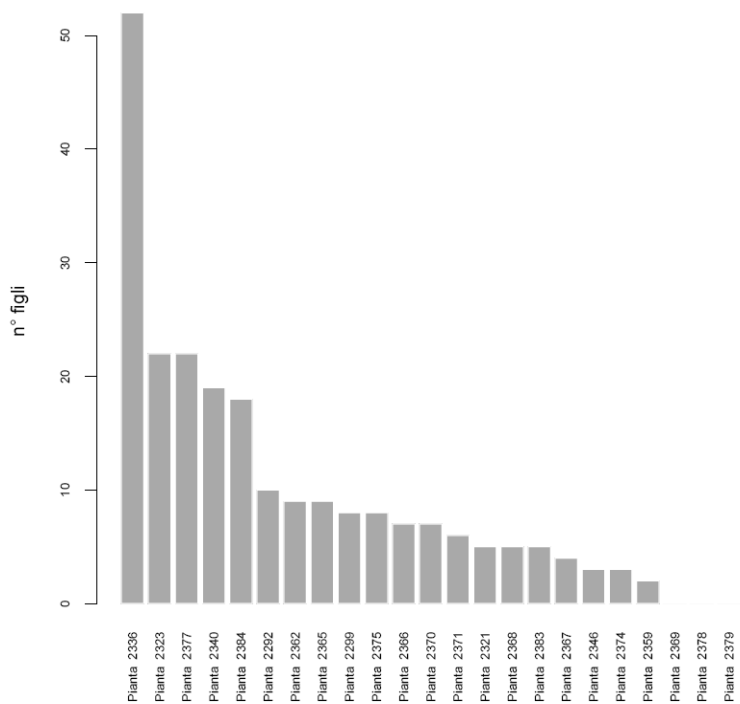


Fig. 5 - Variabilità nel successo riproduttivo tra gli individui adulti presenti nell'area di studio.

zona di *treeline* il flusso genico proveniente dall'esterno è molto elevato. Infatti, sebbene il 59% della rinnovazione abbia almeno un potenziale genitore compatibile nel *plot*, solamente per il 4% degli individui giovani si è riusciti a non escludere almeno una coppia di genitori all'interno dell'area di studio, e, soprattutto, nel 96% dei casi almeno metà del corredo genetico proviene da individui collocati all'esterno. Questi dati confermano che, nonostante l'elevata pressione selettiva tipica dell'ecotono di *treeline* (Dullinger et al. 2004), un'alta percentuale dei geni che partecipano alla colonizzazione proviene dall'esterno, molto probabilmente da individui della foresta sottostante, confermando l'ipotesi che la sopravvivenza degli individui giovani non provenienti dalla *treeline* non sia inferiore rispetto a quella dei figli delle piante già insediate a livello della *treeline*. Uno scenario simile può venire interpretato in base all'enorme potenziale dispersivo dell'abete rosso, i cui propaguli (polline e seme) vengono entrambi trasportati dal vento. Molti autori hanno dimostrato come in particolare il polline delle conifere possa viaggiare per decine o centinaia di chilometri (Lindgren et al. 1995, Rogers & Levetin 1998). La conseguenza genetica di questa caratteristica è che le piante anemofile sono caratterizzate da una scarsissima differenziazione genetica tra popolazioni e da una grande variabilità entro popolazione (Koenig & Ashley 2003, Acheré et al. 2005). In uno studio di paternità su una popolazione piccola e isolata di *Pinus sylvestris*, specie con impollinazione anemofila, è stato dimostrato che, nonostante la popolazione più vicina fosse a 30 km, il 5% del flusso pollinico proveniva dall'esterno rispetto all'area di studio (Robredo-Arnuncio & Gil 2005); mentre nell'abete rosso, con un approccio simile all'analisi di parentela, Burczyk et al. (2004) hanno dimostrato che all'interno di una *seed orchard* di 0.89 ha l'83% dei semi è stato impollinato da polline proveniente dall'esterno.

Un'altra possibile spiegazione al fatto che individui provenienti dalla foresta sottostante siano in grado di insediarsi in un'area caratterizzata da condizioni assai differenti da quelle in cui sono stati prodotti, potrebbe risiedere nel fatto che le condizioni attuali di temperatura alla *treeline* siano più favorevoli per genotipi provenienti dalla fascia altitudinale immediatamente sottostante il limite continuo del bosco. Infatti, come sottolineato da Billington & Pelham (1991) e Jump & Peñuelas (2005), in generale il flusso genico da aree più calde potrà rivelarsi fondamentale per l'adattamento alle nuove condizioni ambientali determinate dall'attuale innalzamento delle tempe-

perature medie.

L'elevato flusso genico e la differenziazione riscontrata tra adulti presenti alla *treeline* e rinnovazione ($F_{ST} = 0.009$ e $R_{ST} = 0.03$), molto bassa sebbene più elevata rispetto a quella normalmente riscontrata per l'abete rosso tra popolazioni geograficamente anche molto distanti (Acheré et al. 2005), confermano le attese del modello di Austerlitz et al. (2000). Infatti, i nostri risultati indicano che l'avanzamento del fronte di colonizzazione viene principalmente supportato dal flusso genico dalla popolazione sorgente, e non dai pochi individui adulti insediati alla *treeline*.

Per quanto riguarda il successo riproduttivo, è interessante notare che la distribuzione del numero di figli tra le piante adulte risulta fortemente sbilanciata, con la pianta 2336 compatibile come genitore con 52 individui giovani, e quindi coinvolta ben nel 23% degli eventi riproduttivi riscontrati nell'area di studio. Questa percentuale sale al 59% se si considerano le 5 piante adulte con maggiore successo riproduttivo. Un risultato simile è stato riscontrato da Dow & Ashley (1996) in *Quercus macrocarpa*, una specie però caratterizzata da una limitata capacità di disseminazione, testimoniata dal fatto che gli individui giovani siano stati tutti localizzati immediatamente attorno alla pianta d'origine. Il successo riproduttivo degli adulti alla *treeline* è risultato essere significativamente correlato al diametro delle piante. In studi precedenti basati su dati genetici sono stati ottenuti risultati contrastanti riguardanti la relazione tra successo riproduttivo e dimensioni delle piante. In *Dicorynia guianensis*, una specie tropicale, è stata evidenziata una relazione positiva tra il successo riproduttivo e il diametro (Latouche-Hallé et al. 2004). Il volume della chioma è invece risultato essere solo debolmente associato al successo riproduttivo in *Quercus macrocarpa* (Dow & Ashley 1998). In *Gleditsia triachantos*, la fertilità femminile è risultata dipendente dalle dimensioni della pianta solo in una delle due aree contigue studiate da Schnabel et al. (1998). Alla *treeline* potrebbe essere più conveniente investire in crescita radiale che in altezza per sfruttare maggiormente la protezione della copertura nevosa e le condizioni favorevoli che essa determina a livello del suolo, evitando i danni causati dai forti venti, dalle tempeste di ghiaccio e dalla siccità invernale (Stevens & Fox 1991), oppure le piante di diametro maggiore potrebbero semplicemente avere avuto il vantaggio di essere stati i primi colonizzatori, producendo così una progenie più numerosa semplicemente poiché coinvolti in un maggior numero di eventi riproduttivi. Però si deve tener conto che alla *treeline* le dimensio-

ni della pianta non ne rispecchiano necessariamente l'età, a causa dei vincoli che le particolari condizioni ambientali impongono alla crescita, e gli individui più prolifici potrebbero essere stati solamente favoriti, ad esempio, dalla loro posizione nell'area studiata. Per meglio comprendere le cause del *pattern* del successo riproduttivo riscontrato sarà interessante stimare l'età delle piante attraverso analisi dendrocronologiche, al fine di valutare se le differenze nel successo riproduttivo siano imputabili ad un diverso numero di stagioni riproduttive attraversate dalle piante adulte, oppure caratterizzare genotipicamente le piante adulte con marcatori mappati su sequenze espresse, i cui trascritti sono coinvolti in processi metabolici importanti in ambienti altamente selettivi, per raccogliere eventuali prove a favore dell'esistenza di adattamenti alle condizioni della *treeline* (Bozhko et al. 2003).

Infine, i risultati di questo studio, da considerarsi preliminari, potranno venire chiarificati sia aumentando il numero dei marcatori molecolari utilizzati e, di conseguenza, le probabilità di esclusione sulla base delle quali viene svolta l'analisi di parentela, sia ampliando il campionamento analizzando individui adulti nella foresta sottostante per valutare quale sia il contributo relativo delle fasce altitudinali inferiori all'insediamento della rinnovazione alla *treeline*.

Ringraziamenti

La ricerca è stata supportata dal progetto MURST-COFIN 2002: "Foreste di alta quota delle Alpi e degli Appennini: strutture, fattori limitanti, adattamenti fisiologici e dinamiche passate, presenti e future", coordinato dal Prof. Renzo Motta. Gli autori ringraziano Patrizia Rossi, Beppe Storti, Roberta Berretti, il Prof. Renzo Motta e il personale della Stazione Forestale di Paneveggio (TN) per avere contribuito all'organizzazione e alla logistica dell'attività di campo, Marilena Meloni per le informazioni riguardanti i marcatori utilizzati e il Prof. Pietro Piussi per gli utili commenti su una prima versione del manoscritto.

Bibliografia

Acheré V, Favre JM, Besnard G, Jeandroz S (2005). Genomic organization of molecular differentiation in Norway spruce (*Picea abies*). *Molecular Ecology* 14: 3191-3201.

Austerlitz F, Mariette S, Machon N, Gouyon PH, Godelle B (2000). Effects of colonization processes on genetic diversity: differences between annual plants and tree species. *Genetics* 154: 1309-1321.

Beniston M, Diaz HF, Bradley RS (1997). Climate change at high elevation sites: an overview. *Climatic Change* 36:

233-251.

Bernetti G (1995). *Silvicoltura speciale*. UTET, Torino.

Billington HL, Pelham J (1991). Genetic variation in the date of bud set in Scottish Birch populations: Implication for climate change. *Functional Ecology* 5: 403-409.

Bozhko M, Riegel R, Schubert R, Muller-Starck G (2003). A cyclophilin gene marker confirming geographical differentiation of Norway spruce populations and indicating viability response on excess soil-born salinity. *Molecular Ecology* 12: 3147-3155.

Brown AHD, Weir BS (1983). Measuring genetic variability in plant populations. In: *Isozymes in Plant Genetics and Breeding*, (Tanksley SD, Orton PA eds). Elsevier Science Publications, Amsterdam, The Netherlands.

Bucci G, Menozzi P (2002). Spatial autocorrelation and linkage of Mendelian RAPD markers in a population of *Picea abies* Karst. *Molecular Ecology* 11: 305-315.

Burczyk J, Lewandowski A, Chalupa W (2004). Local pollen dispersal and distant gene flow in Norway spruce (*Picea abies*[L.] Karst.). *Forest Ecology and Management* 197: 39-48.

Cavada E, Piussi P (1974). Osservazioni sull'innervamento in un taglio raso a buca. *Italia Forestale e Montana* 29: 74-79.

Céspedes M, Gutierrez MV, Holbrook NM, Rocha OJ (2003). Restoration of genetic diversity in the dry forest *Swietenia macrophylla* (Meliaceae) after pasture abandonment in Costa Rica. *Molecular Ecology* 12: 3201-3212.

Collignon AM, Van de Sype H, Favre JM (2002). Geographical variation in random variation amplified polymorphic DNA and quantitative traits in Norway spruce. *Canadian Journal of Forest Research* 32: 266-282.

Dow B, Ashley M (1996). Microsatellites analysis of seed dispersal and parentage of saplings in bur oak, *Quercus macrocarpa*. *Molecular Ecology* 5: 615-627.

Dow B, Ashley M (1998). High level of gene flow in bur oak revealed by paternity analysis using microsatellites. *Journal of Heredity* 89: 62-70.

Dirnböck T, Dullinger S, Grabherr G (2003). A regional impact assessment of climate and land-use change on alpine vegetation. *Journal of Biogeography* 30: 401-417.

Dullinger S, Dirnböck T, Grabherr G (2004). Modelling climate change-driven treeline shifts: relative effects of temperature increase, dispersal and invasibility. *Journal of Ecology* 92: 241-252.

Epperson BK (2003). *Geographical Genetics*. Princeton University Press, Princeton.

Erickson DL, Hamrick JL, Kochert GD (2004). Ecological determinants of genetic diversity in an expanding population of the shrub *Myrica cerifera*. *Molecular Ecology* 13: 1655-1664.

Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM (1992). Analysis of

- molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction sites. *Genetics* 131: 479-491.
- Gandolfo C, Sulli M (1993). Studi sul clima del Trentino per ricerche dendroclimatologiche e di ecologia forestale. Provincia Autonoma di Trento, Trento.
- Garcia C, Arroyo M, Godoy JA, Jordano P (2005). Mating patterns, pollen dispersal, and the ecological maternal neighbourhood in a *Prunus mahaleb* L. population. *Molecular Ecology* 14: 1821-1830.
- Gerber S, Mariette S, Streiff R, Bonédés C, Kremer A (2000). Comparison of microsatellites and AFLP markers for parentage analysis. *Molecular Ecology* 9: 1037-1048.
- Gerber S, Chabrier P, Kremer A (2003). FAMOZ: a software for parentage analysis using dominant, codominant and uniparentally inherited markers. *Molecular Ecology Notes* 3: 479-481.
- Giesecke T, Bennett KD (2004). The Holocene spread of *Picea abies* (L.). Karst. in Fennoscandia and adjacent areas. *Journal of Biogeography* 31: 1523-1548.
- Grant MC, Mitton JB (1977). Genetic differentiation among growth forms of Engelmann spruce and subalpine fir at tree line. *Arctic and Alpine Research* 9: 259-263.
- Hamrick JL, Godt MJW, Sherman-Broyles SL (1992). Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forest* 6: 95-124.
- Hartl DL, Clark AG (1997). Principles of Population Genetics. Third Edition. Sinauer Associates Inc., Sunderland, MA.
- Houghton JT (2001). Climate Change 2001: The Scientific Basis. Contribution to Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel to Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge.
- Huntley B, Birks HJB (1983). An atlas of past and present pollen maps for Europe: 0-13000 years ago. Cambridge University Press, Cambridge.
- Jamieson A, Taylor SS (1997). Comparisons of three probability formulae for parentage exclusion. *Animal Genetics* 28: 397-400.
- Jones AG, Ardren WR (2003). Methods of parentage analysis in natural populations. *Molecular Ecology* 12: 2511-2523.
- Jump AS, Peñuelas J (2005). Run to stand still: adaptation and the response of plants to rapid climate change. *Ecology Letters* 8: 1010-1020.
- Koening WD, Ashley (2003). Is pollen limited? The answer is blowin' in the wind. *Trends in Ecology and Evolution* 18: 157-159.
- Körner C (1998). Worldwide positions of the alpine treelines and their causes. The Impacts of Climate Variability on Forests (Baniston M, Innes JL eds). Lecture Notes in Earth Science, 74: 221-229. Springer, Berlin.
- Latouche-Hallé C, Ramboer A, Bandou E, Caron H, Kremer A (2004). Long-distance pollen flow and tolerance to selfing in a neotropical tree species. *Molecular Ecology* 13: 1055-1064.
- Lefèvre F, Fady B, Fallour-Rubio D, Ghosn D, Bariteau M (2004). Impact of founder population, drift and selection on the genetic diversity of a recently translocated tree population. *Heredity* 93: 542-550.
- Leonardi S, Raddi S, Borghetti M (1996). Spatial autocorrelation of allozyme traits in a Norway spruce (*Picea abies*) population. *Canadian Journal of Forest Research* 26: 63-71.
- Lindgren D, Paule L, Shen XH, Yazdani R, Segerstrom U, Wallin J E, Lejdebros ML (1995). Can viable pollen carry Scots pine genes overlong distance? *Grana* 34: 64-69.
- Lindenmayer DB, Peakall R (2000). The Tumut experiment-integrated demographic and genetic studies to unravel fragmentation effects: a case study of the native bush rat. pp. 173-201 in A Young and G. Clarke, eds. Genetics, demography, and the viability of the fragmented population. Cambridge University Press, Cambridge.
- Lundkvist K (1979). Allozyme frequencies distributions in four Swedish populations of Norway spruce (*Picea abies* K.). I. Estimation of genetic variation within and among populations, genetic linkage and a mating system parameter. *Hereditas* 90: 127-143.
- Maguire TL, Peakall R, Saenger P (2002). Comparative analysis of genetic diversity in the mangrove species *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. (Avicenniaceae) detected by AFLPs and SSRs. *Theoretical and Applied Genetics* 104: 388-398.
- Mariette S, Lefranc M, Legrand P, Taneyhill D, Frascaria-Lacoste N, Machon N (1997). Genetic variability in wild cherry populations in France: effects of colonization processes. *Theoretical and Applied Genetics* 94: 904-908.
- Marshall TC, Slate J, Kruuk EB, Pemberton JM (1998). Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology* 7: 639-655.
- McCullagh P, Nelder JA (1989). Generalized Linear Models, 2nd edition. Chapman & Hall, London.
- Meagher TR, Thompson E (1986). The relationship between single parent and parent pair genetic likelihoods in genealogy reconstruction. *Theoretical Population Biology* 29: 87-106.
- Michalakis Y, Excoffier L (1996). A generic estimation of population subdivision using distances between alleles with special reference for microsatellite loci. *Genetics* 142: 1061-1064.
- Mitton JB (1995). Genetics and the physiological ecology of conifers. In: Ecophysiology of coniferous forests, Smith WK & Hinckley TM eds. Academic Press, San Diego.
- Motta R, Franzoi M (1997). Foreste di montagna ed ungu-

- lati selvatici nel Parco naturale di Paneveggio-Pale di San Martino (TN). *Dendronatura* 18: 15-32.
- Motta R, Nola P (1996). Fraying damages in the subalpine forest of Paneveggio (Trento, Italy): a dendroecological approach. *Forest Ecology and Management* 88: 81-86.
- Peakall R, Smouse PE (2005). GenAlEx V6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Australian National University, Canberra. [online] URL: <http://www.anu.edu.au/BoZo/GenAlEx>
- Pfeiffer A, Olivieri AM, Morgante M (1997). Identification and characterization of microsatellites in Norway spruce (*Picea abies* K). *Genome* 40: 411-419.
- Premoli AC (2003). Isozyme polymorphisms provide evidence of clinal variation with elevation in *Nothofagus pumilio*. *Journal of Heredity* 94: 218-226.
- R Development Core Team (2005). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. [online] URL: <http://www.r-project.org>.
- Raspé O, Jacquemart AL (1998). Allozyme diversity and genetic structure of European populations of *Sorbus aucuparia* L. (Rosaceae: Maloideae). *Heredity* 81: 537-545.
- Robledo-Arnuncio JJ, Gil L (2005). Patterns of pollen dispersal in a small population of *Pinus sylvestris* L. revealed by total-exclusion paternity analysis. *Heredity* 94: 13-22.
- Rogers CA, Levetin E (1998). Evidence of long-distance transport of mountain cedar pollen into Tulsa, Oklahoma. *International Journal of Biometeorology* 42: 65-72.
- Schmidt-Vogt H (1977). Die Fichte - Ein Handbuch in zwei Bänden, Band I Taxonomic, Verbreitung, Morphologie, Ökologie, Waldgesellschaften. Paul Parey, Hamburg.
- Schnabel A, Nason JD, Hamrick JL (1998). Understanding the population genetic structure of *Gleditsia triacanthos* L.: seed dispersal and variation in female reproductive success. *Molecular Ecology* 7: 819-832.
- Scotti I, Paglia GP, Magni F, Morgante M (2002). Efficient development of dinucleotide microsatellite markers in Norway spruce (*Picea abies* Karst.) through dot-blot selection. *Theoretical and Applied Genetics* 104: 1035-1041.
- Slatkin M (1995). A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics* 139: 457-462.
- Sperisen C, Büchler U, Gugerli F, Matyas G, Geburek T, Vendramin GG (2001). Tandem repeats in plant mitochondrial genomes: application to the analysis of population differentiation in the conifer Norway spruce. *Molecular Ecology* 10: 257-263.
- Stevens GC, Fox JF (1991). The causes of treeline. *Annual Review of Ecology and Systematics* 22: 177-191.
- Streiff R, Ducouso A, Lexer C et al. (1999). Pollen dispersal inferred from paternity analysis in a mixed oak stand of *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. *Molecular Ecology* 8: 831-841.
- Taira H, Tsumura Y, Tomaru N, Ohba K (1997). Regeneration system and genetic diversity of *Cryptomeria japonica* growing at different altitude. *Canadian Journal of Forest Research* 27: 447-452.
- Theurillat JP, Guisan A (2001). Potential impact of climate change on vegetation in the European Alps: a review. *Climatic Change* 50: 77-109.
- Vendramin GG, Anzidei M, Madaghiele A, Sperisen C, Bucci G (2000). Chloroplast microsatellite analysis reveals the presence of population subdivision in Norway spruce (*Picea abies* K.). *Genome* 43: 68-78.
- Walther GR (2004). Plants in a warmer world. *Perspectives in plant Ecology, Evolution and Systematics* 6: 169-185.
- WMO (2002). WMO Statement on the Status of Global Climate in 2002. WMO (World Meteorological Organization) Press Release n. 684, Geneva.
- Zwiers FW (2002). The 20-years forecast. *Nature* 416: 690-691.