

IGNAZIO MONTELEONE
PIERO BELLETTI

Analisi e salvaguardia della biodiversità negli ecosistemi forestali

La biodiversità negli ecosistemi forestali

Gli ecosistemi forestali sono sistemi dinamici assai complessi, componenti essenziali degli ambienti naturali. Il loro apporto alla comunità umana è essenziale, assolvendo ad un ampio spettro di funzioni: ecologica, protezione idro-geologica, paesaggistico-ricreativa e non per ultima quella economico-produttiva.

Gli alberi forestali sono organismi caratterizzati da una considerevole longevità e da sistemi riproduttivi tendenzialmente allogami, che accrescono il loro grado di diversità genetica, mantenendo alta la variabilità *intra*-specifico. Infatti, se da un lato l'impollinazione incrociata tra individui diversi tende a rimescolare continuamente il materiale ereditario garantendo l'eterogeneità genetica, dall'altro un'efficace dispersione del polline e dei semi assicura un buon flusso genico tra gli individui e quindi elevati livelli di diversità genetica in seno ad una specie. Questi meccanismi, combinati con i vari tipi di ambienti in cui vivono, hanno contribuito a far sì che le piante forestali siano gli organismi viventi a più alta variabilità genetica tra tutti quelli esistenti (PALMBERG-LERCHE, 1996).

Per meglio comprendere il concetto di biodiversità occorre soffermarsi sul significato reale del termine. La *Convention on Biological Diversity* (Rio de Janeiro, 1992) definisce la diversità biologica come la va-

riabilità di organismi viventi appartenenti ad ecosistemi terrestri, d'acqua dolce, marini e delle relazioni che li caratterizzano. Il concetto di biodiversità può essere inteso a più livelli: diversità all'interno di popolazione, di singola specie, di ecosistema e di paesaggio. In generale, la quantità di variabilità genetica definisce il grado di adattabilità potenziale di una specie nei confronti di cambiamenti climatici ed ambientali. La biodiversità è come un libro in cui le singole parole (geni) rappresentano le informazioni genetiche in grado di conferire ad una specie le risorse necessarie per affrontare le difficoltà ambientali. La variabilità genetica riveste, pertanto, un ruolo primario nel garantire un'adeguata stabilità dinamica a lungo termine alle popolazioni forestali. Un'ampia diversità genetica è indispensabile per assicurare una migliore "funzionalità" e adattabilità alle specie forestali continuamente sottoposte ad una notevole molteplicità di fattori di stress biotici ed abiotici. Il progressivo deterioramento a cui sono soggetti i sistemi forestali costituisce una severa minaccia per le loro potenzialità di adattamento alle diverse condizioni climatiche ed ambientali. L'azione indiscriminata dell'uomo sul territorio (pratiche selvicolturali improprie, incendi boschivi, urbanizzazione selvaggia, inquinanti atmosferici, etc.) da sempre ha esposto intere comunità vegetali al pericolo di estinzione. I cambiamenti climatici in atto, dovuti in

primo luogo all'aumento della concentrazione di CO₂ nell'atmosfera e alle fluttuazioni meteorologiche tipiche dell'attuale era interglaciale, costringeranno le specie forestali alla ricerca di nuove aree per gli inarrestabili fenomeni di desertificazione. L'erosione genetica, in particolare, rappresenta uno dei rischi più pressanti per la sopravvivenza delle foreste. Il problema è particolarmente sentito nelle regioni tropicali, ma anche nelle aree temperate la riduzione della variabilità genetica procede a ritmi sostenuti. L'incessante distruzione di habitat naturali in seguito ad interventi di bonifica, allo sviluppo di infrastrutture turistiche e all'introduzione di colture intensive, che portano ad una estrema semplificazione del paesaggio, minaccia pericolosamente la diversità biologica. Inoltre, da non sottovalutare è la continua perdita di popolazioni locali geneticamente diverse (ecotipi) per via della selvaggia introduzione di germoplasma di provenienza incerta. In Italia è soprattutto questo fattore a suscitare profonde preoccupazioni, a causa dell'insufficiente offerta di materiale propagativo di provenienza autoctona rispetto alla domanda, enormemente cresciuta in questi ultimi anni anche a seguito dell'entrata in vigore di normative comunitarie che stimolano la riforestazione. Spesso, pertanto, si utilizza materiale propagativo proveniente da aree geograficamente lontane e diverse da quelle di utilizzazione, con i relativi problemi legati alla scarsa adattabilità alle condizioni pedo-climatiche delle aree di utilizzazione e di possibile introduzione di parassiti. La selezione naturale, infatti, tende a favorire individui che meglio si adattano alle particolari condizioni stazionali in cui vivono e si riproducono. La perdita di eventuali popolazioni autoctone di un'area e della loro identità genetica a seguito di inquinamento genetico avrebbe come probabile effetto la diminuzione della capacità di adattamento ai continui cambiamenti ambientali (PALMBERG-LERCHE, 1996).

Da quanto emerso, appare fondamentale salvaguardare la biodiversità degli ecosistemi forestali, valutandone le componenti, imparando a conoscere i processi che la in-

fluenzano e cercando di prevedere le conseguenze di una sua eventuale riduzione. Certamente, la complessità dell'argomento è disarmante, in quanto i fattori e i processi che entrano in gioco sono tantissimi. La "Convenzione sulla diversità biologica" della Conferenza di Rio de Janeiro impartisce i principi per far sì che la biodiversità venga tutelata a livello planetario a tutti i livelli, dagli ecosistemi fino ai singoli geni. La realizzazione di programmi di conservazione efficaci dovrebbe essere basata sulla comprensione della distribuzione della variabilità genetica e dell'azione delle forze evolutive che agiscono sugli ecosistemi naturali che si vogliono salvaguardare (LEDIG *et al.*, 1990). Si rendono necessarie, pertanto, informazioni complete sulla ripartizione della variabilità genetica *intra* e *inter-specifica*, sulle caratteristiche ecologiche e su tutte le variabili biologiche che intervengono sulle specie d'interesse, per meglio indirizzare gli sforzi scientifici ed economici nella salvaguardia delle specie forestali e degli ambienti in cui vivono. L'obiettivo principale della conservazione di una specie è consentirne la sopravvivenza nella sua area naturale di crescita (conservazione *in situ*). Per ottenere questo risultato è necessario tentare di conservare la maggior parte del patrimonio genetico di una specie, tutelando in primo luogo le popolazioni indigene meglio adattate al loro habitat di appartenenza e per questo sorgente inestimabile di "geni vincenti". Un'eventuale perdita di individui, infatti, determinerebbe la scomparsa irreversibile di alcuni geni fondamentali nella costituzione della variabilità genetica di una specie. La salvaguardia delle risorse genetiche prevede, inoltre, interventi diretti dell'uomo mirati alla ricostituzione delle condizioni adeguate per la conservazione delle specie d'interesse. In particolare, l'attenzione è rivolta al mantenimento di aree protette, ricorrendo anche a pratiche selvicolturali sostenibili, ove le specie possano crescere e riprodursi naturalmente. L'individuazione di popolamenti ad elevata variabilità genetica può, inoltre, essere utile all'identificazione di boschi da seme per il reperimento e la fornitura di materiale di

propagazione di buona qualità. I semi, infatti, provenienti da popolazioni forestali con un elevato grado di omozigosi, spesso, presentano scarse caratteristiche germinative. I boschi da seme devono, pertanto, possedere buoni livelli di biodiversità a garanzia di una buona adattabilità delle popolazioni future. Questo aspetto riveste particolare importanza nella ricostituzione di soprassuoli naturali dove le caratteristiche fenotipiche non devono necessariamente rispondere ad esigenze produttive. La realizzazione di impianti d'arboricoltura da legno, d'altronde, non può prescindere dall'utilizzare materiale di propagazione di elevata qualità genetica, anche se gli aspetti fenotipici hanno carattere preponderante.

La caratterizzazione della biodiversità delle specie forestali ha come obiettivo la misura della variabilità genetica e la valutazione della sua distribuzione all'interno e tra le popolazioni che compongono una specie. Lo studio della variabilità genetica fornisce, altresì, indicazioni utili sulla struttura e sulla diversità genetica delle popolazioni forestali in esame e sulle modalità più adatte alla loro conservazione, nonché l'individuazione di eventuali boschi da seme.

L'analisi della variabilità genetica

L'analisi genetica della biodiversità delle specie forestali può essere condotta utilizzando alcuni marcatori genetici, che consentono di evidenziare differenze esistenti a livello di DNA e quindi di fornire una stima della variabilità presente tra individui, tra popolazioni e tra specie. In particolare, i marcatori molecolari consentono un livello di osservazione più fine e dettagliato analizzando alcune delle sequenze nucleotidiche del genoma di un individuo. I marcatori possono essere divisi in tre classi principali: marcatori morfo-fisiologici, marcatori biochimici e i più recenti marcatori basati sull'analisi diretta del DNA. I marcatori morfo-fisiologici (ad esempio forma delle foglie, colori dei fiori, stadi fenologici, *etc.*) non trovano, oggi, un'ampia applicazione in studi di variabilità genetica poiché

risentono dell'effetto ambientale (pressione esercitata dall'ambiente sull'espressione di alcuni geni) e per le loro caratteristiche di controllo allelico spesso sconosciute. I marcatori biochimici riguardano composti secondari del metabolismo (terpeni), oppure proteine enzimatiche (isoenzimi). In particolare, l'utilizzo degli isoenzimi, sin dalla loro introduzione, ha contribuito all'acquisizione di importanti informazioni sulla struttura genetica di numerose specie forestali. Gli isoenzimi rappresentano l'espressione proteica delle diverse forme alleliche dei geni e pertanto in ciascun individuo possono coesistere alloenzimi aventi conformazione molecolare differente. Queste differenze riflettono direttamente la variabilità genetica individuale. Gli isoenzimi presentano notevoli vantaggi: non sono soggetti ad effetti ambientali ed hanno un sistema d'ereditarietà dei caratteri di tipo mendeliano semplice. L'adozione di metodi di biologia molecolare, oramai da alcuni anni, ha permesso di determinare la variabilità genetica a livello di DNA, ovviando ai problemi di mascheramento dell'espressione genotipica dovuta ad effetti ambientali. I marcatori molecolari consentono un'indagine genetica più dettagliata a livello di DNA, analizzando anche quei tratti che in genere non sono espressi. Il loro principale vantaggio è dato dall'elevato grado di informazioni ottenute sulle differenze genetiche degli individui di una popolazione. I risultati ottenuti dall'analisi, inoltre, sono ampiamente riproducibili, anche se non sempre i costi economici e la facilità d'analisi sono accessibili.

Il settore di Genetica agraria del D.I.V.A.P.R.A. (Dipartimento di Valorizzazione e Protezione delle Risorse Agroforestali - Facoltà di Agraria - Università di Torino) da anni si occupa di studi di variabilità genetica di specie forestali, sia latifoglie che conifere. Le indagini genetiche sono volte all'acquisizione di informazioni sulla struttura e distribuzione della biodiversità presente all'interno e tra le singole popolazioni delle specie forestali con lo scopo di determinare le strategie più idonee di conservazione. La caratterizzazione ge-

netica trova, inoltre, come finalità l'individuazione di popolamenti aventi buone capacità di adattamento a specifiche condizioni pedo-climatiche da destinare alla produzione di seme di elevata qualità.

L'analisi genetica è condotta utilizzando marcatori isoenzimatici e molecolari (RAPDs) che consentono di stimare l'effettiva diversità genetica presente tra gli individui di una specie (fig. 1). L'estrazione delle proteine isoenzimatiche e del DNA genomico è effettuata a partire da aghi o endospermi di conifera e da gemme invernali o tessuti fogliari giovani nel caso di latifoglie. Gli individui analizzati sono campionati in bosco considerando soggetti non troppo contigui in modo da ridurre la probabilità di analizzare individui imparentati. La stima della variabilità genetica è poi realizzata considerando alcuni indici di biodiversità che forniscono indicazioni sull'entità, distribuzione e struttura della variabilità genetica nonché sulla differenziazione presente tra ed entro le popolazio-

ni. In particolare, il numero medio di alleli per *locus* e la percentuale di *loci* polimorfici consentono di misurare il livello di ricchezza allelica, l'indice di fissazione, il grado di stabilità di una popolazione secondo il principio di Hardy-Weinberg, il cui scostamento è indice di possibili fenomeni di autoimpollinazione o di incrocio tra individui imparentati. L'eterozigosi media attesa ed osservata esprimono la diversità genetica esistente nelle popolazioni e stimano quantitativamente la biodiversità. Il livello di differenziazione genetica, infine, è misurato scomponendo la variabilità genetica totale nelle sue componenti *intra* ed *inter*-popolazione. Attraverso le distanze genetiche di Nei (1972, 1978) e loro successiva elaborazione secondo il metodo UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic means*) (SNEATH, SOKAL, 1973) sono realizzati i dendrogrammi, dove le diverse popolazioni sono separate secondo *cluster* di somiglianza genetica.

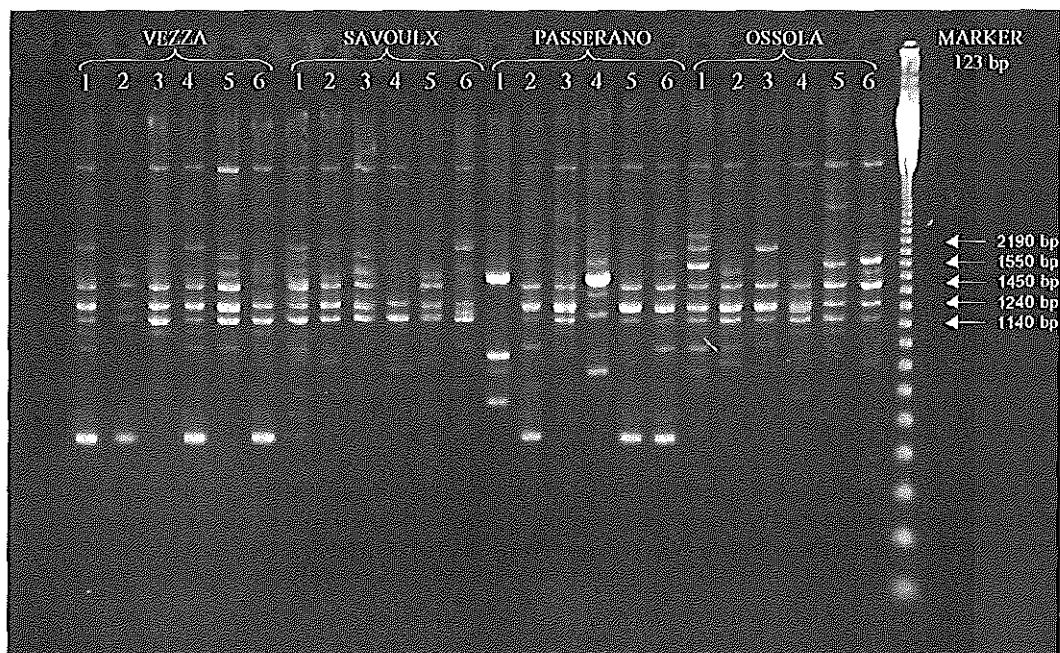


Fig. 1 - I marcatori molecolari (RAPD) consentono di determinare le differenze genetiche tra gli individui analizzando la presenza/assenza di alcuni frammenti di DNA separati elettroforeticamente su gel di agarosio. Il profilo elettroforetico riportato mette a confronto sei diversi individui di alcune popolazioni di pino silvestre del Piemonte.

L'analisi genetica di alcune specie dell'arco alpino occidentale

Le indagini genetiche hanno riguardato numerose specie forestali dell'arco alpino occidentale come faggio, larice, abete rosso, acero di monte, frassino maggiore, pino silvestre, pino cembro e alcune specie di quercia tra cui farnia, rovere, cerro e roverella. In generale, i popolamenti analizzati sono risultati essere caratterizzati da buoni livelli di variabilità genetica, determinati in massima parte da differenze interne alle singole popolazioni, così come è atteso per la limitata area geografica considerata. Le differenze di variabilità genetica evidenziate tra le popolazioni di specie diverse, infatti, sono assai ridotte, tranne nell'abete rosso in cui i popolamenti risultano sufficientemente differenziati: l'indice di differenziazione è uguale al 6.8% (tab. 1). Pertanto, le popolazioni di ciascuna specie possono essere considerate come appartenenti ad un'unica popolazione, avente un patrimonio genetico comune. Probabilmente è trascorso relativamente poco tempo dall'ultima glaciazione perché le popolazioni possano aver subito forti pressioni da parte della selezione naturale, in genere causa di una differenziazione significativa. Inoltre, gli areali della maggior parte delle

specie mostrano carattere di continuità, che unitamente ad una buona capacità di dispersione del polline, determinano un flusso genico continuo tra le popolazioni, rendendole geneticamente molto simili e confermando l'efficienza dei sistemi allogami delle specie analizzate. L'areale di diffusione dell'abete rosso in Piemonte, al contrario, è frammentario, con una distribuzione a chiazze, determinando in tal modo una certa difficoltà di scambio genetico e quindi un maggior grado di differenziazione tra le popolazioni.

Anche l'analisi genetica delle singole specie di quercia analizzate ha evidenziato una scarsa differenziazione tra le popolazioni. L'indagine *inter-specifica*, poi, ha confermato la complessa convergenza genetica esistente tra farnia e rovere, dove è stato possibile rilevare evidenti fenomeni di introgressione tra le due specie, soprattutto laddove i popolamenti non erano puri ma misti. Del tutto attesa, invece, la netta separazione del cerro, le cui popolazioni risultano ben differenziate e distinte dalle altre specie (fig. 2).

L'indagine condotta su alcuni popolamenti alpini e collinari di pino silvestre del Piemonte ha, altresì, evidenziato un'indubbia divergenza genetica tra le popolazioni delle due aree. In particolare, i popolamenti

SPECIE	H_T	H_S	D_{ST}	G_{ST}
Faggio	0.270	0.258	0.012	0.044
Larice	0.268	0.261	0.007	0.026
Abete rosso	0.293	0.273	0.020	0.068
Pino silvestre	0.341	0.329	0.012	0.035
Pino cembro	0.287	0.278	0.009	0.031
Farnia	0.266	0.260	0.006	0.023
Rovere	0.341	0.322	0.019	0.056
Roverella	0.216	0.206	0.010	0.046
Cerro	0.394	0.379	0.015	0.038
Frassino	0.217	0.206	0.011	0.050
Acero di monte	0.207	0.200	0.007	0.034

Tab. 1 - Valori medi di differenziazione genetica di alcune delle popolazioni relative alle specie analizzate del settore alpino-padano dell'Italia nord-occidentale. H_T indica la variabilità genetica totale, H_S la variabilità genetica interna alle popolazioni, D_{ST} la variabilità genetica tra popolazioni e G_{ST} il grado di differenziazione genetica. La variabilità genetica totale è distribuita in gran parte all'interno delle popolazioni. La divergenza genetica dei popolamenti risulta assai ridotta ad eccezione dell'abete rosso (G_{ST}).

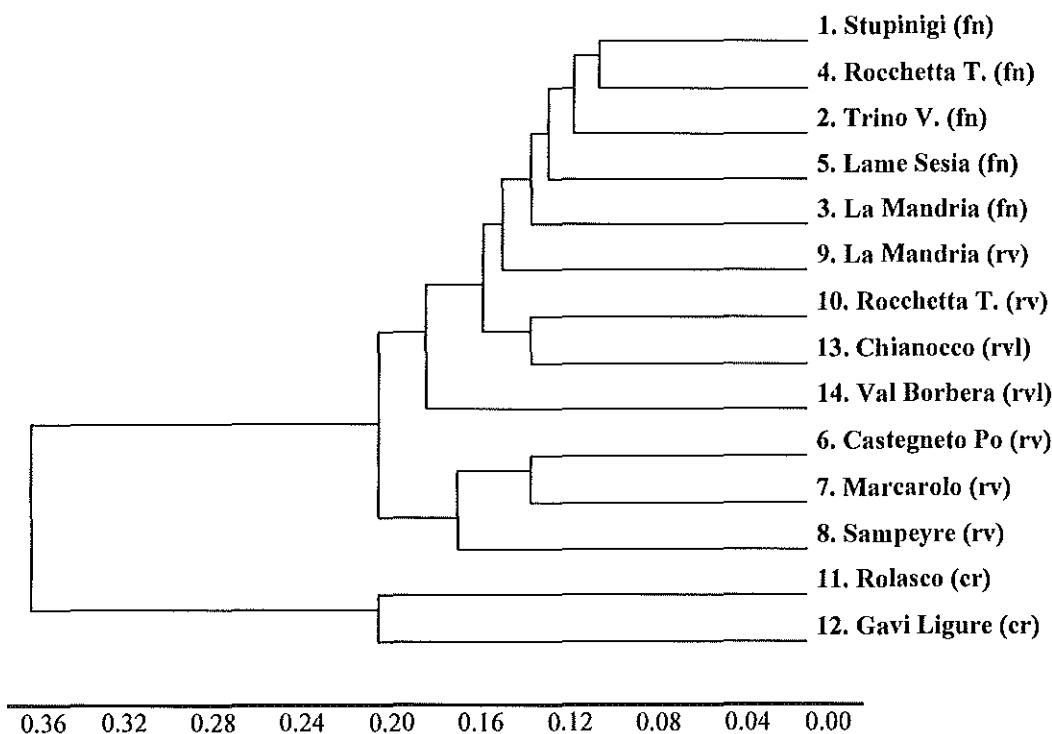


Fig. 2 - Il dendrogramma è costruito sulla base delle distanze genetiche tra le popolazioni delle specie di quercia analizzate. Il cerro è nettamente differenziato dalle altre specie. Solamente alcune delle popolazioni di rovere (Marcarolo, Castagneto Po e Sampeyre) risultano chiaramente distinte dalle rimanenti poiché rovereti puri. Le specie di quercia sono le seguenti: farnia (fn), rovere (rv), roverella (rvl) e cerro (cr).

alpini hanno mostrato una maggiore diversità genetica, soprattutto per quanto riguarda i valori di ricchezza allelica e di eterozigoti (tab. 2). Le popolazioni collinari, invece, hanno evidenziato un elevato rischio di erosione genetica, presumibilmente dovuto all'isolamento geografico cui queste aree relitte sono sottoposte a partire dall'ultima glaciazione. L'attenzione, dunque, deve essere focalizzata su questi popolamenti, agendo con interventi selvicolturali mirati e impostando programmi più generali di tutela della biodiversità della specie.

Del tutto peculiare è risultata la situazione di alcune cembrete piemontesi. L'analisi genetica ha riscontrato un generalizzato stato di disequilibrio con un eccesso di omozigoti soprattutto nella popolazione dell'Allevet. I motivi di tale condizione genetica possono essere ricondotti ad alcune caratteristiche proprie della specie. Il cem-

bro, infatti, cresce a quote elevate (dove spesso costituisce il limite arboreo della vegetazione), in condizioni estremamente difficili, per cui le piantine tendono a crescere in microambienti dove le condizioni di temperatura, luce e suolo sono più favorevoli. Ecco perché spesso le cembrete, soprattutto alle alte quote, sono boschi radi dove si osservano numerosi collettivi (molte piante che nascono nel medesimo punto), che naturalmente favoriscono gli incroci tra individui imparentati con conseguente aumento dell'omozigosi. Per il bosco dell'Allevet si può ipotizzare un ulteriore fattore di disturbo dell'equilibrio di Hardy-Weinberg. Come per tutte le specie di conifere anche il cembro, dopo l'ultima glaciazione, ha ricolonizzato le aree occupate dai ghiacciai.

Le popolazioni di cembro, pertanto, possono essere andate incontro al cosiddetto "effetto del fondatore", una forza evolutiva

POPOLAZIONE	Numero medio di alleli per locus (N)	Numero effettivo di alleli per locus (N_e)	F_{is}	Percentuale di loci polimorfici (P)
1. Bossolasco	2.1	1.4	-0.066	75
2. Casalborgone	2.4	1.4	-0.070	88
3. Zezza d'Alba	2.1	1.4	0.019	81
4. Passerano Marmorito	2.3	1.5	0.137	94
MEDIA POP. COLLINARI	2.2	1.4	0.017	84
5. Carnino	2.1	1.4	-0.047	88
6. Fenestrelle	2.4	1.5	0.014	94
7. Toceno	2.3	1.5	0.057	75
8. Savoux	2.3	1.5	-0.026	94
MEDIA POP. MONTANE	2.3	1.5	0	88
MEDIA GENERALE	2.2	1.5	0.008	86

Tab. 2 - Valori di ricchezza allelica di alcuni popolamenti collinari ed alpini di pino silvestre in Piemonte. Le popolazioni montane presentano maggiori livelli di biodiversità rispetto a quelle collinari. L'analisi genetica è stata condotta attraverso marcatori isoenzimatici e molecolari RAPD (dati non riportati). Gli indici di ricchezza allelica calcolati sono i seguenti: numero medio di alleli per locus (N), numero effettivo di alleli per locus (N_e), indice di fissazione (F_{is}) e percentuale di loci polimorfici (P).

casuale molto simile a quella della deriva genetica, in grado di condurre a processi di speciazione qualora piccoli popolamenti o parte di una popolazione più grande colonizzano un nuovo ambiente portando con sé un campione incompleto del *pool* genico parentale.

Nel caso dell'Allevet, che è un bosco particolarmente isolato, il cosiddetto effetto del fondatore può aver avuto un'importanza assai più marcata, impedendo un amplia-

mento della base genetica a seguito di incroci con individui appartenenti ad altre popolazioni. L'Allevet, pertanto, presenta non solo elevati livelli di omozigosi, ma è risultato anche caratterizzato dai minori livelli di variabilità genetica presumibilmente a seguito di una selezione adattativa nei confronti di alcune varianti alleliche. È ipotizzabile, dunque, che per il bosco dell'Allevet sia in atto un processo di differenziazione (fig. 3).

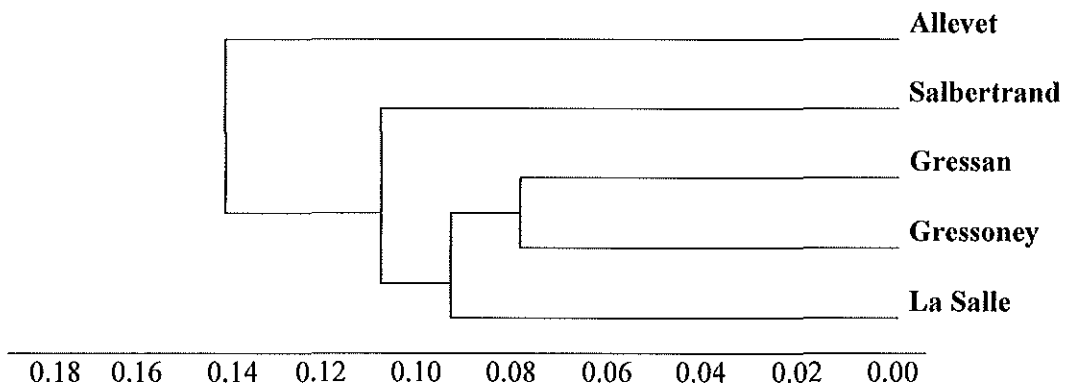


Fig. 3 - Il dendrogramma è costruito sulla base delle differenze genetiche secondo il metodo UPGMA. Le popolazioni di cembro sembrano condividere un unico *pool* genico risultando geneticamente molto simili. Soltanto il bosco dell'Allevet è distinto dalle altre popolazioni per le sue caratteristiche peculiari.

Gli studi di variabilità genetica hanno consentito, pertanto, di acquisire informazioni sull'entità e sulla distribuzione della biodiversità, nonché indicazioni utili alla pianificazione di interventi mirati alla conservazione della variabilità genetica di specie forestali e suggerimenti sulla scelta di boschi adatti alla produzione di seme di elevato valore genetico.

dott. Ignazio Monteleone

dott. Piero Belletti

Università di Torino - DI.VA.P.R.A. Genetica Agraria
Via L. da Vinci 44, 10095 Grugliasco (To)
Tel.: +39 011 6708803/04 - +39 011 6708826
e-mail: monteleo@agraria.unito.it
e-mail: belletti@agraria.unito.it

BIBLIOGRAFIA CITATA

PALMBERG-LERCHE C., 1996 - *Conservazione della diversità biologica e delle risorse genetiche forestali*. Sherwood, 2, 9: 29-33.

LEDIG F.T., MILLAR C.I., RIGGS L.A., 1990 - *Conservation of diversity in forest ecosystems*. Forest Ecology and Management, 35, 1-2: 1-197.

NEI M., 1972 - *Genetic distance between populations*. Amer. Naturalists, 106: 283-292.

NEI M., 1978 - *Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals*. Genetics, 89: 583-590.

SNEATH P.H.A., SOKAL R.R., 1973 - *Numerical Taxonomy: the principles and practice of numerical classification*. Freeman WH and Co, San Francisco, 573 pp.

Riassunto

Gli ecosistemi forestali sono sistemi dinamici complessi che necessitano di elevati livelli di biodiversità per far fronte ad eventuali cambiamenti climatici ed ambientali. Un'ampia variabilità genetica assicura una maggiore capacità adattativa alle specie forestali continuamente sottoposte a fattori di stress biotici ed abiotici. Tuttavia, la sopravvivenza dei sistemi forestali è sempre più minacciata dai cambiamenti climatici in atto e dall'incessante pressione antropica sul territorio. La salva-

guardia della biodiversità si rende, pertanto, necessaria, valutando la ripartizione delle sue componenti entro e tra le popolazioni e pianificando efficaci strategie di conservazione della variabilità genetica. L'analisi genetica della biodiversità può essere effettuata ricorrendo ad alcuni marcatori genetici, che consentono di evidenziare le differenze esistenti a livello di DNA tra le popolazioni e di acquisire informazioni sulla loro struttura e distribuzione della variabilità genetica.

Summary

Forest ecosystems are very complex and need high amount of genetic variability to be fully functional. At species level, genetic biodiversity accounts for adaptability and it is of fundamental importance to allow population to survive even under sub-optimal conditions. In order to preserve biodiversity of forest trees it is imperative to get knowledge on amount and distribution of genetic variability as well as on genetic structure of populations. Genetic variability can be estimated through the analysis of genetic markers: while the morphological ones are subjected to strong environmental influence, the biochemical and molecular markers appear to be more efficient. At DIVAPRA (University of Turin) studies on genetic variability of forest trees have been carrying on since many years. The most important investigated species are: European larch, European beech, Norway spruce, sycamore, European ash, Scots pine, Stone pine and several species of oaks. Some of the most interesting results obtained are briefly discussed.