

Candidato **Silvia Fiorentini**

Titolo della Tesi

Analisi spaziale della diversità genetica di popolamenti forestali vetusti: il caso di studio nella Riserva Integrale di Sasso Fratino

Relatore: **Dott.ssa Donatella Paffetti** - D.E.I.S.T.A.F. Università degli Studi di Firenze

Correlatore: **Dott.ssa Cristina Vettori** – I.G.V. Centro Nazionale delle Ricerche

Dott. Davide Travaglini - D.E.I.S.T.A.F. Università degli Studi di Firenze

Introduzione

L'analisi della struttura genetica spaziale delle popolazioni forestali è una metodologia che consente di comprendere al meglio i fenomeni di microevoluzione che hanno caratterizzato i popolamenti. Permette inoltre di delineare il grado della distribuzione genetica in relazione ai caratteri stazionali del territorio, che possono influire sulla dispersione genica attraverso barriere al *gene flow* e di ipotizzare il grado di intervento antropico che c'è stato nel passato.

Obiettivi

L'obiettivo del presente lavoro è la valutazione della diversità genetica e della sua distribuzione spaziale all'interno di un popolamento forestale con caratteri di vetustà presente nella Riserva Integrale di Sasso Fratino. Tale valutazione è stata eseguita tramite lo studio delle mutazioni a carico del DNA nucleare e plastidiale.

Materiali e metodi

Il metodo è stato applicato al caso di studio di un abieti-faggeto della Riserva Integrale di Sasso Fratino inserita nel Parco Nazionale delle Foreste Casentinesi Monte Falterona e Campigna. L'area di studio è ubicata nel nucleo originario della Riserva, a una quota di circa 1000 m s.l.m. L'area, caratterizzata da condizioni d'inaccessibilità, ha subito nella sua storia un limitato intervento antropico.

La metodologia ha previsto la realizzazione di un'area di saggio con forma quadrangolare di 9200 m², nella quale è stato effettuato il rilievo quali-quantitativo puntuale del popolamento. All'interno dell'area è stato eseguito un campionamento casuale stratificato. In totale sono state campionate 27 piante di faggio, 6 individui scelti fra la rinnovazione presente e 4 piante di faggio morte a terra. Per ogni pianta è stata effettuata la georeferenziazione e la raccolta di un campione di materiale vegetale utilizzato per le analisi genetiche.

Il materiale vegetale campionato è stato sottoposto a estrazione del DNA e successivamente alla messa a punto dei protocolli di amplificazione per i microsattelliti nucleari (*nSSR*) e plastidiali (*cpSSR*) utilizzando i *primer* riportati in bibliografia per il genere *Fagus*. I microsattelliti, sia nucleari che plastidiali, ottenuti sono stati analizzati mediante elettroforesi capillare sul sequenziatore automatico ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (APPLIED BIOSYSTEM) che consente di determinare con precisione le dimensioni del frammento amplificato e quindi le dimensioni delle varianti alleliche rilevate. La dimensione dei frammenti è stata automaticamente calcolata utilizzando il *software GeneMapper*® ver. 4.0 (APPLIED BIOSYSTEM).

L'analisi statistica dei marcatori molecolari è stata effettuata con l'ausilio di due *software*: SPAGeDi per l'analisi delle relazioni fra coppie di individui all'interno del popolamento e *Geneland* che permette l'analisi della struttura spaziale degli individui a livello di popolamento.

Risultati

Lo studio del genoma plastidiale del popolamento ha consentito di valutare la sua ascendenza in relazione ai centri rifugio del faggio presenti in Italia, definendone la sua ancestralità. Questa valutazione è stata effettuata avvalendosi del *data-base* prodotto da Vettori *et. al.* (2004) al fine di caratterizzare la popolazione oggetto di studio. Tutte le piante analizzate presentano lo stesso aplotipo.

I dati dei microsattelliti nucleari mostrano un'elevata ricchezza allelica, un elevato livello di polimorfismo, un'elevata eterozigosità ed un'alta frequenza di alleli rari all'interno della popolazione. Si è in seguito analizzata la struttura spaziale della popolazione, attraverso il programma *Geneland*, che consente di correlare le coordinate spaziali ai genotipi di ogni individuo. L'analisi statistica effettuata ha restituito una divisione in 4 sottopopolazioni evidenziandone la loro distribuzione e frammentazione. Per ogni sottopopolazione è stata calcolata la divergenza genetica fra le sottopopolazioni (F_{st}) e la correlazione allelica all'interno delle sottopopolazioni (F_{is}).

Conclusioni

I risultati scaturiti dallo studio sul genoma plastidiale consentono di valutare la "storicità" del popolamento e ci portano a definirlo come un centro di rifugio per il faggio nel periodo dell'ultima glaciazione. Possiamo inoltre affermare che la popolazione non è stata soggetta a introduzione di individui di faggio di altre provenienze, confermando il fatto di essere un sito naturale.

Lo studio delle variazioni del genoma nucleare ha portato a definire un grado elevato di diversità genetica presente nel popolamento. Infine l'analisi spaziale ha restituito una strutturazione in sottopopolazioni che al loro interno risultano avere elevati valori di inincrocio. L'elevata frammentazione spaziale delle sottopopolazioni è imputabile all'elevato *gene flow* che ha caratterizzato nel passato il popolamento.

Bibliografia

Vettori C., Vendramin G., Anzidei M., Pastorelli R., Paffetti D., Giannini R. (2004) - Geographic distribution of chloroplast variation in Italian populations of beech (*Fagus sylvatica* L.). TAG Theoretical and Applied Genetics 109, 1-9.