

STRUTTURA GENETICA SPAZIALE DI UNA POPOLAZIONE RELITTA DI *TAXUS BACCATA* L.

Ilaria Spanu¹, Cristina Vettori¹, Raffaello Giannini², Donatella Paffetti³

¹Istituto di Bioscienze e Biorisorse (IBBR), Consiglio Nazionale delle Ricerche, Sesto Fiorentino (FI);
ilaria.spanu@ibbr.cnr.it

²Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agrari Alimentari e Forestali, Università degli Studi di Firenze

³Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agroalimentari e dell'Ambiente, Università degli Studi di Firenze

Il *Taxus baccata* L. attualmente mostra un'areale naturale di vegetazione molto ampio, che dal Nord Africa si spinge fino all'Europa centrale, ma localmente la sua distribuzione, nel corso degli ultimi secoli, si è ridotta a piccole popolazioni isolate, spesso costituite da pochi alberi sparsi. Probabilmente le cause di questa situazione sono imputabili ai cambiamenti climatici e/o a disturbi antropici, quali l'eccessivo sfruttamento e gli incendi. Per tali motivi, il tasso è stato incluso in diverse azioni di conservazione ed i boschi che lo ospitano sono stati designati come zone di protezione da parte dell'Unione Europea (Direttiva Habitat 92/43/CEE).

Nella parte centro-settentrionale della Sardegna il tasso è presente frequentemente con singole piante o riunito a formare piccoli gruppi sparsi in boschi di querce, ma non mancano casi (es. in località Sos Niberos, nelle montagne del Marghine) in cui lo troviamo formare soprassuoli puri, caratterizzati da vecchi e maestosi alberi.

In questo lavoro è stata studiata la struttura genetica della popolazione relitta di *Taxus baccata* L. presente sul Monte Gennargentu (Punta Su Sciùsciu) all'interno del Parco Nazionale del Gennargentu e del Golfo di Orosei (NU), utilizzando marcatori molecolari.

E' stato evidenziato che la popolazione presenta bassi tassi di variabilità genetica e alti livelli di consanguineità facendo supporre che l'isolamento e la frammentazione stiano determinando fenomeni di deriva genetica.

Parole chiave: variabilità genetica, spazializzazione della struttura genetica, *Taxus baccata* L.

Keywords: genetic variability, spatial genetic structure, relict population, *Taxus baccata* L.

<http://dx.doi.org/10.4129/cis-is-str>

1. Introduzione

Il *Taxus baccata* L. è un albero longevo, dioico¹, a impollinazione anemofila con frutti carnosì (arilli) dispersi dagli uccelli e da piccoli mammiferi.

Questa gimnosperma, che si stima essersi originata durante la transizione tra Cretaceo e Terziario, attualmente mostra un'areale che dipartendo dal Nord Africa, raggiunge molte regioni dell'Europa centrale (González-Martínez *et al.*, 2010). Mentre la sua distribuzione naturale è assai ampia, il tasso localmente, nel corso degli ultimi secoli, si è ridotto a piccole popolazioni isolate, spesso costituite da pochi alberi sparsi, probabilmente a causa dei cambiamenti climatici e/o a disturbi antropici congiunti operati dal pascolo, dalle utilizzazioni e dagli incendi (Paule *et al.*, 1993). Per tali motivi il tasso è stato incluso in diverse azioni di conservazione ed i boschi che lo ospitano sono stati designati come zone di protezione

da parte dell'Unione Europea (Direttiva Habitat 92/43/CEE). Studi teorici ed empirici dimostrano che la riduzione della dimensione dell'effettivo (numero di riproduttori) e la presenza di piccole popolazioni frammentate possono portare a erosione genetica e quindi ad un aumento degli effetti della deriva genetica, come conseguenza di aumentati livelli di consanguineità, di limitati flussi genici, di tassi di immigrazione ridotti (Willi *et al.*, 2006; Dubreuil *et al.*, 2010). Tali situazioni possono compromettere la sopravvivenza delle specie per cui diviene indispensabile predisporre dei programmi di conservazione genica *in situ* e *ex situ*. Nella parte centro-settentrionale della Sardegna il tasso è presente con singoli alberi o riunito in piccoli gruppi sparsi in boschi di querce e formazioni a macchia mediterranea. Non mancano però casi (es. in località "Sos Niberos", nelle montagne del Marghine), in cui il tasso forma soprassuoli di limitata estensione, caratterizzati da vetusti e maestosi alberi (Camarda e Valsecchi, 1982; Cabiddu, 1992).

In questo lavoro è stata considerata la popolazione relitta di *Taxus baccata* L. situata in località Punta Su Sciùsciu sul Monte Gennargentu, all'interno del Parco Nazionale del Gennargentu e del Golfo di Orosei, con

¹Osservazioni effettuate in diverse popolazioni di tasso della Sardegna, hanno consentito di individuare piante capaci di produrre congiuntamente micro e macrosporofilli e piante con soli micro o macrosporofilli in anni differenti (Giannini comunicazione personale).

l'obiettivo di caratterizzarne la struttura genetica della popolazione.

2. Materiali e Metodi

2.1 Area di studio

La popolazione relitta di *Taxus baccata* L. è localizzata sul versante ovest di Punta Su Sciùsciu del Monte Gennargentu occupando un'area di circa 9 ettari, compresa fra le quote di 1500 e di 1400 m s.l.m. dove domina un paesaggio rupestre (macereto) al limite superiore dei boschi relitti di roverella (Figura 1). Durante un rilievo effettuato nel 1997 sono state censite 480 piante di tasso (alcune policormiche) la cui posizione spaziale è stata determinata mediante coordinate polari. La popolazione considerata al momento del campionamento era costituita da 480 piante, di cui 177 con arilli, 134 senza arilli, ambedue in fase di maturità avanzata e vetustà evidente, con altezza variabile compresa fra 2 e 4 m, e 169 piante senza arilli di dimensioni molto più piccole delle prime due lasciando presupporre che tali piante fossero molto più giovani (Figura 2), da ogni singola pianta fu prelevato materiale vegetale (aghi) per le successive analisi di laboratorio.

Nell'autunno dello stesso anno vennero raccolti campioni di arilli da 33 piante. Da questi si estrassero almeno 100 semi che furono collocati in ambiente umido a 2-3°C (*chilling*) per circa 18 mesi e quindi seminati in vivaio nella primavera del 1999. L'anno successivo da un lotto sintetico di 32 semenzali fu prelevato materiale vegetale (aghi) per le successive analisi molecolari.

2.2 Analisi molecolari

L'estrazione di DNA genomico e le successive analisi molecolari, in particolare analisi SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) della regione ITS (*Internal transcribed spacer*) ribosomale nucleare sono state eseguite come riportato in Spanu (2005).

2.3 Analisi statistiche utilizzate

La spazializzazione della struttura genetica della popolazione relitta di *Taxus baccata* è stata ottenuta con i software STRUCTURE vers. 2.3 (Pritchard *et al.*, 2000) e GENELAND vers 3.0 (Guillot *et al.*, 2009) con le condizioni riportate in Paffetti *et al.* (2012).

L'assegnazione di ambedue i parentali è stata ottenuta usando i marcatori SNP ottenuti attraverso metodi di massima verosimiglianza standard implementati in CERVUS 3.0 (Kalinowski *et al.*, 2007). Valori di verosimiglianza critici (*LOD-scores*) con limite di confidenza del 95% negli assegnamenti sono stati ottenuti utilizzando simulazioni (sono state simulate 100.000 progenie).

3. Risultati e Discussione

L'analisi di struttura spaziale della diversità genetica indica che la popolazione relitta di tasso è suddivisa in 2 sottopopolazioni ($K=2$) (Figura 3). Le sottopopolazioni presentano un alto livello di divergenza genetica

($F_{ST}=0,24$) indicando un forte isolamento genetico tra i gruppi. Inoltre, la sottopopolazione denominata S1 (in grigio scuro in Figura 3) è caratterizzata da un alto valore dell'indice di fissazione ($F_{IS}=0,27$), indicando alti livelli di *inbreeding* tra gli individui.

In effetti, da un'analisi di assegnazione dei parentali effettuata considerando le 169 piante piccole presenti nella popolazione come piante più giovani delle altre e quindi come progenie della ricombinazione tra i genotipi "adulti" (piante con arilli e senza arilli), è stato possibile determinare che:

- 1) il 92% delle piante piccole (46 su 50) che costituiscono la sottopopolazione 1 derivano da soli due incroci che coinvolgono 4 genotipi appartenenti alla sottopopolazione S1;
- 2) il 90% delle piante piccole (107 su 119) che costituiscono la sottopopolazione 2 derivano da 10 incroci che coinvolgono 16 genotipi appartenenti alla sottopopolazione S2.

Questi dati confermano quanto indicato dalla struttura spaziale della diversità genetica le due sottopopolazioni sono geneticamente isolate, nessuna pianta piccola sembra derivare dall'incrocio tra genotipi derivanti da sottopopolazioni diverse; le piante che compongono la sottopopolazione S1 presentano livelli di consanguineità più alti (il 92% delle piante piccole derivano da soli 2 incroci).

L'analisi di paternità sui 32 semenzali ha dimostrato che questi derivano da tre madri diverse e sono riconducibili a tre diverse combinazioni genotipiche (Tab. 1) che avvengono all'interno della stessa sottopopolazione.

In conclusione gli scambi gametici sono ridotti e le discendenze risultano fortemente imparentate.

4. Conclusioni

L'evoluzione della diversità vegetale e le dinamiche di diffusione del singole specie che spesso si trovano anche in condizioni di competizione per le stesse nicchie ecologiche, sono state in gran parte influenzate dalla storia geologica dell'area di diffusione naturale. Nel bacino del Mediterraneo la storia geologica è stata molto complessa e caratterizzata da sensibili cambiamenti climatici ciclici che, tra l'altro, non hanno impedito la formazione di una vasta ricchezza specie-specifica che è la chiave di identità, dello stesso, come hot spot di diversità (Médail e Quézel, 1999). Inoltre negli ultimi 10.000 anni l'influenza delle attività antropiche ha contribuito in modo determinante a plasmarne il paesaggio. Utilizzazioni intense, diffusione del pascolo e incendi hanno inciso sulla presenza, sulla frammentazione ed sull'erosione degli ecosistemi forestali relegando molte specie di questi allo stato di relitto. Il caso del tasso (*Taxus baccata* L.) è esempio classico di specie in pericolo di estinzione anche per le conseguenze che potrebbero arrecare gli effetti dei recenti cambiamenti climatici sugli ultimi rifugi di presenza. Da ciò l'importanza di comprendere con maggiore dettaglio le strutturazioni genetiche intra-specifiche e quali, tra i fattori evolutivi, possano, allo stato attuale, rappresentare i *driver* di controllo dei

processi evolutivi. I risultati di tali studi sono la base indispensabile di conoscenze per l'attuazione di programmi di conservazione *in-situ* ed *ex-situ*.

La popolazione di Punta Su Sciùsciu presente sul Massiccio del Gennargentu, è di estremo interesse innanzitutto per la peculiarità dell'ubicazione montana.

Nel suo complesso il *pool genico* è costituito da 311 effettivi, suddivisi in due sottopopolazioni tra le quali il gene flow è molto scarso se non assente.

Più in generale si tratta di una piccola popolazione con bassi tassi di variabilità genetica e con alti livelli di consanguineità facendo supporre che l'isolamento e la

frammentazione stiano determinando fenomeni di deriva genetica.

Ai fini della conservazione *in-situ* si dovrebbe operare attraverso la realizzazione di una popolazione sintetica ottenuta dalla raccolta degli arilli in annate di buona fruttificazione da tutte le piante capaci di fornire seme da impiegare in vivaio per la produzione di piantine destinate al rinfoltimento della popolazione attuale ed al suo ampliamento.

Una protezione particolare dal pascolo e dagli incendi appare ovvia, così come azioni congiunte di conservazione *ex-situ*.

Tabella 1. Analisi di assegnazione dei rental per i semenzali.

Table 1. Analysis of parental assignment for the seedlings.

Identificativo del semenzale	Incroccio
P1, P2, P13, P15, P17, P20, P23, P27	23f (S2) X 219m (S2)
P3, P6, P8, P9, P10, P11, P14, P18, P29	7f (S2) X 378m (S2)
P4, P5, P7, P12, P16, P19, P21, P22, P24, P25, P26, P28, P30, P31, P32	276f (S1) X 199m (S1)

* Tra parentesi è indicata la sottopopolazione di appartenenza del genotipo parentale.

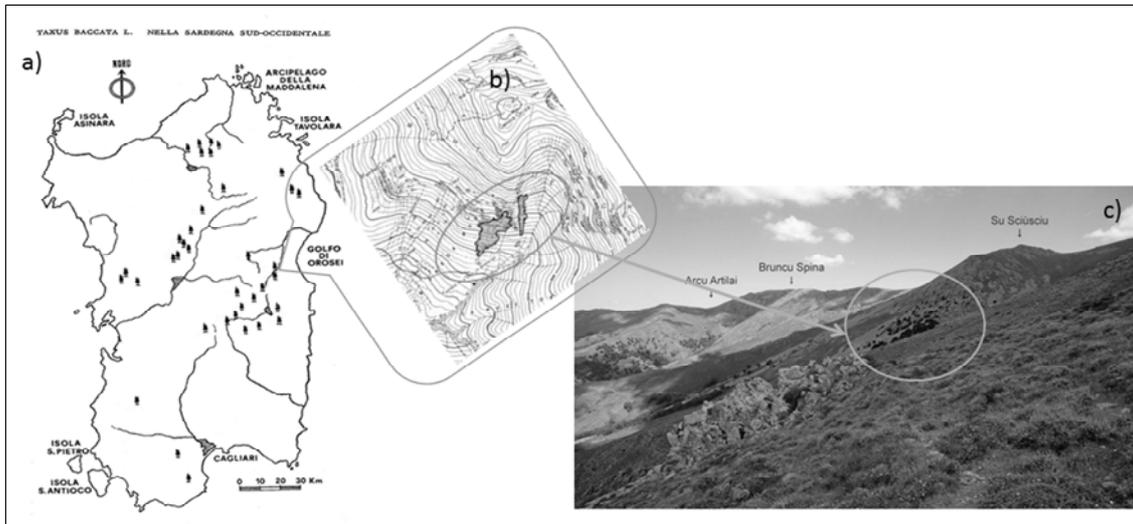


Figura 1. Popolazione relitta di *Taxus baccata* L. in Punta Su Sciùsciu.

Figure 1. Relict population of *Taxus baccata* L. in Punta Su Sciùsciu.

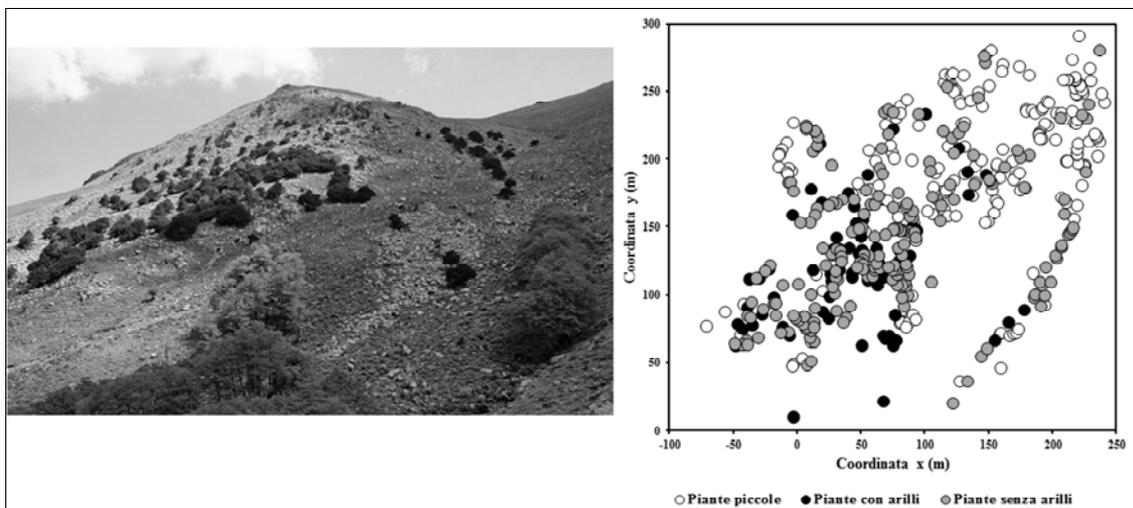


Figura 2. Distribuzione e composizione della popolazione relitta di *Taxus baccata* L. in Punta Su Sciùsciu.

Figure 2. Distribution and composition of the *Taxus baccata* L. relict population in Punta Su Sciùsciu.

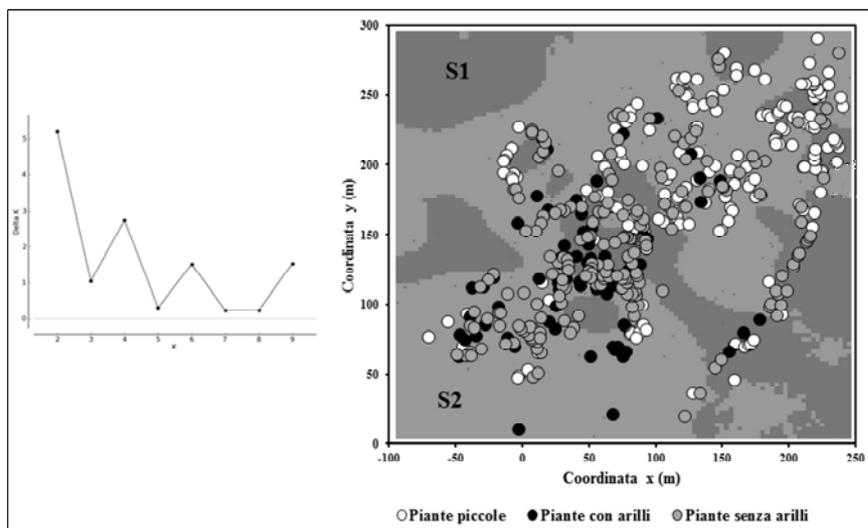


Figura 3. Mappa di struttura spaziale della diversità genetica della popolazione relictiva di *Taxus baccata* L.: a destra numero di sottopopolazioni, a sinistra mappa di distribuzione spaziale delle sottopopolazioni.

Figure 3. Spatial genetic structure map of relict population of *Taxus baccata* L.: to right number of subpopulations, to left spatial distribution map of the subpopulations.

SUMMARY

Spatial genetic structure of *Taxus baccata* L. relict population

The English yew, *Taxus baccata* L. currently shows a distribution from North Africa to Europe. While its range of distribution is wide, the English yew, locally, over the last few centuries, has been reduced in small isolated populations, often comprising few scattered trees, probably due to climate change and/or anthropogenic disturbances such as overexploitation and forest fires. Therefore, it was included in several conservation actions and forests hosting English yew have been designated as protected areas by the European Community (Habitat Directive 92/43/EEC).

In the Central and Northern part of Sardinia, English yew trees are scattered in the woods of oak forests. Sometimes, for example in Sos Niberos, in the Marghine mountains, we find the English yew in quite pure stands, characterized by majestic old trees.

In this work, we studied the genetic structure of relict population of *Taxus baccata* L. on Monte Gennargentu in the Gennargentu and the Gulf of Orosei National Park, using molecular markers.

The population has low genetic variability rates and the progenies analyses highlighted high levels of inbreeding thus suggesting that the isolation and fragmentation of the population are leading to genetic drift.

BIBLIOGRAFIA

Cabiddu S., 1992 – *Indagine sulla distribuzione e su alcune caratteristiche morfologiche di Taxus baccata L. nella Sardegna centro orientale*. Tesi di laurea in Scienze Forestali Università degli Studi di Firenze A.A. 1992/93.

Camarda I., Valsecchi A., 1982 – *Alberi e arbusti della Sardegna*. Tip. Galluzzi (Sassari).

Dubreuil M., Riba M., González-Martínez S.C., Vendramin G.G., Sebastiani F., Mayol M., 2010 – *Genetic effects of chronic habitat fragmentation revisited: strong genetic structure in a temperate tree, Taxus baccata (Taxaceae), with great dispersal capability*. American Journal of Botany 97 (2): 303-310.

<http://dx.doi.org/10.3732/ajb.0900148>

DIRETTIVA 92/43/CEE del consiglio del 21 maggio 1992 relativa alla conservazione degli habitat naturali e seminaturali e della flora e della fauna selvatiche. Disponibile a: <http://eur-lex.europa.eu/lexuriserv/lexuriserv.do?uri=consleg:199210043:20070101:it:pdf>. Ultimo accesso: 23 Dicembre 2014.

Guillot G., Leblois R., Coulon A., Frantz A.C., 2009 – *Statistical methods in spatial genetics*. Molecular Ecology 18: 4734-4756.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04410.x>

Kalinowski S.T., Taper M.L., Marshall T.C., 2007 – *Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment*. Molecular Ecology, 16: 1099-1106.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03089.x>

Médail F., Quézel P., 1999 – *Biodiversity hotspots in the Mediterranean Basin: setting global conservation priorities*. Conservation Biology, 13 (6): 1510-1513.

<http://dx.doi.org/10.1046/j.1523-1739.1999.98467.x>

Paffetti D., Travaglini D., Buonamici A., Nocentini S., Vendramin G.G., Giannini R., Vettori C., 2012 – *The influence of forest management on beech (Fagus sylvatica L.) stand structure and genetic diversity*. Forest Ecology and Management, 284: 34-44. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2012.07.026>

Paule L., Gömöry D., Longauer R., 1993 – *Present distribution and ecological conditions of the English yew (Taxus baccata L.) in Europe*. In: Proceedings of Yew (Taxus) Conservation Biology and Interaction

(eds. Scher S., Shimon Schwarzschild B), Berkeley, pp. 189-196.
Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P., 2000 – *Inference of population structure using multilocus genotype data*. *Genetics*, 155: 945-959.
Spanu I., 2005 – *Struttura genetica della popolazione relitta di Taxus baccata L. del Monte Gennargentu (Sardegna)*. Tesi di laurea in Scienze Forestali e Ambientali Università degli Studi di Firenze A.A. 2004/05.

Willi Y., Van Buskirk J., Hoffmann A.A., 2006 – *Limits to the adaptive potential of small populations*. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 37: 433-434.
<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.37.091305110145>