

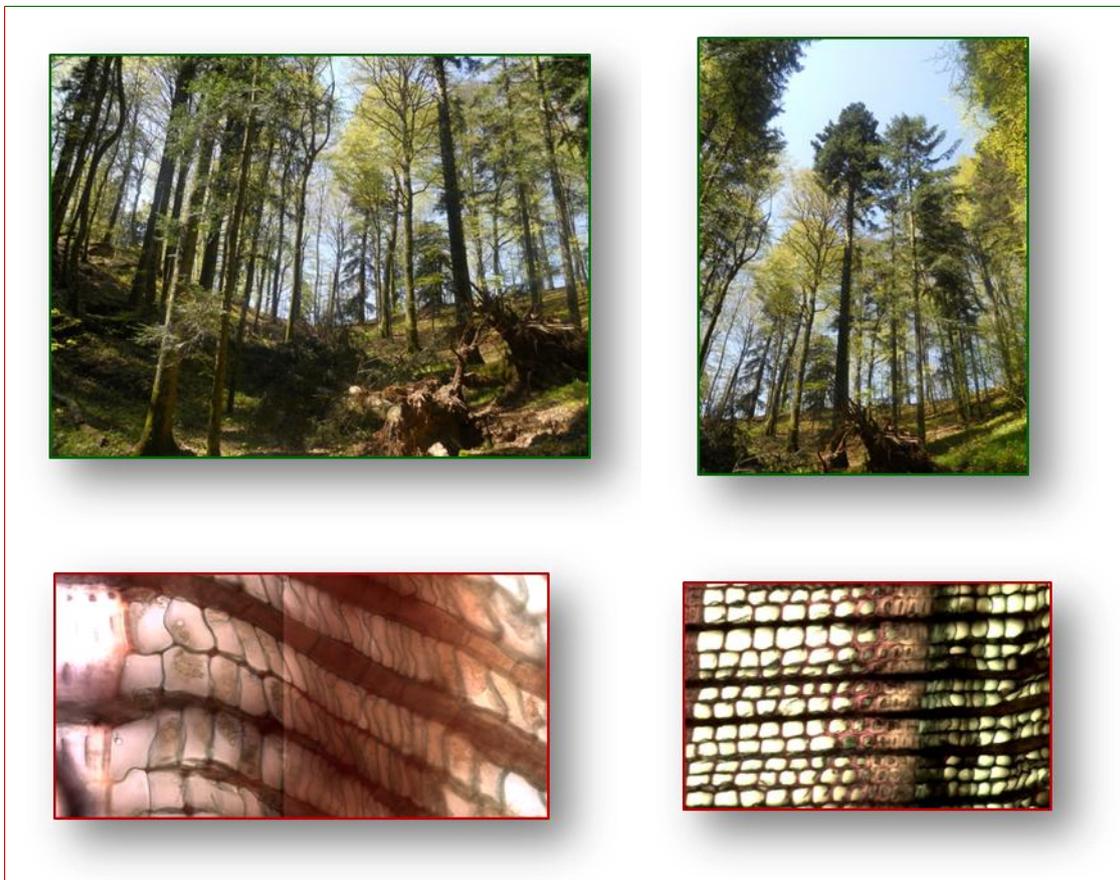
Progetto LIFE08 NAT /IT/000371 “RESILFOR (REstoring SILver-fir FORest)”

Azione A2 - Indagini genetiche su *Abies alba* di completamento: Monitoraggio delle strutture genetiche di popolazioni *Abies alba* Mill. in relazione al cambiamento climatico

Responsabile Dott. F. Ducci

CRA - Centro di ricerca per la Selvicoltura - Viale Santa Margherita, 80 - 52100 Arezzo (<http://www.selvicoltura.eu/>)

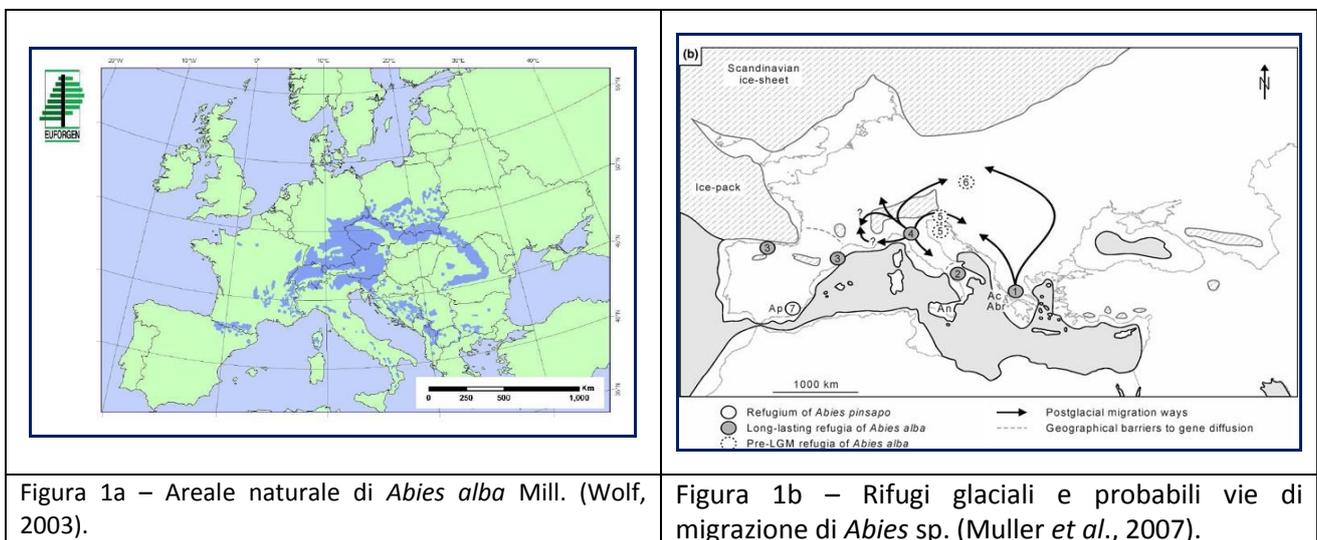
Report conclusivo relativo al monitoraggio adattativo



Gruppo di lavoro: Ducci F., Proietti R., Verdelli G.

Introduzione

La penisola italiana costituisce la parte meridionale dell'attuale areale naturale dell'abete bianco (*Abies alba* Mill.; Fig. 1a). L'Appennino centro – settentrionale è stato uno degli antichi rifugi glaciali da cui questa specie è migrata per ri-colonizzare l'Europa centrale (Fig.1b) dopo l'ultima glaciazione (Camerano *et al.*, 2012; Longauer *et al.*, 2003; Terhürne-Berson *et al.*, 2004; Vendramin *et al.*, 1999; Vicario *et al.*, 1999; Wolf, 2003) ma, nel corso dei millenni, *A. alba* ha subito un lento declino, tanto che le popolazioni presenti oggi possono essere considerate marginali sia per motivi geografici (sono situate ai margini geografici dell'areale naturale), che per le caratteristiche ecologiche delle aree considerate ed a causa dell'attività antropica. I popolamenti sono spesso di piccole dimensioni (gruppi formati anche da pochi individui), frammentati e isolati. Le popolazioni più importanti per estensione e consistenza sono quelle dell'Appennino toscano-romagnolo, molisano e della Calabria (Ducci *et al.*, 1998). Queste ultime sono caratterizzate da variabilità genetica più elevata rispetto alle altre popolazioni italiane poiché rimaste isolate geograficamente (Konnert e Bergmann 1995, Parducci *et al.*, 1996).



Documenti storici dimostrano come nel corso degli ultimi 10 secoli l'attività umana abbia modificato la distribuzione dell'abete bianco in Italia. Gli ordini monastici (Vallombrosani, Francescani alla Verna, Benedettini a Serra S. Bruno) hanno iniziato la coltivazione intensiva di questa specie già mille anni fa e l'importanza del legno di *A. alba* per gli arsenali navali e le opere architettoniche di valore (ad esempio il duomo di Firenze e la basilica di S. Pietro) hanno spinto alcune amministrazioni (la Repubblica di Venezia o l'Opera del Duomo di Firenze; Gabrielli e Settesoldi, 1977) ad estendere le piantagioni di abete bianco (Ducci *et al.*, 1998). In alcune aree anche le caratteristiche genetiche sono probabilmente cambiate a causa dell'utilizzo di materiale non autoctono per le nuove piantagioni, come nel Granducato di Toscana ad opera del Siemoni (Bigliuzzi e Bigliuzzi, 2004; Borch, 1989; Ducci e Proietti, 2000; Vazzano *et al.*, 2011).

A partire dal XIX secolo, la necessità di nuovi pascoli o di produzione di legna da ardere hanno invece penalizzato la sopravvivenza di *A. alba*, riducendone le superfici o favorendo altre specie, soprattutto latifoglie. Negli ultimi decenni, infine, la rarefazione dell'abete bianco è favorita da attacchi parassitari e dal *global change*. In ambiente mediterraneo, tipico per la sua instabilità e variabilità annuale dei regimi pluviografici, eventi estremi di temperatura e siccità sono sempre più frequenti ed intensi, tanto che i modelli di previsione elaborati sulle condizioni di temperatura ed umidità, indicano nel prossimo futuro un

innalzamento progressivo delle isoterme (fino ad 11 m di altitudine per anno). Quindi, nei prossimi 20 anni, l'abete bianco potrebbe trovare condizioni termiche ottimali a quote superiori fino a 200 m rispetto a quelle attuali (da 800 e 900 m s.l.m., riscontrabili nella fascia fitoclimatica del *Castanetum* freddo-*Fagetum*, a 1100 e 1200 m s.l.m). Di conseguenza molte popolazioni, soprattutto quelle marginali dell'Appennino, sono a rischio di estinzione, se non avranno la capacità/spazio di migrare ad altitudini maggiori. Perciò è necessario, mettere a punto modelli di gestione e conservazione *in situ* ed *ex situ* delle risorse genetiche di abete bianco, che possano sia favorirne la rinnovazione nel proprio areale naturale che la migrazione assistita verso nuovi areali.

Per questo motivo l'indagine sulle popolazioni naturali di abete bianco oggetto di studio del Progetto LIFE08 NAT/IT/000371 RESILFOR "*REstoring SILver-fir FORest*" (2010-2014; <http://www.liferesilfor.eu>) è stata di tipo multidisciplinare ed ha considerato gli aspetti selvicolturali, genetici, dendrocronologici ed adattativi.

Le attività di monitoraggio di lungo termine di caratteri adattativi, quali la fenologia, come dimostrano molti programmi ed attività di ricerca su popolazioni marginali (Ducci, 2009; Sagnard *et al.*, 2002), sono il primo passo per stimare le potenzialità di sopravvivenza delle specie a nuove condizioni ambientali e per "modellizzare" la loro distribuzione nel prossimo futuro in seguito ai cambiamenti climatici (Alizoti *et al.*, 2010; Kramer *et al.*, 2000 e 2010; Menzel *et al.*, 2006; Richardson *et al.*, 2013; Tinner *et al.*, 2013). Esistono, infatti, relazioni dirette tra fenologia e clima. L'aumento di temperatura ha favorito sia un anticipo dell'entrata in vegetazione delle piante, che a partire dagli anni '70 è compreso tra 2,3 e 5,2 giorni per decade (IV Report dell' Intergovernmental Panel on Climate Change – IPCC, 2007), sia un allungamento dell'attività vegetativa, stimato sempre dall'IPCC superiore a 2,5 giorni negli ultimi 40 anni (Parry *et al.*, 2007). Individuare i meccanismi di interazione *genotipo x ambiente* (GxE) favorirà una gestione selvicolturale più idonea alla conservazione *in situ* delle risorse genetiche e aiuterà la loro rinnovazione naturale anche in condizioni ambientali diverse da quelle ottimali.

L'obiettivo del monitoraggio fenologico effettuato nella Foresta di La Verna (Chiusi della Verna, Argià bosco da seme del Registro dei Materiali di Base della Toscana, inserito nell'elenco del germoplasma forestale della Toscana) ed in quella del Pigelleto (Piancastagnaio, Si; inserito nell'elenco del germoplasma forestale della Toscana) è stato lo studio delle dinamiche di formazione del nuovo anello xilematico in relazione ai parametri climatici (temperatura ed umidità). I due siti scelti sono caratterizzati sia da gestione selvicolturale che da condizioni ambientali (altitudine, distanza dal mare, temperature media annuale) diverse (Tab. 1). Perciò studiare l'esistenza di variabilità adattativa rispetto all'inizio ed alla durata della stagione vegetativa (periodo di attività del cambio) e le eventuali *interazioni genotipo x ambiente* GxE (la fenologia è influenzata da una componente genetica, da fattori interni alla pianta, dalle condizioni ambientali; Rossi *et al.*, 2008) è utile per identificare materiali resistenti/suscettibili ad estremi di temperatura e/o di disponibilità idrica.

Tabella 1 - Caratteristiche geografiche e climatiche delle aree monitorate		
Foresta La Verna A (Ar) <i>Ex situ</i>	Foresta La Verna B (Ar) <i>Ex situ</i>	Riserva Naturale del Pigelleto (Si) - SIC: IT5190013
Lat.: 43°42'30,22" N	Lat.: 43°42'31.80" N	Lat.: 42°48'17,30" N
Long.: 11°55'54.34" E	Long.: 11°56'01.42" E	Long.: 11°38'46.69" E
Esposizione: NO	Esposizione: NE	Esposizione: NO
Altitudine: 1166 m	Altitudine: 1188 m	Altitudine: 780 m
Pioggie medie annuali: 1224 mm	Pioggie medie annuali: 1224 mm	Pioggie medie annuali: 1270 mm

Temperatura media annuale: 9,2°C	Temperatura media annuale: 9,2°C	Temperatura media annuale: 11,4°C
----------------------------------	----------------------------------	-----------------------------------

Materiale e metodi

È stato scelto di monitorare la fenologia del meristema secondario, ed in particolare del cambio cribrovascolare, poiché sono state analizzate piante adulte, appartenenti al piano dominante, di notevoli dimensioni, per cui non era possibile seguire la fenologia delle gemme vegetative.

Nella Foresta di La Verna le caratteristiche pedo-climatiche e di esposizione dell'area sperimentale hanno consentito di definire 2 aree di monitoraggio permanente, La Verna A e La Verna B, e gli alberi selezionati nelle 2 aree sono stati considerati come 2 diverse popolazioni.

Gli 88 individui analizzati per il monitoraggio fenologico sono stati oggetto anche delle indagini genetiche e dendrocronologiche. Sono all'interno delle aree di saggio permanenti e quindi sono stati tutti georeferenziati. Nella parcella di Pigelleto sono state campionate 23 piante (sigla: P più un numero progressivo da 1 a 22 e 3bis), in quella di La Verna A 30, di cui 26 interne all'area di monitoraggio (sigla: VA più un numero progressivo da 1 a 26) e 4 nel piazzale (sigla: VA più un numero progressivo da 91 a 94), ed in quella La Verna B 35 (sigla VB più un numero progressivo da 1 a 35).

L'analisi del cambio è stata effettuata attraverso il prelievo dal tronco con il "campionatore Trepbor" (Rossi *et al.*, 2006a) (Foto 1a) di *microcore* (micro-carote; Foto 1b), piccoli frammenti di legno di forma cilindrica (15 mm di lunghezza e 4 mm di diametro), che contengono lo xilema, il fellogeno ed i primi anelli legnosi (Rossi *et al.*, 2006b). L'estrazione di micro-carote è una procedura poco invasiva, che consente di ripetere i prelievi nel corso dell'anno, con danni limitati per la pianta e con influenza non significativa sulla crescita del tronco (Foto 1c). Consente, perciò, di seguire lo sviluppo delle cellule cambiali durante tutta la stagione vegetativa e l'evolversi dei tessuti floematici e xilematici dalla primavera fino all'entrata in dormienza autunnale (Deslauriers *et al.*, 2008; Rossi *et al.*, 2006c; Rossi *et al.*, 2007b; Rossi *et al.*, 2011; Figura 2).



Inizialmente il prelievo delle *microcore* era stato previsto solo per la stagione vegetativa 2011, poiché le attività dell'Azione A2 dovevano concludersi entro questo anno. Tuttavia, considerando l'influenza del clima sulla fenologia e la durata del progetto, il prelievo dei campioni è stato effettuato anche nel 2012 per garantire attendibilità statistica ai risultati ottenuti.

In ogni area sono stati effettuati 12 campionamenti nel 2011 e 12 nel 2012, ad intervalli regolari, da inizio aprile a fine novembre. In totale sono stati prelevati 2112 campioni. Per avere dati confrontabili in termini di fase fenologica raggiunta, di tipo e quantità di cellule prodotte su scala DOY (Day Of the Year), si è cercato per quanto possibile di fare i prelievi alle stesse date per le 2 aree monitorate (a causa della distanza tra Pigelleto e La Verna generalmente il prelievo è stato fatto a distanza di 1 o 2 giorni) e nei due anni di indagine (Tabella 2).

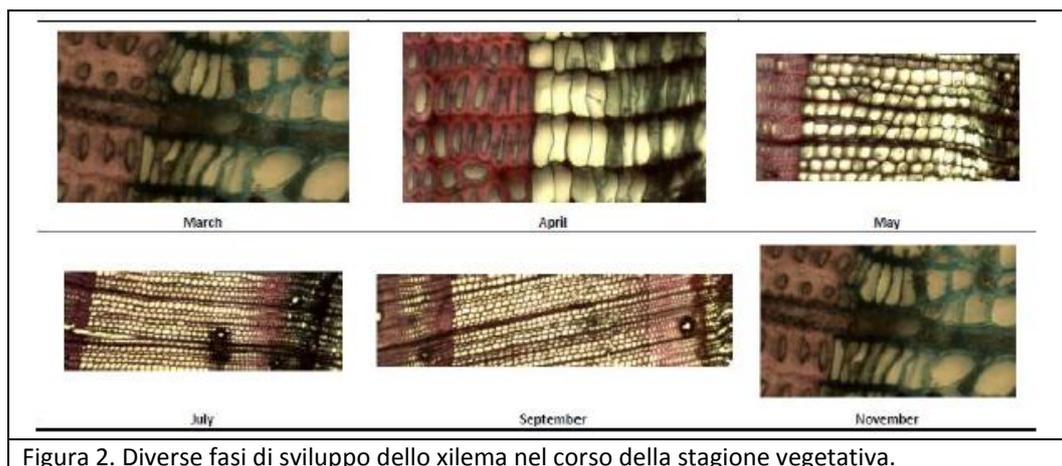


Figura 2. Diverse fasi di sviluppo dello xilema nel corso della stagione vegetativa.

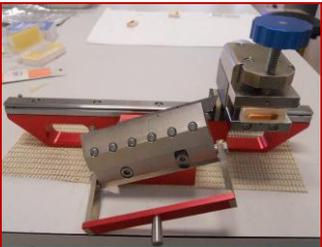
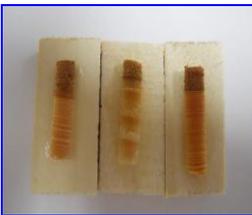
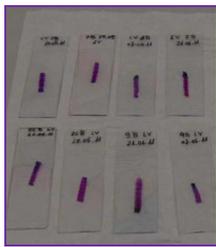
Tabella 2 - Calendario dei prelievi delle <i>microcore</i> nelle 2 aree sperimentali.			
Anno 2011		Anno 2012	
La Verna A e La Verna B	Pigelleto	La Verna A e La Verna B	Pigelleto
19.04.11	18.04.11	05.04.12	03.04.12
26.04.11	27.04.11	23.04.12	18.04.12
03.05.11	05.05.11	04.05.12	02.05.12
10.05.11	11.05.11	10.05.12	08.05.12
25.05.11	24.05.11	24.05.12	22.05.12
07.06.11	09.06.11	07.06.12	05.06.12
21.06.11	23.06.11	20.06.12	19.06.12
21.07.11	21.07.11	23.07.12	19.07.12
18.08.11	17.08.11	23.08.12	21.08.12
19.09.11	13.09.11	25.09.12	21.09.12
18.10.11	13.10.11	25.10.12	23.10.12
10.11.11	09.11.11	22.11.12	21.11.12

Dopo il prelievo, le *microcore* sono state inserite in provette Eppendorf con una soluzione di etanolo al 50% (per favorire la fissazione dei tessuti) e conservate a 4°C. La difficoltà principale nella preparazione del campione in laboratorio è rappresentata dal distacco del legno dalla corteccia a livello del cambio, a causa del quale non è possibile individuare il momento della ripresa dell'attività del cambio stesso e misurare l'entità dell'accrescimento dei nuovi tessuti xilematici. Per mantenere l'integrità di tutti i tessuti, la metodologia classica prevede la disidratazione delle carote con successivi passaggi in etanolo e D-limonene e la loro inclusione in paraffina prima del taglio delle sezioni trasversali (Rossi *et al.*, 2006b). Questa procedura richiede tempi lunghi di preparazione, costi elevati e risulta di difficile applicazione quando è necessario analizzare un numero molto elevato di campioni, come in questa indagine.

Grazie al progetto RESILFOR è stato possibile mettere a punto una tecnica di preparazione dei campioni per la successiva lettura al microscopio ottico senza l'inclusione delle *microcore* in paraffina. Le sezioni trasversali sono state tagliate con il microtomo GSL1 (MICROT L; Foto 2a), progettato dall'Istituto Svizzero WSL (Swiss Federal Research Institute for Forest, Snow and Landscape Research di Birmensdorf), che consente di tagliare direttamente le micro-carote in sezioni di 10-15 mm, dopo che sono state semplicemente fissate con la colla su piccoli supporti di legno (Foto 2b), con le fibre del legno perpendicolari alla superficie di taglio. Le micro-sezioni sono state colorate con una soluzione di fucsina basica-blue astra in acido acetico e sono state osservate al microscopio ottico (Foto 2c). L'immagine è stata acquisita grazie al programma AxioVision User's Guide –Release 4.8 (anno 2009; Foto 2d). Dopo la colorazione le cellule completamente sviluppate e lignificate assumono una colorazione rossa, mentre le cellule del cambio e quelle non ancora lignificate dello xilema si colorano di blue.

La lettura delle sezioni al microscopio ottico è una fase che richiede, comunque un impegno elevato, poiché per ogni campione è stato rilevato il numero totale di cellule prodotte lungo 3 file radiali ed il numero di

cellule appartenenti alle diverse categorie. I diversi tipi di cellule sono descritti nella Tabella 3 e nella Figura 3 (Rossi *et al.*, 2006b).

			
Foto 2a - Microtomo GSL1	Foto 2b - <i>Microcores</i> fissate su supporti di legno e pronte per il taglio	Foto 2c/d - Sezioni colorate e pronte per la lettura al microscopio ottico.	

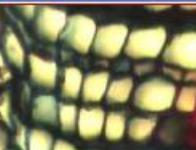
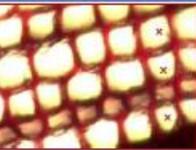
A. Cambium cells or immediately originate by the cambium zone	B. Extending cells	C. Cells being lignificated (wall hardening)	D. Xylematic cells mature in the spring- summer period	E. Xylematic Mature cells with thicker walls in summer – autumn
ZC	EC	WTC	MP	MA
				

Figura 3. Tipi di cellule prodotte dal cambio nel corso della stagione vegetativa.

Cellule del cambio	Sono cellule meristematiche. Presentano solo la parete primaria. La loro riattivazione in primavera determina la formazione del nuovo floema (parte esterna) e xilema (parte interna).
Cellule in fase di estensione	Sono le prime cellule derivate dalla divisione del cambio all’inizio della ripresa vegetativa. Hanno parete sottile, non lignificata, e diametro radiale molto piccolo.
Cellule in fase di lignificazione	La parete inizia a lignificare e il volume cellulare aumenta progressivamente.
Cellule del legno primaverile	Cellule mature, formano il legno primaverile. Hanno parete completamente lignificata e sono prive di citoplasma (cellule morte). Hanno parete sottile e lume ampio.
Cellule del legno estivo	Cellule mature, formano il legno estivo. Hanno parete molto ispessita e lume ridotto

La presenza dei diversi tipi cellulari è stata utilizzata per definire le “date critiche” della fenologia del cambio, la durata delle diverse fasi fenologiche e, quindi, la lunghezza della stagione vegetativa (Rathgeber *et al.*, 2011; Tabella 4).

Inizio della attività del cambio	Il cambio inizia a dividersi e a produrre nuove cellule. Inizia l’accrescimento radiale e la xilogenesi.
Fine della attività del cambio	Non ci sono più divisioni cellulari, quindi non si formano più nuove cellule. Continuano solo i processi di lignificazione e maturazione delle cellule già prodotte.

Fine della crescita radiale	Sono presenti solo cellule mature o a fine maturazione.
Fine della xilogenesi	Sono presenti solo cambio e cellule mature.

Sugli stessi alberi monitorati per la fenologia cambiale sono state applicate fascette incrementali permanenti (UMS - D 1 Permanent Tree Girth Tape-measure; www.ums-muc.de; Foto 3), secondo le metodologie individuate in ambito IUFRO. La fascetta misura l'incremento del diametro del tronco nel corso della stagione vegetativa, con approssimazione di 0.1 mm. Le fascette incrementali sono state posizionate a 1,30 m di altezza sugli alberi con un diametro uguale o inferiore a 60 cm (lunghezza totale della fascetta). Di conseguenza nella parcella di Pigelleto non è stato possibile mettere la fascetta alle piante P1, P2 e P5. A La Verna in totale sono state messe 28 fascette (17 all'interno di La Verna A e 11 all'interno di La Verna B). La lettura delle fascette incrementali è stata eseguita nel 2011 e nel 2012 alle stesse date di prelievo delle *microcore*. In questo modo è possibile mettere a confronto l'attività cambiale con l'incremento radiale del tronco.

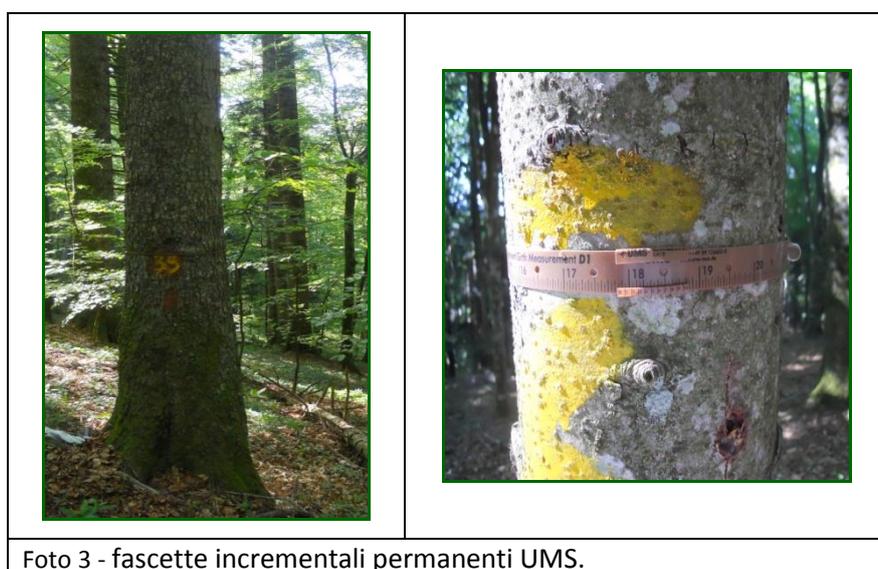


Foto 3 - fascette incrementali permanenti UMS.

Sono stati collezionati i dati climatici delle 2 aree studiate, relativi alla temperatura ed alle precipitazioni del periodo 2010-2012. I dati medi giornalieri di temperatura dei 3 anni sono stati analizzati con il software Enthought Canopy (<https://www.enthought.com/products/canopy/>) per calcolare le unità di chilling e le somme termiche. La temperatura, insieme al fotoperiodo, regola, infatti, la transizione dalla fase di dormienza a quella di ripresa vegetativa e di crescita e viceversa (Deslauriers *et al.*, 2008; Nielsen and Jørgensen, 2003; Oribe *et al.*, 2001). I dati raccolti consentono la costruzione di curve incrementali utili per individuare eventuali correlazioni con le variazioni dei parametri climatici nel tempo e nello spazio.

Sono stati analizzati anche i dati relativi alla quantità e distribuzione delle precipitazioni poiché a latitudini o altitudini elevate le basse temperature sono il principale fattore che limita la crescita radiale degli alberi (Rossi *et al.*, 2007a), mentre nelle regioni mediterranee, caratterizzate da estati calde e secche, anche la disponibilità idrica è un fattore limitante della crescita e condiziona la fenologia (Carrer e Urbinati, 2006; Cherubini *et al.*, 2003; Kramer *et al.*, 2000; Lebourgeois *et al.*, 2012).

Risultati

Le cellule meristema secondario sono sempre presenti lungo il fusto, ma in primavera, nelle prime fasi di formazione del nuovo anello, si osserva un aumento del numero di cellule del cambio. Per definire le diverse fasi fenologiche è stato considerato che lo xilema inizia a differenziarsi quando nell'anello dell'anno è possibile individuare almeno una fila di "cellule in fase di estensione". Questo momento viene considerato come l'inizio della stagione vegetativa. In autunno, invece, la formazione dello xilema si

considera completata e, quindi la stagione vegetativa conclusa, quando l'ultima fila di cellule xilematiche della cerchia annuale ha "cellule con parete completamente lignificata".

Nelle 3 popolazioni analizzate è stata osservata variabilità a livello di individui nell'entrata in attività del cambio, nella lunghezza della stagione vegetativa e nel numero di cellule prodotte. (Figura 4).

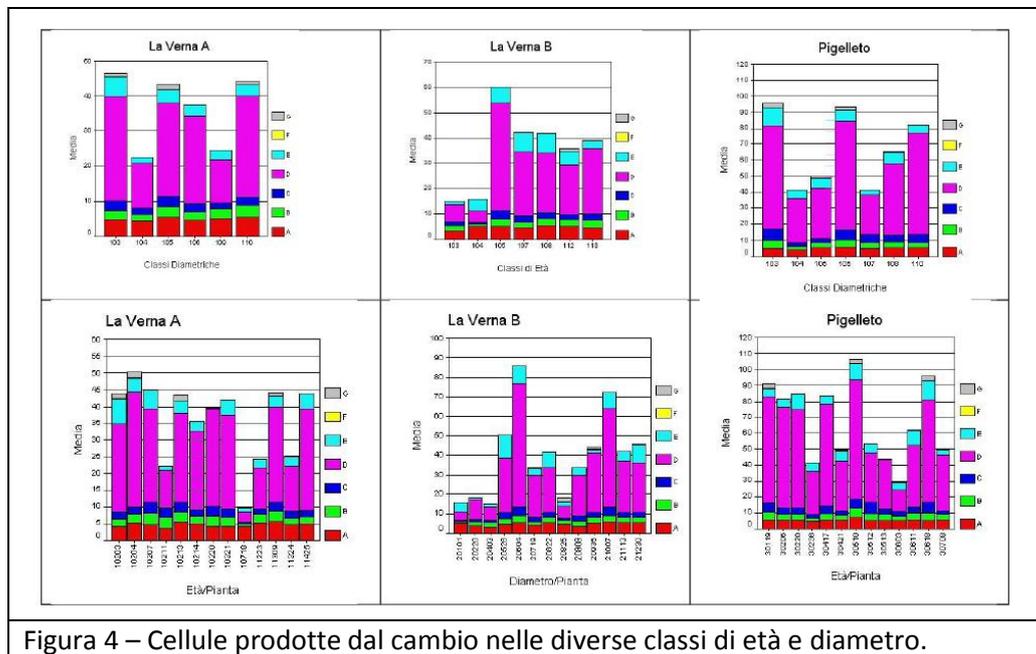
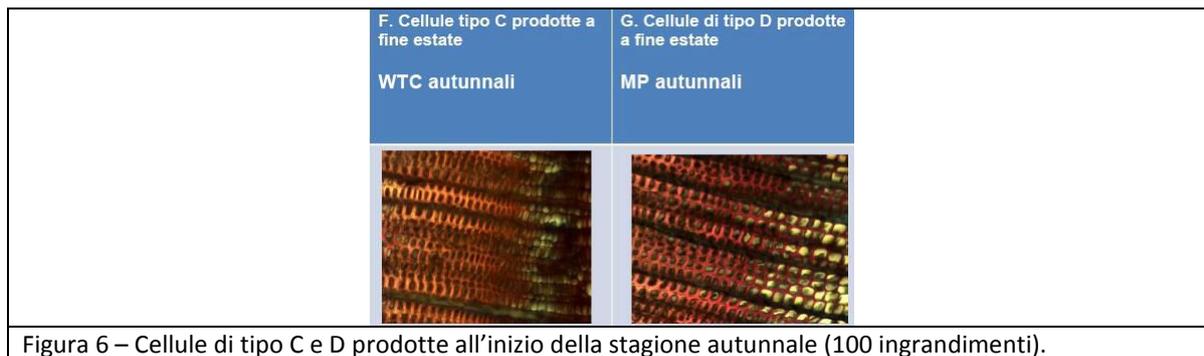


Figura 4 – Cellule prodotte dal cambio nelle diverse classi di età e diametro.

Nei 2 anni di monitoraggio l'inizio dell'attività cambiale nella popolazione di *A. alba* di Pigelleto (area sperimentale situata a quota inferiore e più vicina al mare) è precedente rispetto alle popolazioni di La Verna (Figura 5) ed in alcune piante il cambio era attivo già al primo rilievo (sono presenti cellule in fase di estensione). Questo si riflette anche su una diversa lunghezza della stagione vegetativa. A Pigelleto, inoltre, il numero di cellule prodotto dalle diverse classi è mediamente superiore (Figura 4).

Nella Tabella 5 le piante delle 3 popolazioni sono distribuite in relazione all'entrata in vegetazione (rank di tardività/precocità), alla comparsa delle prime cellule del legno estivo, alla fine della stagione di crescita (sono presenti solo cellule che stanno completando la lignificazione delle pareti e cellule mature)

Nelle sezioni ottenute da *microcarote* prelevate nei mesi di settembre ed ottobre, sia in alcune piante del Pigelleto che di La Verna, tra le cellule del cambio e quelle del legno estivo è stato possibile osservare cellule in fase di estensione (con parete sottile, non lignificata, e diametro radiale piccolo), tipiche delle prime fasi di formazione del nuovo anello in primavera (Figura 6). Probabilmente questa "ripresa" dell'attività del cambio è favorita dalle piogge di fine estate/inizio autunno quando, comunque, le temperature sono ancora elevate. Questo fenomeno è stato più evidente nel 2012, anno caratterizzato da estate molto secca e calda rispetto al 2011 (Figura 7). Nel 2012, infatti, le cellule tipiche del legno estivo sono state osservate già a partire dal mese di luglio, ma la divisione del cambio e la presenza di cellule in fase di estensione è continuata anche nel mese di ottobre e all'inizio di novembre, per cui è stato possibile osservare contemporaneamente cellule del legno primaverile e tardivo e cellule in fase di distensione e lignificazione (Figura 8 e Figura 9).



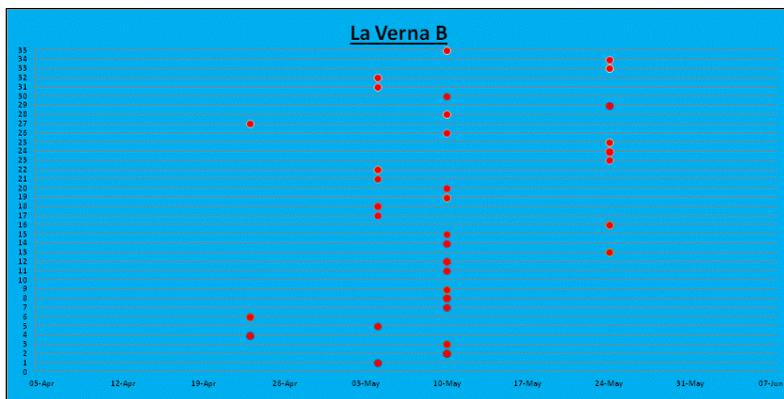
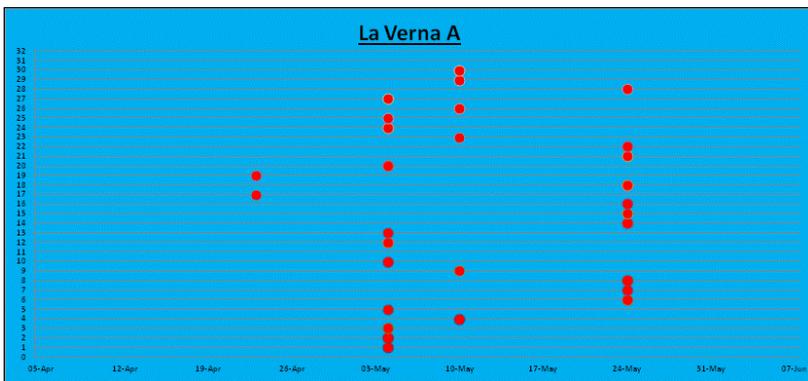
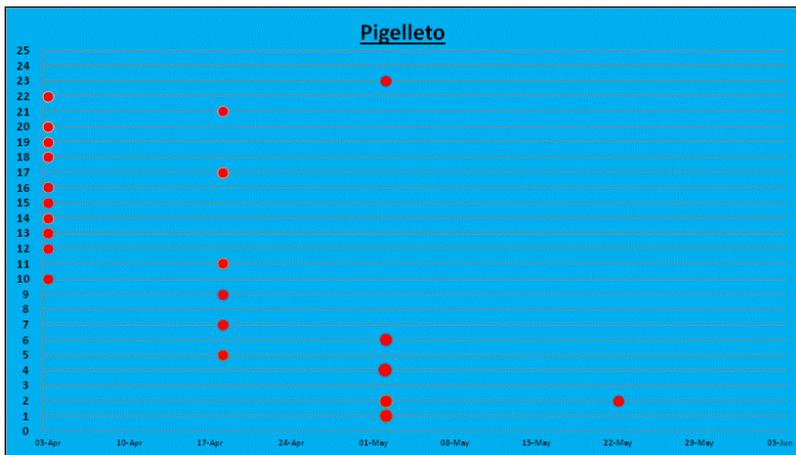


Figura 5 – Inizio dell'attività vegetativa nel 2012 nelle 3 popolazioni monitorate.

PIGELLETO DATA	PRECOCITÀ INIZIO VEGETAZIONE PIANTA N°	DATA	PRECOCITÀ LIGNIFICAZION E PIANTA N°	DATA	PRE
18.04.11	6P	17.08.11	10P	13.09.11	
	10P		12P		
	11P		16P		
	13P		21P		
	16P	13.09.11	3 bisP		
	19P		8P		
	20P		20P	13.10.11	
	21P	13.10.11	3P		
27.04.11	3P		6P		
	8P		11P		
	12P		13P		
	17P		17P		
	18P		18P	09.11.11	
5.05.11	3bisP		19P		

LA VERNA A DATA	PRECOCITÀ INIZIO VEGETAZIONE PIANTA N°	DATA	PRECOCITÀ LIGNIFICAZIONE PIANTA N°	DATA	PRE ST P
19.04.11	7A	18.08.11	3A	18.08.11	
	20A		5A	16.09.11	
26.04.11	3A	16.09.11	4A		
	5A		7A		
	9A		11A		
	11A		13A		
	13A		14A		
	14A		18A		
	23A		21A		
3.05.11	4A		23A		
	21A		24A		
	24A		25A		
	25A	18.10.11	9A		
25.05.11	18A		20A	18.10.11	

LA VERNA B DATA	PRECOCITÀ INIZIO VEGETAZIONE PIANTA N°	DATA	PRECOCITÀ LIGNIFICAZION E PIANTA N°	DATA	PRE S H
19.04.11	4B	18.08.11	1B	18.08.11	
	22B		25B		
26.04.11	7B		30B		
	13B	16.09.11	3B	16.09.11	
	26B		4B		
3.05.11	3B		7B		
	9B		13B		
	19B		19B		
	20B		20B		
	25B		22B		
	30B		26B	18.10.11	
	35B		35B		
10.05.11	33B		33B		
25.05.11	1B	18.10.11	9B		

Tabella 5 – Precocità/tardività delle diverse fasi fenologiche nelle 3 popolazioni.

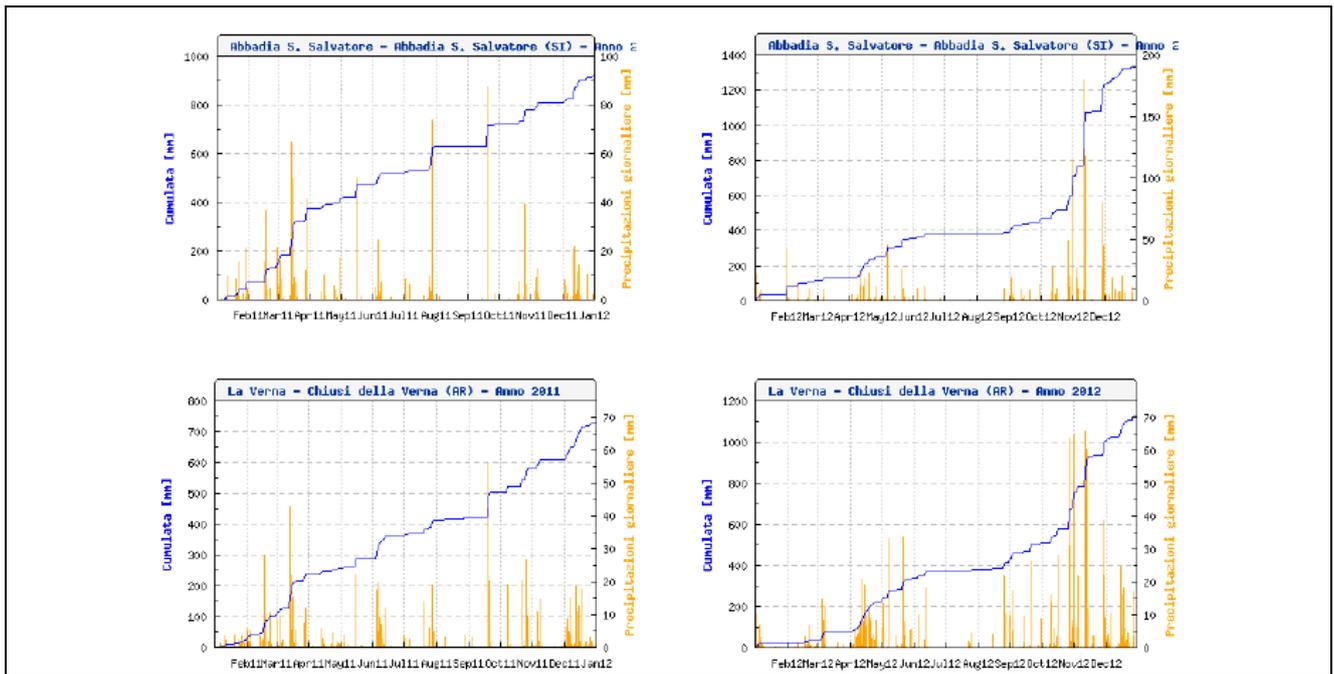


Figura 7. Precipitazioni in mm nel 2011 e 2012 (Servizio Idrologico Regionale Toscana; <http://www.sir.toscana.it/>)

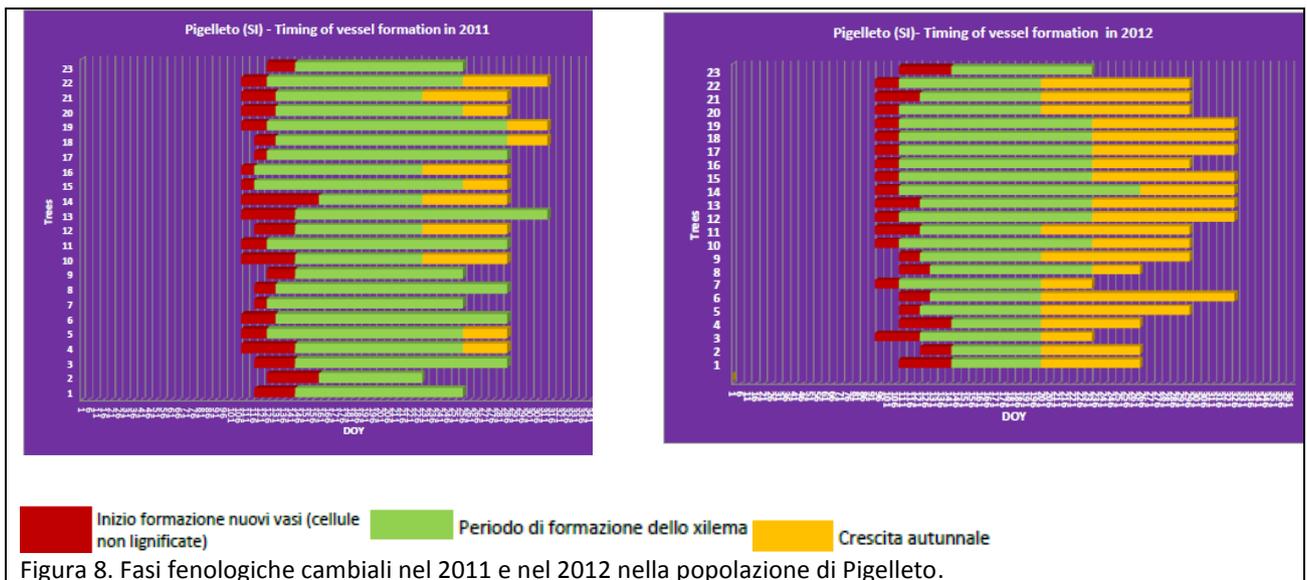


Figura 8. Fasi fenologiche cambiali nel 2011 e nel 2012 nella popolazione di Pigelleto.

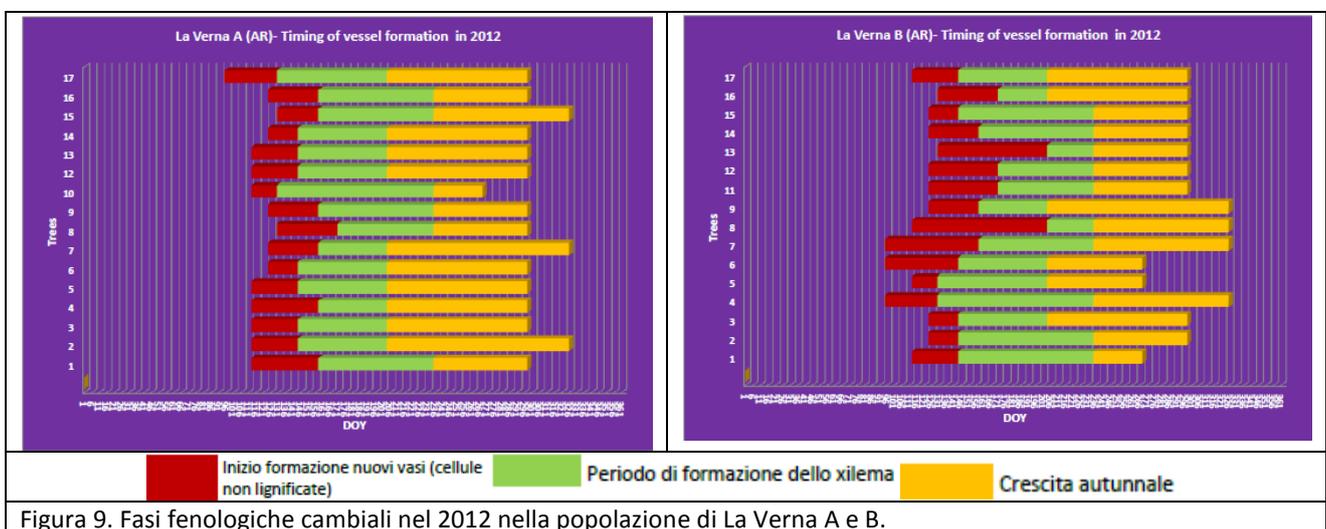


Figura 9. Fasi fenologiche cambiali nel 2012 nella popolazione di La Verna A e B.

L'incremento di diametro del tronco misurato tramite fascette incrementali UMS ha mostrato un andamento simile nei 2 anni, sia considerando i 3 siti, sia considerando le singole piante all'interno di ciascuna area permanente (Figura 10). Per quanto i dati forniti siano relativamente correlabili con quanto registrato a livello anatomico, le fascette non assicurano la massima precisione e risoluzione per la stima del giorno e/o dei giorni di inizio e fine di fasi fenologiche. Risentono, infatti, dell'errore indotto dalle asperità della corteccia e dalle modalità di posizionamento. Inoltre si prestano ad essere danneggiate facilmente per casi fortuiti o da vandalismi, come è accaduto nell'area sperimentale di La Verna A per la fascetta della pianta 13A e 24A.

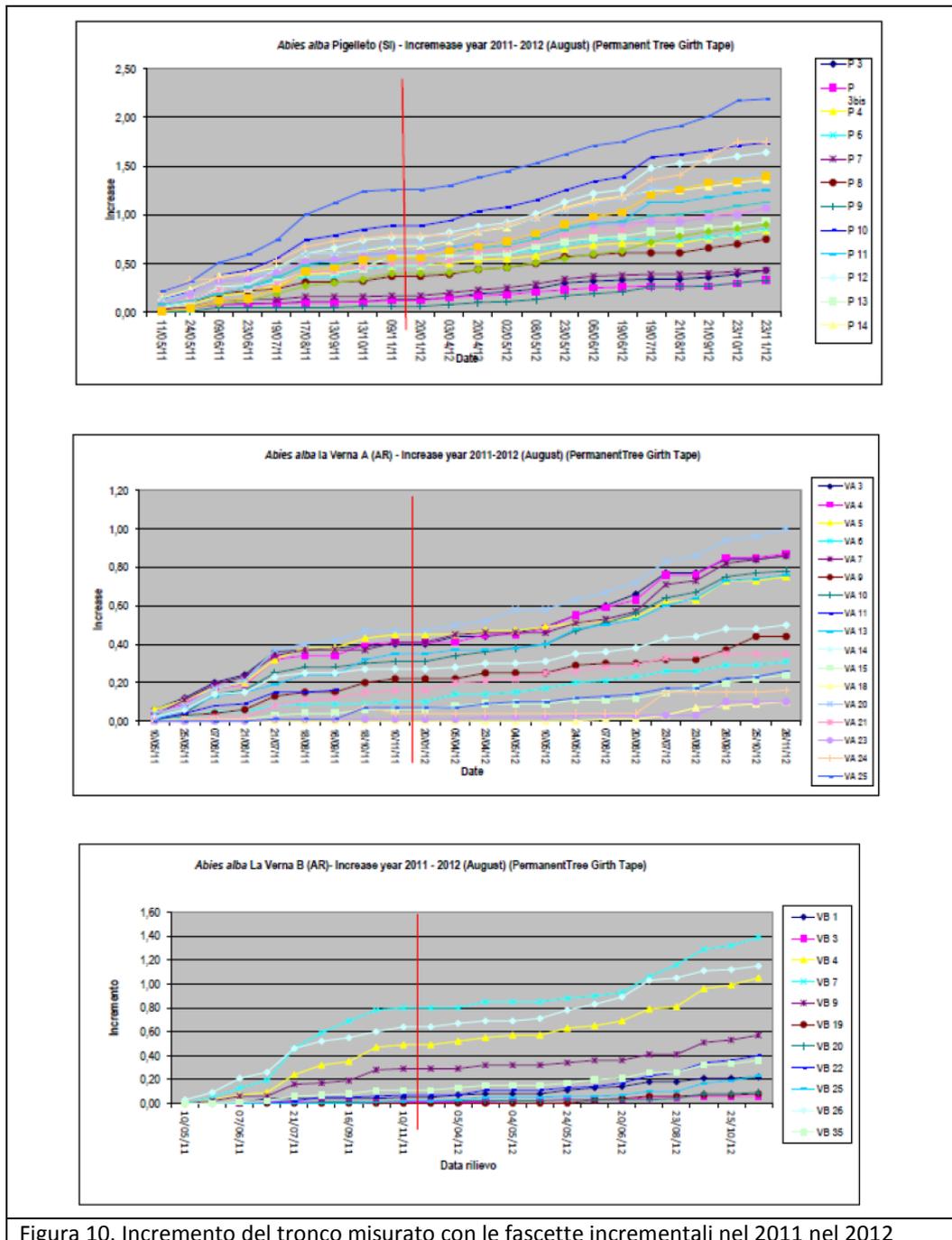


Figura 10. Incremento del tronco misurato con le fascette incrementali nel 2011 nel 2012

Conclusioni

La fenologia del cambio e la dinamica di formazione del nuovo anello nelle popolazioni monitorate è confrontabile con quanto riportato in bibliografia per indagini effettuate con lo stesso metodo. La divisione cellulare e quindi il tasso di formazione di nuove cellule è più elevato nella prima parte della stagione

vegetativa quando è buona la disponibilità idrica del suolo, le temperature non hanno raggiunto i valori massimi, ma è massima la lunghezza del giorno. Probabilmente gli effetti della temperatura sulla formazione dei tessuti è mediata dal fotoperiodo (Rossi *et al.*, 2006c; Rossi *et al.*, 2007b).

Inoltre, come osservato in altre specie tipiche dell'area mediterranea, a causa della ridotta disponibilità idrica estiva, la formazione dello xilema è di tipo bimodale, parte a primavera-inizio dell'estate, ha una pausa nel periodo estivo più caldo e riparte in autunno dopo le piogge (Camarero *et al.*, 2010; Vieira *et al.*, 2014a e 2014b). Lo stress idrico limita la produzione del numero di cellule, per cui nel 2012, nonostante la stagione vegetativa sia stata relativamente più lunga, il numero di cellule monitorate è stato mediamente inferiore rispetto al 2011. (McMillan *et al.*, 2008).

La presenza di variabilità intra-popolazione ed inter-popolazione nelle date di inizio e fine di attività del cambio (genotipi con diversa precocità/tardività, per cui alcune piante sono in grado di vegetare fino a dicembre, mentre altre hanno periodi molto più ristretti), nonostante le dimensioni ridotte delle popolazioni ed i fattori di disturbo, evidenziano che l'*A. alba* appenninico è riuscito a mantenere parte della sua variabilità originaria. Alcuni individui sono molto sensibili alla disponibilità delle piogge estive producendo costantemente falsi anelli, mentre altre, denotano accrescimento molto regolari.

La plasticità della specie, consentirà alle popolazioni indagate di potersi adattare ai cambiamenti climatici previsti nei prossimi anni. Le aree di monitoraggio permanente di La Verna e Pigelleto consentiranno di ripetere il monitoraggio anche dopo la fine del progetto per stimare come evolveranno le popolazioni in ambienti diversi.

Vista la ridotta capacità di rinnovazione delle popolazioni di abete bianco, le attività selvicolturali dovranno favorirne la sopravvivenza, intervenendo a carico del faggio dove questo lo soffoca, ma in maniera controllata, creando un clima di margine che consenta di mantenere livelli di *oceanicità* dei micro-climi per assicurare protezione e condizioni ottimali alla rinnovazione nelle prime fasi dello sviluppo. Si dovrà intervenire sugli strati stramaturi delle popolazioni, isolando piante adulte vigorose in grado di fruttificare.

I microarboreti realizzati ai margini delle abetine con innesti ottenuti dalle piante madri di abete bianco scelte in base alla loro tardività/precocità favoriranno la rinnovazione delle popolazioni e una loro lenta ridiffusione, mitigando gli effetti dovuti all'aumento della temperatura. Per questo motivo è auspicabile realizzare altri micro-arboreti con marze raccolte da almeno 25 - 30 piante scelte casualmente, entro ciascuno dei cluster individuati dall'analisi genetica.

Bibliografia di riferimento

- Alizoti P.G., Kilimis K., Gallios P., 2010. Temporal and spatial variation of flowering among *Pinus nigra* Arn. clones under changing climatic conditions. *Forest Ecology and Management*, 259, 4: 86–797. doi:10.1016/j.foreco.2009.06.029
- Bigliuzzi L., 2004. Il Selvicoltore del Granduca: Carlo Simeoni (1805-1878). Accademia dei Georgofili, Firenze, pp. 64.
- Borchi S., 1989 – Foreste Casentinesi. Ed. DREAM, Firenze: 160 p.
- Camerano P., Ferrazzini D., Ducci F., Belletti P., 2012. Regioni di Provenienza per l'Abete bianco. *Sherwood*, Arezzo, Italia, 182: 35 – 40.
- Camarero J.J., Olano J.M., Parras A., 2010. Plastic bimodal xylogenesis in conifers from continental Mediterranean climates. *New Phytol.*, 185: 471–480.
- Carrer M., Urbinati C., 2006. Long-term change in the sensitivity of tree-ring growth to climate forcing in *Larix decidua*. *New Phytol.*, 170: 861–871.
- Cherubini P., Gartner B.L., Tognetti R., Braker O.U., Schoch W., Innes J.L., 2003. Identification, measurement and interpretation of tree rings in woody species from Mediterranean climates. *Biol. Rev.*, 78: 119–148.
- Deslauriers A., Rossi S., Anfodillo T., Saracino A., 2008. Cambial phenology, wood formation and temperature thresholds in two contrasting years at high altitude in southern Italy. *Tree Physiology*, 28: 863–871.

- Ducci F., 2009. Conservation of Mediterranean forest genetic resources in the context of climate change - Genetic Diversity a key issue for Mediterranean Forest adaptation to Climate Change. Working Group on "Forest Genetic Resources in the Mediterranean region", FAO Silva Mediterranea, Rome (Italy): 10 p.
- Ducci F., Proietti R., 2000. Aspetti genetici delle risorse di abete bianco (*Abies alba* Mill.) nel comprensorio del Parco delle Foreste Casentinesi. Annali Istituto Sperimentale per la Selvicoltura, Arezzo, vol. 28 (anno 1997): 63 – 73.
- Ducci F., Proietti R., Favre J.M., 1998 – Le genre *Abies* en Italie: écologie générale, gestion sylvicole et ressources génétiques. Forêt Méditerranéenne 2, XIX: 153-164.
- Gabbrielli A., Settesoldi E., 1977. La storia della Foresta Casentinese nelle carte dell'archivio dell'Opera del Duomo di Firenze dal secolo 14° al 19°. Ministero Agricoltura e Foreste, Roma - Collana Verde, 43: 547 p.
- Intergovernmental Panel on Climate Change, 2007. Climate Change 2007 – Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Core Writing Team: Pachauri R.K. and Reisinger A. (Eds.), IPCC, Geneva, Switzerland: 104 p. http://www.ipcc.ch/publications_and_data/publications_ipcc_fourth_assessment_report_synthesis_report.htm
- Konnert M., Bergmann F., 1995. The geographical distribution of genetic variation of silver fir (*Abies alba*, *Pinaceae*) in relation to its migration history. Plant Systematics and Evolution, 196: 19-30. - doi: 10.1007/BF00985333
- Kramer K., Leinonen I., Loustau D., 2000. The importance of phenology for the evaluation of impact of climate change on growth of boreal, temperate and Mediterranean forests ecosystems: an overview. Int. J. Biometeorol., 44: 67–75.
- Kramer K., Degen B., Buschbom J., Hickler T., Thuiller W., Sykes M.T., de Winter W., 2010. Modelling exploration of the future of European beech (*Fagus sylvatica* L.) under climate change-Range, abundance, genetic diversity and adaptive response. Forest Ecology and Management, 259: 2213–2222. doi:10.1016/j.foreco.2009.12.023
- Lebourgeois F., Merian P., Courdier F., Ladier J., Dreyfus P., 2012. Instability of climate signal in tree-ring width in Mediterranean mountains: a multi-species analysis. Trees, 26: 715–729. doi:10.1007/s00468-011-0638-7
- Longauer R., Paule L., Andonosk, A., 2003. Genetic diversity of southern population of *Abies alba* Mill.. Forest Genet., 10: 1–10.
- McMillan A.M., Winston G.C., Goulden M.L., 2008. Age-dependent response of boreal forest to temperature and rainfall variability. Global Change Biology, 14: 1904–1916. doi: 10.1111/j.1365-2486.2008.01614.x
- Menzel A., Sparks T.H., Estrella N., Koch E., Aasa A., Ahas R., Alm-Kübler K., Bissolli P., Braslavská O., Briede A., Chmielewski F.M., Crepinsek Z., Curnel Y., Dahl Å, Defila C., Donnelly A., Filella Y., Jatczak K., Mâge F., Mestre A., Nordli Ø., Peñuelas J., Pirinen P., Remišová V., Scheffinger H., Striz M., Susnik A., Van Vliet A.J.H., Wielgolaski F.-E., Zach S., Züst A., 2006. European phenological response to climate change matches the warming pattern. Global Change Biology, 12 (10): 1969–1976. doi: 10.1111/j.1365-2486.2006.01193.x.
- Muller S.D., Nakagawa T., de Beaulieu J.-L., Court-Picon M., Carcaillet C., Miramont C., Roiron P., Boutterin C., Ali A.A., Bruneton H., 2007. Post-glacial migration of silver fir (*Abies alba* Mill.) in the south-western Alps. Journal of Biogeography, 34: 876–899.
- Nielsen C.N., Jørgensen F.V., 2003. Phenology and diameter increment in seedlings of European beech (*Fagus sylvatica* L.) as affected by different soil water contents: variation between and within provenances. Forest Ecology and Management, 174: 233–249.
- Oribe Y., Funada R., Shibagaki M., Kubo T., 2001. Cambial reactivation in locally heated stems of the evergreen conifer *Abies sachalinensis* (Schmidt) Masters. Planta, 212: 684–691.
- Parducci L., Szmidi A.E., Villani F., Wang X.R., Cherubini M., 1996. Genetic variation of *Abies alba* in Italy. Hereditas, 125: 11-18. - doi: 10.1111/j.1601-5223.1996.00011.x
- Parry M.L., Canziani O.F., Palutikof J.P., van der Linden P.J., Hanson C.E. (Eds.), 2007. Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge UP, Cambridge, UK, 976 p.

- Rathgeber C.B.K., Longuetaud F., Mothe F., Cunha H., Le Moguédec G., 2011. Phenology of wood formation: Data processing, analysis and visualisation using R (package CAVIAR). *Dendrochronologia*, 29, (3): 139–149.
- Richardson A.D., Keenan T.F., Migliavacca M., Ryu Y., Sonnentag O., Toomey M., 2013. Climate change, phenology, and phenological control of vegetation feedbacks to the climate system. *Agricultural and Forest Meteorology*, 169: 156–173. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agrformet.2012.09.012>
- Rossi S., Anfodillo T., Menardi R. – 2006a. Trephor: a new tool for sampling microcores from tree stems. *IAWA Journal*, Vol. 27 (1): 89–97.
- Rossi S., Deslauriers A., Anfodillo T. – 2006b. Assessment of cambial activity and xylogenesis by microsampling tree species: an example at the alpine timberline. *IAWA Journal*, 27 (4): 383–394.
- Rossi S., Deslauriers A., Anfodillo T., Morin H., Saracino A., Motta R., Borghetti M., 2006c. Conifers in cold environments synchronize maximum growth rate of tree-ring formation with day length. *New Phytol.*, 170: 301–310.
- Rossi S., Deslauriers A., Anfodillo T., Carraro V., 2007a. Evidence of threshold temperatures for xylogenesis in conifers at high altitudes. *Oecologia*, 152: 1–12.
- Rossi S., Deslauriers A., Anfodillo T., Carraro V., Carrer M., Urbinati C., Menardi R., Fontanella F., 2007b. Effetti della temperatura e del fotoperiodo sulla xilogenesi al limite superiore del bosco. *Italia Forestale e Montana*, 62 (2): 81–97
- Rossi S., Deslauriers A., Anfodillo T., Carrer M., 2008. Age-dependent xylogenesis in timberline conifers. *New Phytologist*, 177: 199–208.
- Rossi S., Morin H., Deslauriers A., Plourde P.-Y., 2011. Predicting xylem phenology in black spruce under climate warming. *Global Change Biology*, 17: 614–625. doi: 10.1111/j.1365-2486.2010.02191.x
- Sagnard F, Barberot C, Fady B, 2002. Structure of Genetic diversity in *Abies alba* Mill. from southwestern Alps: multivariate analysis of adaptive and non-adaptive traits for conservation in France. *Forest Ecology and Management*, 157 (1): 175–189.
- Terhürne-Berson R., Litt T., Cheddadi, R. 2004. The spread of *Abies* throughout Europe since the last glacial period: combines macrofossil and pollen data. *Vegetation history and Archaeobotany*, 13: 257–268.
- Tinner W., Colombaroli D., Heiri O., Henne P.D., Steinacher M., Untenecker J., Vescovi E., Allen J.R.M., Carraro G., Conedera M., Joos F., Lotter A.F., Luterbacher J., Samartin S., Valsecchi V., 2013. The past ecology of *Abies alba* provides new perspectives on future responses of silver fir forests to global warming. *Ecological Monographs*, 83 (4): 419–439.
- Vazzano E., Quilghini G., Travaglini D., Nocentini S., 2011. Evoluzione della copertura forestale nella Foresta della Lama (Parco Nazionale delle Foreste Casentinesi) dal Piano di assestamento di Siemoni e Seeland del 1837 a oggi. *Forest@*, 8: 78–87.
- Vendramin G.G., Degen B., Petit R.J., Anzidei M., Madaghiele A., Ziegenhagen B., 1999. High level of variation at *Abies alba* chloroplast microsatellite *loci* in Europe. *Molecular Ecology*, 8: 1117–1126.
- Vicario F., Vendramin G.G., Rossi P., Liò P., Giannini R., 1995. Allozyme, chloroplast DNA and RAPD markers for determining genetic relationships between *Abies alba* and the relic population of *Abies nebrodensis*. *Theor Appl Genet.*, 90 (7–8): 1012–1018.
- Vieira J., Rossi S., Campelo F., Nabais C., 2014a. Are neighboring trees in tune? Wood formation in *Pinus pinaster*. *Eur. J. Forest Res.*, 133: 41–50. DOI 10.1007/s10342-013-0734-x
- Vieira J., Rossi S., Campelo F., Helena Freitas H., Nabais C., 2014b. Xylogenesis of *Pinus pinaster* under a Mediterranean climate. *Annals of Forest Science*, 71: 71–80. DOI 10.1007/s13595-013-0341-5
- Wolf H., 2003. EUFORGEN Technical Guidelines for genetic conservation and use for silver fir (*Abies alba*). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy: 6 p.