

STEFANO PUGLISI (\*)

**VARIABILITÀ GENETICA DI POPOLAZIONI ITALIANE  
DI PINO SILVESTRE (*PINUS SYLVESTRIS* L.):  
ASPETTI GESTIONALI E SELVICOLTURALI  
PARTE I**

FDC 165.3 : 174.7 *Pinus sylvestris*

*Otto popolazioni di pino silvestre (Pinus sylvestris L.) – sette alpine ed una appenninica, rappresentative dell'areale italiano della specie – sono state sottoposte ad analisi isoenzimatica, mediante elettroforesi orizzontale su gel d'amido eseguita utilizzando sei sistemi enzimatici (LAP, GOT, PGM, MDH, GDH, SKDH), per un totale di 12 loci, al fine di studiarne la struttura genetica. I valori dei parametri di diversità genetica all'interno delle popolazioni sono risultati piuttosto elevati, mentre la differenziazione tra le popolazioni è risultata complessivamente bassa, come è stato osservato nella maggior parte delle conifere finora studiate. Tuttavia, la popolazione relitta dell'Appennino emiliano si distingue per la sua marcata differenziazione da tutte le altre, che sono sostanzialmente simili tra loro; essa inoltre presenta al suo interno una diversità genetica solo leggermente inferiore a quella delle popolazioni alpine, nonostante il suo isolamento. Si tratta di un piccolo soprassuolo che, insieme con gli altri nuclei indigeni sparsi sull'Appennino ligure-emiliano, costituisce una testimonianza di migrazioni avvenute nei periodi interglaciali e nel postglaciale.*

INTRODUZIONE

Tra le *Pinaceae*, il pino silvestre (*Pinus sylvestris* L.) è la specie caratterizzata dall'areale più esteso (MIROV, 1967; BORATYŃSKI, 1991). Partendo dalle penisole iberica e balcanica ed estendendosi fino alla Scandinavia, l'area naturale di vegetazione di questo pino attraversa la Siberia e si spinge fino in Cina (Manciuria), giungendo in prossimità delle coste del Pacifico.

L'eterogeneità ambientale che è dato riscontrare in un territorio così vasto e la lunga storia evolutiva della specie sono all'origine di un'elevata variabilità genetica intraspecifica. Si ritiene che il pino silvestre si sia svilup-

---

(\*) Ricercatore, Istituto di Genetica Vegetale - CNR Via Amendola, 165/A - 70126 Bari

pato in Asia orientale e si sia poi diffuso in direzione dell'Europa, dove è presente a partire dal Terziario (MOLOTKOV e PATLAJ, 1991). Le ripetute modificazioni dell'areale verificatesi durante i periodi glaciali e interglaciali del Pleistocene provocarono la comparsa di numerose nuove popolazioni, con conseguente incremento della variabilità e della differenziazione genetica. Ciò ha reso ardua la definizione di un sistema tassonomico intraspecifico (MOLOTKOV e PATLAJ, 1991).

L'importanza che questa specie presenta per la selvicoltura centro-europea e scandinava ha portato ad un'intensa attività di ricerca in svariati settori disciplinari; numerosi studi sono stati condotti anche sulla struttura genetica delle popolazioni utilizzando marcatori genetici biochimici e, più di recente, anche molecolari (FILPPULA *et al.*, 1992; KARVONEN e SAVOLAINEN, 1993; SZMIDT e WANG, 1993; SZMIDT *et al.*, 1996; PROVAN *et al.*, 1998; SINCLAIR *et al.*, 1999). Lo studio delle popolazioni italiane (BELLETTI e GULLACE, 1999; PUGLISI *et al.*, 1999; PUGLISI e ATTOLICO, 2000; BELLETTI *et al.*, 2002), che solo negli ultimi anni sono state indagate sotto questo aspetto, ha pertanto consentito di completare il quadro delle conoscenze sul settore europeo dell'areale.

L'areale italiano del pino silvestre è limitato all'arco alpino e all'Appennino ligure-emiliano. Nel settore appenninico sono presenti nuclei relitti di limitata estensione sparsi sul territorio, che rappresentano una testimonianza degli eventi climatici e vegetazionali che hanno caratterizzato i periodi interglaciali e il postglaciale (CHIARUGI, 1950; GIACOMINI, 1958; JEDLOWSKI e MINERBI, 1967; AGOSTINI, 1972; WATSON, 1996).

In Italia questa specie, che ha attraversato una fase di grande espansione nel periodo anatermico del postglaciale, è attualmente sfavorita da condizioni climatiche che rendono altre specie più competitive e che conferiscono carattere regressivo ai soprassuoli rimasti (AGOSTINI, 1955), fatta eccezione per i popolamenti vegetanti nelle valli interne delle Alpi, caratterizzate da un clima continentale favorevole al pino silvestre, o su suoli poco evoluti, sui quali l'insediamento di altre specie arboree è problematico (BERNETTI, 1995). Tuttavia, essendo una specie eliofila e pioniera, caratterizzata da elevata rusticità, frugalità e plasticità ecologica, riveste una certa importanza per la selvicoltura italiana sia per la colonizzazione di terreni rimasti scoperti a seguito di eventi catastrofici che per rimboschimenti da eseguire su suoli inospitali (AGOSTINI, 1955; BERNETTI, 1995).

Lo scopo che il presente lavoro si propone è l'individuazione di criteri utili alla definizione di forme di gestione e trattamento selvicolturale atte a conciliare le varie funzioni attribuite ai soprassuoli studiati con le esigenze della conservazione delle risorse genetiche, che costituisce uno degli aspetti più importanti della tutela della biodiversità. Il termine *biodiversità* (contra-

zione di *diversità biologica*), infatti, viene usato per descrivere il numero, la varietà e la variabilità degli organismi viventi, e si riferisce a tre livelli di organizzazione biologica gerarchicamente connessi: *geni*, *specie* ed *ecosistemi*. Schematicamente, pertanto, sono tre le categorie di diversità biologica da prendere in considerazione (ANONIMO, 1992):

- diversità genetica, che consiste nella variabilità ereditaria presente all'interno e tra popolazioni di organismi, ed è perciò prevalentemente intraspecifica;
- diversità specifica, che viene comunemente intesa sia come quantità di specie presenti in una data biocenosi, sia in termini di diversità tra specie (*diversità tassonomica*), ed è legata alla definizione stessa del concetto di specie, che può variare considerevolmente tra gruppi diversi di organismi;
- diversità ecosistemica, che si differenzia dalla precedente in quanto gli ecosistemi includono componenti abiotiche, e tiene conto sia della quantità di specie presenti che della loro relativa abbondanza, nonché del numero di specie presenti in differenti classi dimensionali o di biomassa, livelli trofici, gruppi tassonomici.

Per perseguire l'obiettivo suddetto ci si è basati sullo studio della struttura genetica di otto popolazioni naturali di pino silvestre, rappresentative dell'areale italiano della specie (PUGLISI *et al.*, 1999; PUGLISI e ATTOLICO, 2000).

## MATERIALI E METODI

### *Popolazioni campionate*

Sono state sottoposte a campionamento sette popolazioni alpine, una per ciascuna regione, ed una dell'Appennino emiliano (Fig. 1; Tab. 1). Tutte le popolazioni campionate sono ritenute autoctone. Quattro di esse (Casina, Ceriana, Fenestrelle e Bressanone) sono iscritte nel Libro Nazionale dei Boschi da Seme (MORANDINI e MAGINI, 1975).

I soprassuoli alpini presentano una struttura tendenzialmente coetaneiforme, a tratti irregolare (Morbegno) o disetanea per gruppi (Malborghetto). Il nucleo appenninico (Casina) è caratterizzato da una struttura che, come spiegano JEDLOWSKI e MINERBI (1967), «in apparenza si presenta coetaneiforme, per il precoce arresto dello sviluppo longitudinale» che caratterizzerebbe il pino silvestre dell'Appennino basale emiliano.

Nei popolamenti studiati, il pino silvestre si presenta puro o associato ad altre specie. Inoltre, essi sono, in maggioranza, interessati da processi successionali destinati a trasformarli in peccete o boschi di latifoglie. All'e-

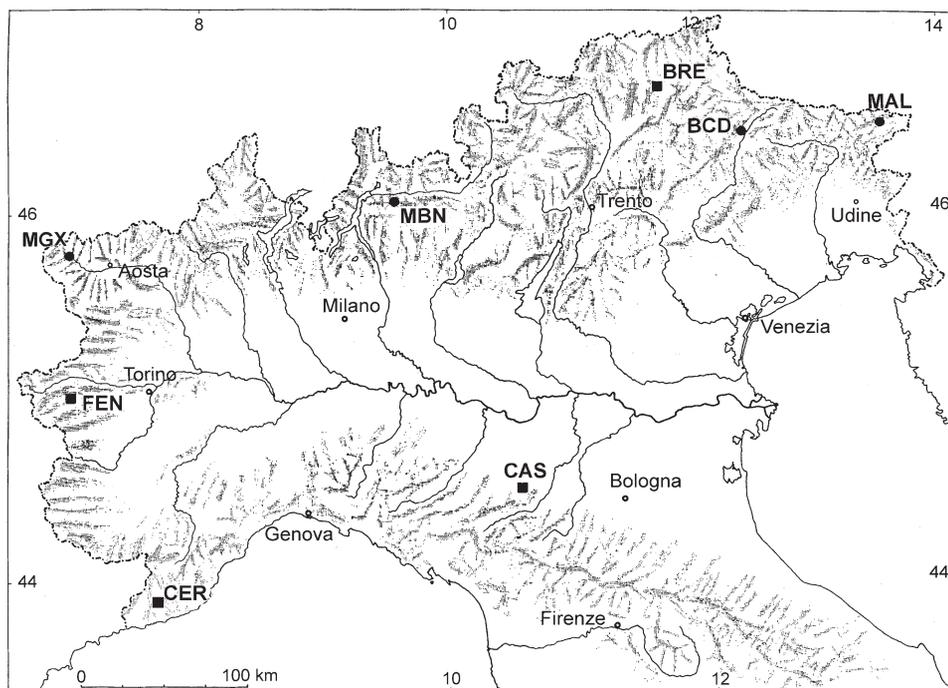


Figura 1 - Ubicazione delle popolazioni studiate. I simboli quadrati si riferiscono ai boschi da seme, quelli circolari alle popolazioni rimanenti.

Tabella 1 – Origine geografica delle popolazioni studiate.

Località	Sigla	Numero di piante campionate	Latitudine (N)	Longitudine (E)	Altitudine (m)	Regione
Casina (RE)	CAS	20	44°30'	10°27'	450	Emilia Romagna
Ceriana (IM)	CER	20	43°55'	07°46'	1000	Liguria
Fenestrelle (TO)	FEN	20	45°02'	07°04'	1300-1750	Piemonte
Morgex (AO)	MGX	59	45°46'	07°00'	1000-1400	Valle d'Aosta
Morbegno (SO)	MBN	75	46°10'	09°36'	250-1200	Lombardia
Bressanone (BZ)	BRE	21	46°45'	11°39'	650-800	Trentino - Alto Adige
Borca di Cadore (BL)	BCD	20	46°26'	12°15'	1200	Veneto
Malborghetto (UD)	MAL	21	46°28'	13°27'	700-1000	Friuli - Venezia Giulia

poca del campionamento non erano presenti danni significativi da inquinamento o da patogeni.

Il campionamento è stato eseguito fra il 1988 e il 1989, mediante raccolta di strobili da almeno 20 piante per popolazione, poste ad una distanza minima di 50-100 m e distribuite uniformemente sulle aree designate. Due popolazioni (Morgex e Morbegno) sono state sottoposte ad un campionamento stratificato per quote, al fine di stimare la differenziazione fra tre sottopopolazioni individuate all'interno di ciascuna di esse, e le eventuali variazioni clinali delle frequenze alleliche e degli altri parametri genetici (PUGLISI *et al.*, 1999). I semi estratti dagli strobili sono stati essiccati e conservati a 4-5 °C fino al momento delle analisi.

#### *Analisi isoenzimatiche*

Le analisi isoenzimatiche sono state eseguite mediante elettroforesi orizzontale su gel d'amido condotta sugli embrioni di 12 semi per ciascuna pianta madre. Sono stati utilizzati sei sistemi enzimatici, codificati da 12 loci: LAP (leucina amminopeptidasi, E.C. 3.4.11.1), GOT (glutammato ossalacetato transaminasi, E.C. 2.6.1.1), PGM (fosfoglucomutasi, E.C. 2.7.5.1), MDH (malato deidrogenasi, E.C. 1.1.1.37), GDH (glutammato deidrogenasi, E.C. 1.4.1.2), SKDH (scichimato deidrogenasi, E.C. 1.1.1.25). I dettagli tecnici ed il modello di controllo genetico dei sistemi enzimatici saggiati sono riportati in PUGLISI *et al.* (1999) e PUGLISI e ATTOLICO (2000). Nell'ambito di ciascun sistema enzimatico, i loci codificanti sono stati indicati con lettere maiuscole poste dopo l'acronimo dell'enzima, a partire dalla zona di attività posta nel settore più anodico del gel. Nell'ambito di ciascun locus, gli alleli sono stati indicati con numeri a partire da quello caratterizzato dalla maggiore velocità di migrazione.

#### *Parametri genetici*

I genotipi embrionali ottenuti dalle analisi isoenzimatiche sono stati elaborati con il programma BIOSYS-1 (SWOFFORD e SELANDER, 1989). L'eterogeneità tra le distribuzioni delle frequenze alleliche nelle varie popolazioni è stata stimata mediante il test del chi-quadro di contingenza (SNEDECOR e COCHRAN, 1967).

Sulla base delle frequenze alleliche stimate, è stata calcolata una serie di parametri di diversità genetica (variabilità all'interno delle popolazioni) e di differenziazione genetica (variabilità tra popolazioni).

Della prima categoria fanno parte i seguenti parametri: numero medio di alleli per locus ( $N$ ); percento di loci polimorfici ( $P$ ) calcolato col criterio del 5%, vale a dire la percentuale di loci il cui allele più comune ha una frequenza inferiore al 95%; diversità genetica ( $v$ ; GREGORIUS, 1978; MÜLLER-

STARCK e GREGORIUS, 1986), altrimenti detto numero effettivo di alleli (CROW e KIMURA, 1970), il cui valore medio per popolazione è calcolato come la media armonica dei valori dei singoli loci; eterozigosità attesa secondo Hardy-Weinberg ( $H_e$ ; NEI, 1978); eterozigosità osservata ( $H_o$ ). Per confrontare i valori di quest'ultimo parametro con i valori di eterozigosità attesa in condizioni di equilibrio panmittico, è stato calcolato l'indice di fissazione di Wright ( $F$ ; WRIGHT, 1922).

Nella seconda categoria rientrano:

- l'analisi della diversità genetica (NEI, 1973), costituita da un insieme di parametri che rappresentano la distribuzione della diversità genetica:  $H_t$  (diversità totale),  $H_s$  (diversità entro le popolazioni),  $D_{st}$  ( $H_t - H_s$ ; diversità tra popolazioni) e  $G_{st}$  ( $D_{st} / H_t$ ; livello relativo di differenziazione genetica);
- differenziazione tra sottopopolazioni ( $\delta$ ; GREGORIUS e ROBERDS, 1986), che rappresenta la distanza genetica – calcolata secondo la formula di GREGORIUS (1974) – tra ciascuna popolazione e tutte le altre, considerate come un unico insieme, ed è considerata più sensibile del più utilizzato parametro  $G_{st}$ ;
- distanza genetica, calcolata mediante le formule di NEI (1978, la più usata) e GREGORIUS (1974).

I valori della distanza genetica di Nei sono stati usati per costruire un dendrogramma mediante il metodo UPGMA (SNEATH e SOKAL, 1973).

## RISULTATI E DISCUSSIONE

Il confronto tra frequenze alleliche evidenzia una serie di peculiarità che distinguono la popolazione appenninica (Casina) dalle altre (PUGLISI e ATTOLICO, 2000).

I valori del chi-quadro di eterogeneità fra le distribuzioni delle frequenze alleliche in tutte le popolazioni, calcolati per i loci polimorfici previo raggruppamento degli alleli le cui frequenze attese assolute sono minori di 4, rivelano una significativa eterogeneità delle frequenze alleliche di 10 loci su un totale di 12, e ciò rappresenta la conferma statistica di alcune delle peculiarità osservate confrontando le distribuzioni delle frequenze alleliche (PUGLISI e ATTOLICO, 2000).

I valori medi di eterozigosità attesa ( $H_e$ ) ed osservata ( $H_o$ ) risultano elevati (0.283 e 0.242, rispettivamente; Tab. 2); il primo è infatti superiore al valore medio, stimato per le gimnosperme, di eterozigosità attesa entro le popolazioni, (HAMRICK *et al.*, 1992). Anche gli altri parametri di diversità

Tabella 2 – Parametri di diversità genetica.  $N$ : numero medio di alleli per locus;  $P$ : percento di loci polimorfici col criterio del 5%;  $v$ : diversità genetica;  $H_e$ : eterozigosità attesa secondo Hardy-Weinberg;  $H_o$ : eterozigosità osservata;  $F$ : indice di fissazione.

Popolazione	$N$	$P$	$v$	$H_e$	$H_o$	$F$
CAS	2.8	58.3	1.319	.242	.192	.207
CER	3.3	58.3	1.391	.282	.248	.121
FEN	3.2	66.7	1.387	.280	.223	.204
MGX	3.2	83.3	1.431	.301	.266	.116
MBN	3.3	75.0	1.422	.297	.253	.148
BRE	3.2	75.0	1.449	.310	.265	.145
BCD	3.0	66.7	1.370	.271	.230	.151
MAL	3.2	66.7	1.385	.278	.255	.083
Media	3.2	68.8	1.394	.283	.242	.147

genetica mostrano valori piuttosto elevati (Tab. 2). Questi risultati rivelano che le popolazioni analizzate sono portatrici di una variabilità genetica paragonabile a quella di popolazioni naturali della stessa specie studiate da altri autori in diversi paesi europei ed asiatici (MEJNARTOWICZ, 1979; GULLBERG *et al.*, 1982; MEJNARTOWICZ e BERGMANN, 1985; KINLOCH *et al.*, 1986; MUONA e HARJU, 1989; SAVOLAINEN e YAZDANI, 1991; WANG *et al.*, 1991; GONCHARENKO *et al.*, 1994; NEET-SARQUEDA, 1994; PRUS-GLOWACKI e BERNARD, 1994; PRUS-GLOWACKI e STEPHAN, 1994; ZHELEV *et al.*, 1994; SAVOLAINEN e HEDRICK, 1995; SZMIDT *et al.*, 1996). Le popolazioni di Bressanone e Morgex sono caratterizzate dai valori più alti dei parametri stimati, mentre la popolazione appenninica di Casina presenta i valori minimi, che rimangono comunque elevati nonostante il suo isolamento, non essendoci consistenti differenze tra le popolazioni studiate laddove sarebbe lecito attendersi una variabilità sensibilmente ridotta per effetto della deriva genetica. Un fenomeno analogo è stato osservato da GIANNINI *et al.* (1991) e da MORGANTE e VENDRAMIN (1991) nella popolazione appenninica relitta e isolata di abete rosso (*Picea abies* (L.) Karst) di Campolino.

I valori dell'indice di fissazione  $F$  (Tab. 2) sono positivi in tutte le popolazioni studiate, rivelando così un difetto di individui eterozigoti rispetto alle frequenze attese in condizioni di equilibrio panmittico. Il valo-

re più alto (0.207) appartiene alla piccola ed isolata popolazione appenninica di Casina, ma anche la popolazione alpina di Fenestrelle presenta un valore solo di poco inferiore. Il pino silvestre è una specie parzialmente autoimpollinante (MÜLLER-STARCK, 1977, 1979, 1982a, 1982b; YAZDANI *et al.*, 1985; RUDIN *et al.*, 1986; KÄRKKÄINEN e SAVOLAINEN, 1993; KÄRKKÄINEN *et al.*, 1996), come è stato riscontrato anche in molte altre conifere che – a differenza delle angiosperme – non dispongono di alcun meccanismo prezigotico di incompatibilità (MÜLLER-STARCK e GREGORIUS, 1988). Le piante generate da semi originatisi per autoimpollinazione sono solitamente caratterizzate da ridotta vitalità (depressione da inincrocio), provocata da alleli letali e semiletali in omozigosi, e vengono di conseguenza sottoposte a selezione naturale (MÜLLER-STARCK, 1982b; YAZDANI *et al.*, 1985; LUNDKVIST *et al.*, 1987; MUONA *et al.*, 1987; KÄRKKÄINEN e SAVOLAINEN, 1993; SAVOLAINEN e HEDRICK, 1995; KÄRKKÄINEN *et al.*, 1996; HEDRICK *et al.*, 1999). I valori qui riportati si riferiscono a frequenze genotipiche embrionali, che normalmente includono una certa quantità di progenie generatasi per inincrocio, prima pertanto che la selezione naturale abbia iniziato a svolgere la propria azione. Un raffronto dettagliato fra la fase embrionale e la fase adulta (piante madri) di ciascuna popolazione sarà oggetto di un'altra pubblicazione (PUGLISI e ATTOLICO, in preparazione).

I parametri riportati in Tab. 3 mostrano la distribuzione della diversità genetica entro e fra le popolazioni. Il valore medio di  $G_{st}$  è pari al 2,6%, simile a quelli riscontrati in molte altre conifere ad ampio areale, e indica che la stragrande maggioranza della variabilità genetica rilevata risiede all'interno delle popolazioni, e che pertanto la differenziazione media esistente tra di loro è minima. Come si può osservare in tabella, i valori di  $G_{st}$  non sono uniformi, e per alcuni loci la quota di diversità imputabile alla differenziazione fra popolazioni è più alta della media (10,4% per il locus *Gdb-A*). Nella maggior parte delle conifere sottoposte a questo tipo di indagini, è stato osservato lo stesso modello di distribuzione della diversità genetica. GULLBERG *et al.* (1985), KINLOCH *et al.* (1986), MUONA e HARJU (1989), SZMIDT e WANG (1993), GONCHARENKO *et al.* (1994), PRUS-GLOWACKI e STEPHAN (1994), ZHELEV *et al.* (1994) hanno rilevato valori di  $G_{st}$  – fra popolazioni di pino silvestre di diverse origini – simili a quelli qui riportati. Tuttavia, GULLBERG *et al.* (1985), confrontando valori riportati in varie indagini condotte su conifere, hanno osservato che le popolazioni vegetanti in regioni geografiche non interessate dalle glaciazioni sono maggiormente differenziate. Infatti, le popolazioni svedesi di pino silvestre presentano bassi valori di  $G_{st}$ , che raggiungono invece ben il 16% per popolazioni che si estendono su aree in passato non ricoperte da calotte glaciali. Un analogo confronto è stato eseguito da PRUS-GLOWACKI e BERNARD

Tabella 3 – Analisi della diversità genetica.  $H_t$ : diversità totale;  $H_s$ : diversità entro le popolazioni;  $D_{st}$ : diversità tra popolazioni ( $H_t - H_s$ );  $G_{st}$ : livello relativo di differenziazione genetica ( $D_{st} / H_t$ ).

Locus	$H_t$	$H_s$	$D_{st}$	$G_{st}$
<i>Lap-B</i>	.140	.136	.003	.025
<i>Got-A</i>	.009	.009	.000	.003
<i>Got-B</i>	.623	.611	.012	.020
<i>Got-C</i>	.431	.416	.015	.035
<i>Pgm-A</i>	.163	.161	.001	.009
<i>Mdb-A</i>	.062	.061	.001	.015
<i>Mdb-B</i>	.006	.006	.000	.014
<i>Mdb-C</i>	.429	.423	.006	.014
<i>Mdb-D</i>	.622	.614	.009	.014
<i>Gdb-A</i>	.490	.439	.051	.104
<i>Skdb-A</i>	.393	.390	.003	.008
<i>Skdb-B</i>	.124	.119	.006	.045
Media	.291	.282	.009	.026

(1994), rilevando un  $G_{st} = 7.60\%$  per popolazioni di aree non interessate da fenomeni glaciali e un  $G_{st} = 3.52\%$  per le rimanenti. Le Alpi, come pure i paesi scandinavi, furono ricolonizzate nel postglaciale (CHIARUGI, 1950; GIACOMINI, 1958; PRAVDIN, 1969), pertanto il loro basso valore di  $G_{st}$  potrebbe essere il risultato di una ridiffusione relativamente recente della specie, a causa di un periodo di tempo insufficiente per sviluppare una significativa differenziazione tra popolazioni.

Il valore medio del parametro  $\delta$  (differenziazione tra sottopopolazioni) – calcolato su tutti i loci e tutte le popolazioni – è del 4.7% (Tab. 4), e pur essendo basso è quasi il doppio del valore medio di  $G_{st}$ , trattandosi di una misura di differenziazione più sensibile della precedente. Analizzando i valori di questo parametro, che rappresenta la differenziazione di ciascuna popolazione rispetto a tutte le altre considerate come un unico insieme, appare subito evidente una marcata differenziazione della popolazione appenninica ( $D_{fi} = 11.3\%$ ). Il parametro  $\delta$  si presta ad un'efficace rappresentazione grafica, le cosiddette «chioccioline di differenziazione» (Fig. 2), che evidenzia con immediatezza l'elevato livello di differenziazione della popolazione di Casina, come pure la tendenza delle popolazioni di Ceriana, Fenestrelle e Borca di Cadore a differenziarsi dalle rimanenti. I loci che meglio consentono di discriminare le popolazioni tra loro sono *Got-B*, *Got-C*, *Mdb-D* e *Gdb-A*.

Anche i valori medi di distanza genetica di Nei e Gregorius (0.013 e 0.075, rispettivamente; Tab. 5) confermano il basso livello di differenziazione media rilevato con i suddetti parametri. In particolare, la distanza genetica di Gregorius, a differenza della prima (che costituisce la misura mag-

Tabella 4 – Differenziazione genetica tra popolazioni (valori di  $\delta$ ).  $D_{ji}$ : valori di differenziazione delle singole popolazioni.

Locus	Popolazione								$\delta$
	CAS $D_{j1}$	CER $D_{j2}$	FEN $D_{j3}$	MGX $D_{j4}$	MBN $D_{j5}$	BRE $D_{j6}$	BCD $D_{j7}$	MAL $D_{j8}$	
<i>Lap-B</i>	.077	.052	.033	.098	.054	.018	.018	.030	.056
<i>Got-A</i>	.002	.005	.002	.005	.004	.011	.002	.002	.004
<i>Got-B</i>	.204	.187	.084	.077	.099	.071	.064	.051	.099
<i>Got-C</i>	.235	.048	.156	.040	.061	.014	.034	.071	.071
<i>Pgm-A</i>	.044	.059	.010	.026	.012	.040	.019	.032	.026
<i>Mdb-A</i>	.047	.027	.033	.027	.028	.010	.021	.006	.026
<i>Mdb-B</i>	.002	.020	.002	.003	.002	.002	.002	.002	.004
<i>Mdb-C</i>	.037	.044	.109	.040	.058	.101	.020	.068	.056
<i>Mdb-D</i>	.170	.022	.064	.020	.069	.017	.102	.099	.062
<i>Gdb-A</i>	.417	.211	.037	.018	.007	.035	.126	.054	.076
<i>Skdb-A</i>	.069	.068	.070	.037	.050	.052	.083	.013	.051
<i>Skdb-B</i>	.056	.034	.038	.012	.001	.129	.063	.041	.032
Pool genico	.113	.065	.053	.034	.037	.042	.046	.039	.047

giormente utilizzata), può variare solo da 0 a 1, risultando così valutabile in modo più immediato. Nella maggior parte delle ricerche condotte finora sul pino silvestre, i valori di distanza genetica sono risultati bassi, anche fra popolazioni molto distanti tra loro, come nel caso di alcune popolazioni svedesi e cinesi (WANG *et al.*, 1991). Tuttavia, entrambe le misure rivelano la forte differenziazione della popolazione relitta appenninica di Casina: i valori medi di distanza genetica rispetto alle restanti popolazioni sono 0.036 e 0.118, rispettivamente.

MEJNARTOWICZ e BERGMANN (1985) hanno osservato valori di distanza genetica di Gregorius simili o superiori a quest'ultimo, studiando alcune popolazioni polacche di pino silvestre vegetanti in aree non interessate da fenomeni glaciali. GONCHARENKO *et al.* (1994) hanno rilevato valori simili fra popolazioni isolate in Europa orientale e in Siberia. GONCHARENKO *et al.* (1995), basandosi su valori simili di distanza genetica di Nei ottenuti confrontando diverse razze geografiche, hanno potuto attribuire al *P. sylvestris* var. *hamata* lo status di *taxon* distinto. PRUS-GLOWACKI e STEPHAN (1994) hanno osservato un analogo livello di differenziazione tra le popolazioni di pino silvestre che segnano il limite meridionale dell'areale naturale della specie (Sierra Nevada) e le altre popolazioni spagnole esaminate.

Risultati simili sono stati ottenuti da SZMIDT (1982) su popolazioni di *Pinus cembra* L., specie caratterizzata da una distribuzione geografica discontinua e suddivisa in zone relativamente ristrette ed isolate, e da FINE-

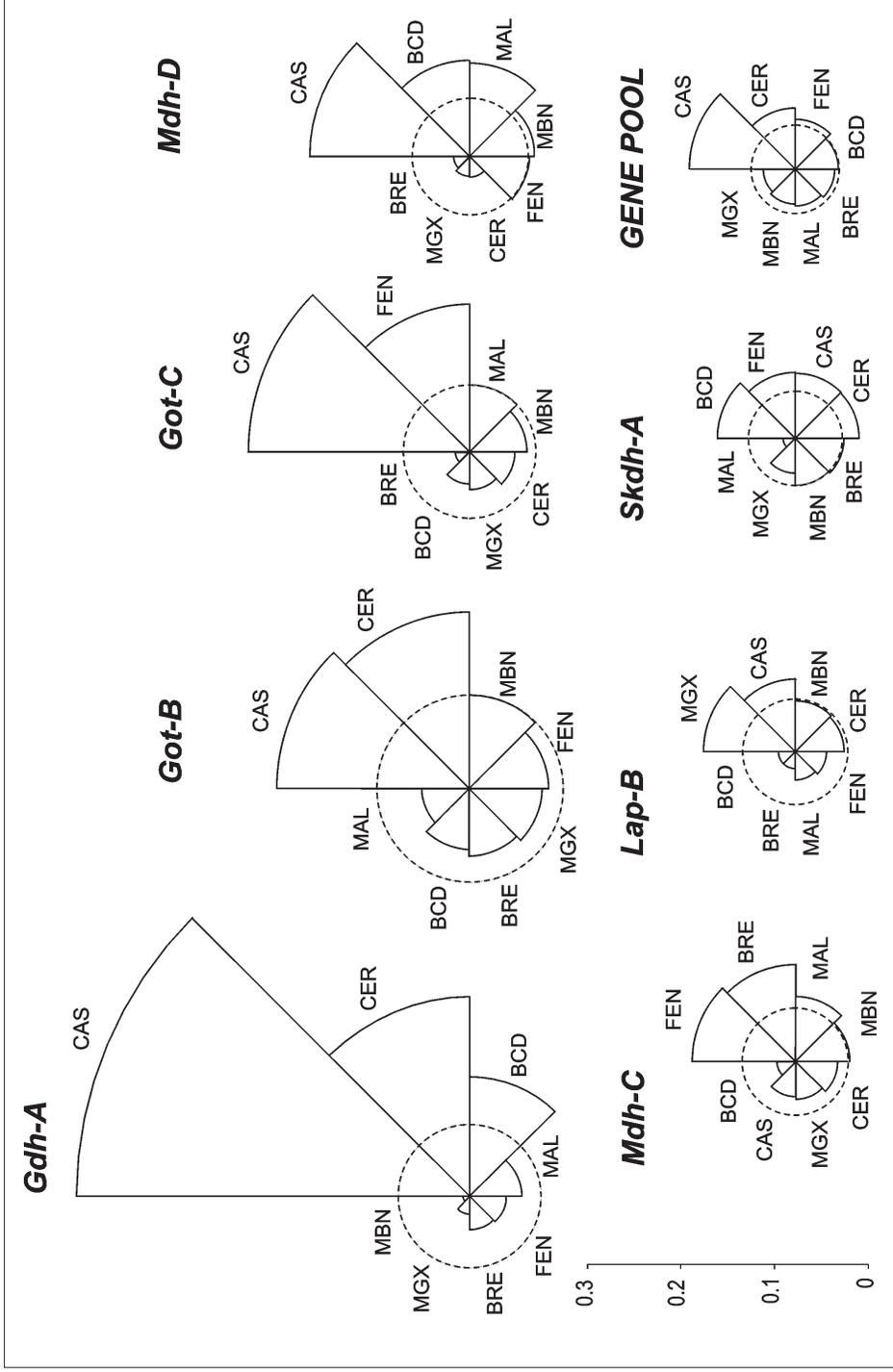


Figura 2 – Rappresentazione grafica («chiocciolate di differenziaziones») dei valori riportati in Tabella 4. La lunghezza del raggio di ciascuna delle circonferenze tratteggiate corrisponde al livello di differenziazione totale ( $\delta$ ) relativo a quel locus, e la lunghezza del raggio di ciascun settore corrisponde al valore di differenziazione di una singola popolazione.

Tabella 5 – Distanze genetiche calcolate secondo Gregorius (sopra la diagonale) e Nei (sotto la diagonale).

Popolazione	CAS	CER	FEN	MGX	MBN	BRE	BCD	MAL
CAS	—	.125	.118	.119	.113	.130	.117	.105
CER	.050	—	.071	.073	.066	.082	.065	.077
FEN	.037	.007	—	.057	.063	.067	.063	.064
MGX	.031	.009	.006	—	.041	.042	.049	.043
MBN	.031	.009	.006	.003	—	.048	.060	.056
BRE	.035	.010	.010	.003	.003	—	.060	.059
BCD	.041	.005	.006	.003	.005	.006	—	.054
MAL	.024	.011	.007	.002	.004	.006	.005	—

SCHI (1983), NIKOLIĆ e TUCIĆ (1983) e SCALTSOYIANNES *et al.* (1994) tra alcune sottospecie di *Pinus nigra* Arn., specie pure caratterizzata da areale discontinuo nel quale le popolazioni appartenenti a diverse sottospecie sono spesso separate da distanze assai elevate.

La rilevante differenziazione della popolazione appenninica di Casina trova adeguata rappresentazione grafica anche nel dendrogramma costruito sulla base dei valori di distanza genetica di Nei (Fig. 3), che peraltro evidenzia anche la sostanziale similarità delle popolazioni alpine.

Diversi autori, basandosi su alcuni caratteri morfologici, hanno ipotizzato per il pino silvestre dell'Appennino emiliano lo status di «razza» o «varietà» (AGOSTINI, 1972). Lo studio più recente sull'argomento (ANTONAROLI *et al.*, 1985), eseguito su una serie di caratteri morfologici dei semenzali di sei popolazioni italiane – due emiliane (Casina e Monte Termine, quest'ultima della provincia di Bologna) e quattro alpine (fra le quali Ceriana e Bressanone) – e di due popolazioni tedesche, ha permesso di rilevare un marcato gradiente latitudinale per il numero di cotiledoni (che tende ad aumentare da nord a sud, come osservato in precedenza da altri autori), la differenziazione (evidenziata dal test di Duncan) di un gruppo formato dalle due popolazioni emiliane e da quella di Ceriana per lo stesso carattere, la differenziazione della popolazione di Monte Termine (e di altre) per la lunghezza degli aghi nei semenzali di un anno, e la differenziazione di tutte le provenienze tra loro (escluse le due tedesche, che risultano simili) per la lunghezza degli aghi nei semenzali di due anni. Per verificare

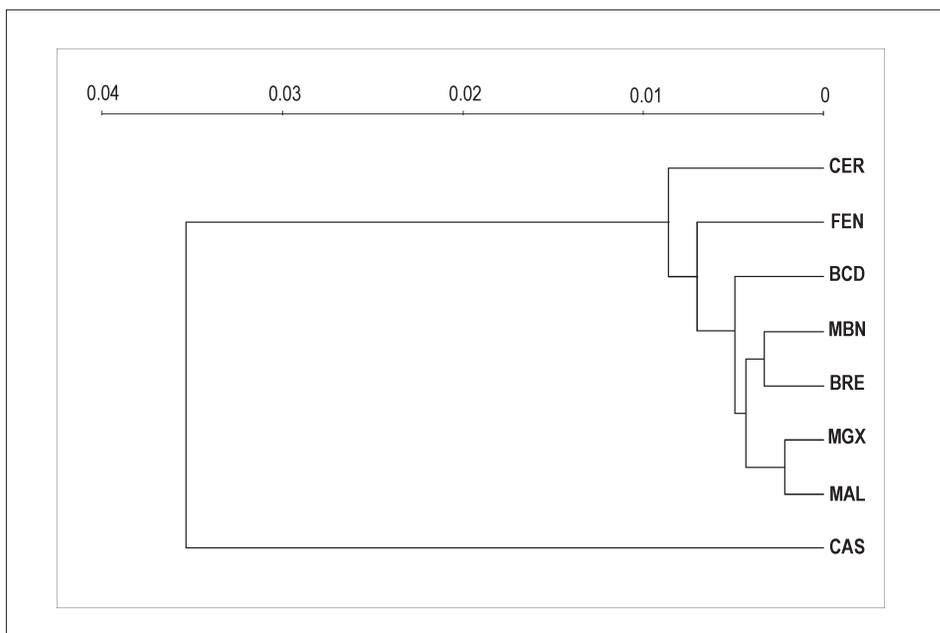


Figura 3 - Dendrogramma costruito sulla base dei valori di distanza genetica di Nei con il metodo UPGMA.

la fondatezza dell'ipotesi suddetta, occorrerebbe un'ulteriore serie di indagini basate su caratteri morfologici, anatomici e fisiologici, oltre che su marcatori biochimici e molecolari, al fine di integrare i risultati ottenuti attraverso diversi approcci metodologici e verificare lo status tassonomico di queste popolazioni relitte.

A sostegno di tale ipotesi, è opportuno considerare anche quanto afferma BERNETTI (1995): «il relitto delle colline di Reggio Emilia è costituito da una popolazione che mantiene un accrescimento modesto anche se coltivata su suoli fertili». Questa osservazione concorda con quella – già citata – di JEDLOWSKI e MINERBI (1967) sul precoce arresto dello sviluppo longitudinale, che caratterizzerebbe le popolazioni emiliane. La letteratura sistematica descrive infatti numerosi casi di differenziazione morfologica delle popolazioni periferiche, e molti autori considerano la «periferia» delle specie una delle più attive regioni di speciazione (LESICA e ALLENDORF, 1995).

La peculiare differenziazione della popolazione appenninica analizzata suggerisce una storia evolutiva alquanto diversa da quella delle popolazioni alpine, che si intreccia con la storia della ricolonizzazione delle Alpi avvenuta nel postglaciale. Tale processo potrebbe aver avuto inizio a partire dalle aree di rifugio situate lungo i bordi o all'interno della catena montuosa, in partico-

lare dai rifugi illirici posti alla sua estremità orientale e, all'estremità opposta, dai rifugi dell'Appennino ligure-emiliano e della piana costiera versiliana, nei pressi dell'attuale Viareggio (GIACOMINI, 1958; JEDLOWSKI e MINERBI, 1967; AGOSTINI, 1972; WATSON, 1996). Infatti, durante le fasi di espansione glaciale, l'Europa mediterranea era la regione più densamente ricoperta di foreste di tutto il continente, ed era caratterizzata dalla presenza di ecosistemi forestali di tipo montano e subalpino in cui predominavano il pino silvestre, il pino mugo (*Pinus mugo* Turra), l'abete bianco (*Abies alba* Mill.), l'abete rosso ed altre specie. Queste formazioni discesero fino al livello del mare lungo le pianure costiere italiane, che assunsero un aspetto simile alle attuali coste svedesi (CHIARUGI, 1950).

Non c'è purtroppo disponibilità di dati sui percorsi seguiti dal pino silvestre per ricolonizzare la catena alpina. Qualora la ricolonizzazione da parte del pino silvestre fosse partita dai rifugi illirici verso occidente, come sostiene la più accreditata teoria sulla diffusione dell'abete rosso nel postglaciale (GIANNINI *et al.*, 1991; MORGANTE e VENDRAMIN, 1991), la marcata differenziazione della popolazione appenninica di Casina rispetto alle popolazioni alpine potrebbe essere dovuta ad una differente origine, oltre che al suo isolamento geografico. GIANNINI *et al.* (1991) e MORGANTE e VENDRAMIN (1991) hanno ipotizzato per l'abete rosso una ricolonizzazione della catena alpina occidentale a partire dai rifugi appenninici settentrionali e versiliani, mentre si suppone che l'abete bianco abbia ricolonizzato l'intera catena alpina partendo dai rifugi dell'Italia centrale (BERGMANN, 1991). Tuttavia, contrariamente a quanto osservato da GIANNINI *et al.* (1991) e da MORGANTE e VENDRAMIN (1991) in popolazioni di abete rosso, i nostri dati non rilevano alcuna particolare somiglianza fra la popolazione appenninica e le popolazioni alpine occidentali di pino silvestre, a sostegno dell'ipotesi che l'elevata differenziazione della prima possa essere attribuita ad un'origine differente; infatti, la popolazione appenninica di abete rosso studiata dai suddetti autori non si differenzia dalle popolazioni alpine in misura paragonabile alla popolazione di pino silvestre di Casina.

SINCLAIR *et al.* (1999) hanno eseguito uno studio sulla variabilità del DNA mitocondriale tra diverse popolazioni europee di pino silvestre, tra le quali anche due italiane: la popolazione appenninica di Casina (la stessa qui analizzata) e quella alpina di Naz-Sciaves (posta nelle vicinanze della popolazione di Bressanone). In entrambe è stato rilevato lo stesso mitotipo – presente anche in alcune popolazioni spagnole, scozzesi e scandinave – che è differente da quello osservato nelle popolazioni centro-europee (Francia, Germania e Polonia). Tuttavia, gli stessi autori riconoscono che questa identità non dimostra l'identità genetica dell'intero DNA mitocondriale, dal momento che la diversità dei mitotipi da loro osservata non può essere considerata rap-

presentativa della sua variabilità totale. Di conseguenza, il risultato da loro ottenuto non è sufficiente a dimostrare che le due popolazioni italiane si siano necessariamente originate dallo stesso rifugio glaciale.

## SUMMARY

### **Genetic variability in Italian populations of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.): managerial and silvicultural aspects – Part I**

Eight populations of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) – seven from the Alps and one from the Apennines, representative of the Italian range of this species – have been subjected to isozyme analysis, by means of starch gel horizontal electrophoresis carried out on six enzyme systems (LAP, GOT, PGM, MDH, GDH, SKDH; 12 loci in total), in order to study their genetic structure. The values of genetic diversity parameters within populations are rather high, while the differentiation between populations is generally low, as observed in most conifers studied to date. Nevertheless, the relict population from the Emilian Apennine distinguishes for its sharp differentiation from the remaining ones, which are essentially similar between them; moreover it shows an intrapopulation genetic diversity which is just slightly lower than in the Alpine populations, despite its isolation. It is a small stand which bear witness to migrations occurred in the inter- and postglacial periods, together with the other native stands scattered in the Ligurian-Emilian Apennine.

## BIBLIOGRAFIA

- AGOSTINI R., 1955 – *Le pinete di pino silvestre in Italia*. In: Atti del Congresso Nazionale di Selvicoltura «Per il miglioramento e la conservazione dei boschi italiani», Firenze, 14-18 marzo 1954. Vol. I: relazioni. Accademia Italiana di Scienze Forestali, Firenze, p. 403-445.
- AGOSTINI R., 1972 – *Significato e lineamenti delle pinete relitte di pino silvestre (Pinus sylvestris L.) dell'Appennino emiliano*. Annali dell'Accademia Italiana di Scienze Forestali, 21: 171-211.
- ANONIMO, 1992 – *Global biodiversity – Status of the earth's living resources*. Chapman & Hall, Londra.
- ANTONAROLI R., BAGNARESI U., FERRARI C., SPERANZA M., 1985 – *Indagine su alcuni caratteri morfologici del pino silvestre (Pinus sylvestris L.) in popolamenti spontanei nell'Appennino emiliano*. Annali dell'Accademia Italiana di Scienze Forestali, 34: 151-160.
- BELLETTI P., GULLACE S., 1999 – *Biodiversità e struttura genetica in popolazioni di pino cembro e pino silvestre dell'arco alpino occidentale*. Sherwood, 5: 11-16.
- BELLETTI P., MONTELEONE I., TERZUOLO P.G., BRENTA P.P., 2002 – *Variabilità genetica e differenziazione tra popolazioni alpine e collinari di pino silvestre in Piemonte*. Monti e Boschi, 53: 25-30.

- BERGMANN F., 1991 – *Causes and consequences of species-specific genetic variation patterns in European forest tree species: examples with Norway spruce and silver fir*. In: «Genetic variation in European populations of forest trees», a cura di G. Müller-Starck, M. Ziehe. Sauerländer's Verlag, Frankfurt am Main, p. 192-204.
- BERNETTI G., 1995 – *Selvicoltura speciale*. UTET, Torino.
- BORATYŃSKI A., 1991 – *Range of natural distribution*. In: «Genetics of Scots pine», a cura di M. Giertych, Cs. Mátyás. Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo, p. 19-30.
- CHIARUGI A., 1950 – *Le epoche glaciali dal punto di vista botanico*. Accademia Nazionale dei Lincei, Problemi Attuali di Scienza e di Cultura, 16: 55-110.
- CROW J.F., KIMURA M., 1970 – *An introduction to population genetic theory*. Harper & Row, New York, Evanston, London.
- FILPPULA S., SZMIDT A.E., SAVOLAINEN O., 1992 – *Genetic comparison between Pinus sylvestris and P. mugo using isozymes and chloroplast DNA*. Nordic Journal of Botany, 12: 381-386.
- FINESCHI S., 1983 – *Variabilità intraspecifica in Pinus nigra Arn. Risultati di analisi su alcuni sistemi isoenzimatici*. L'Italia Forestale e Montana, 38: 200-213.
- GIACOMINI V., 1958 – *La flora*. In: «Conosci l'Italia». Vol. II. Touring Club Italiano, Milano.
- GIANNINI R., MORGANTE M., VENDRAMIN G.G., 1991 – *Allozyme variation in Italian populations of Picea abies (L.) Karst*. Silvae Genetica, 40: 160-166.
- GONCHARENKO G.G., SILIN A.E., PADUTOV V.E., 1994 – *Allozyme variation in natural populations of Eurasian pines. III. Population structure, diversity, differentiation and gene flow in central and isolated populations of Pinus sylvestris L. in Eastern Europe and Siberia*. Silvae Genetica, 43: 119-132.
- GONCHARENKO G.G., SILIN A.E., PADUTOV V.E., 1995 – *Intra- and interspecific genetic differentiation in closely related pines from Pinus subsection Sylvestres (Pinaceae) in the former Soviet Union*. Plant Systematics and Evolution, 194: 39-54.
- GREGORIUS H.-R., 1974 – *Genetischer Abstand zwischen Populationen*. Silvae Genetica, 23: 22-27.
- GREGORIUS H.-R., 1978 – *The concept of genetic diversity and its formal relationship to heterozygosity and genetic distance*. Mathematical Biosciences, 41: 253-271.
- GREGORIUS H.-R., ROBERDS J.H., 1986 – *Measurement of genetical differentiation among subpopulations*. Theoretical and Applied Genetics, 71: 826-834.
- GULLBERG U., YAZDANI R., RUDIN D., 1982 – *Genetic differentiation between adjacent populations of Pinus sylvestris*. Silva Fennica, 16: 205-214.
- GULLBERG U., YAZDANI R., RUDIN D., RYMAN N., 1985 – *Allozyme variation in Scots pine (Pinus sylvestris L.) in Sweden*. Silvae Genetica, 34: 193-201.
- HAMRICK J.L., GODT M.J.W., SHERMAN-BROYLES S.L., 1992 – *Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species*. New Forests, 6: 95-124.
- HEDRICK P.W., SAVOLAINEN O., KÄRKKÄINEN K., 1999 – *Factors influencing the extent of inbreeding depression: an example from Scots pine*. Heredity, 82: 441-450.
- JEDLOWSKI E., MINERBI B., 1967 – *Il pino silvestre in Emilia – Ricerche bioecologiche*

- nelle stazioni di diffusione spontanea*. Istituto per lo Sviluppo Economico dell'Appennino Centro Settentrionale, Bologna.
- KÄRKKÄINEN K., SAVOLAINEN O., 1993 – *The degree of early inbreeding depression determines the selfing rate at the seed stage: model and results from Pinus sylvestris (Scots pine)*. Heredity, 71: 160-166.
- KÄRKKÄINEN K., KOSKI V., SAVOLAINEN O., 1996 – *Geographical variation in the inbreeding depression of Scots pine*. Evolution, 50: 111-119.
- KARVONEN P., SAVOLAINEN O., 1993 – *Variation in inheritance of ribosomal DNA in Pinus sylvestris L. (Scots pine)*. Heredity, 71: 614-622.
- KINLOCH B.B., WESTFALL R.D., FORREST G.I., 1986 – *Caledonian Scots pine: origins and genetic structure*. New Phytologist, 104: 703-729.
- LESICA P., ALLENDORF F.W., 1995 – *When are peripheral populations valuable for conservation?* Conservation Biology, 9: 753-760.
- LUNDKVIST K., ERIKSSON G., NORELL L., EKBERG I., 1987 – *Inbreeding depression in two field trials of young Pinus sylvestris (L.)*. Scandinavian Journal of Forest Research, 2: 281-290.
- MEJNARTOWICZ L., 1979 – *Genetic variation in some isoenzyme loci in Scots pine (Pinus sylvestris L.) populations*. Arboretum Kornickie, 24: 91-104.
- MEJNARTOWICZ L., BERGMANN F., 1985 – *Genetic differentiation among Scots pine populations from the lowlands and the mountains in Poland*. In: «Population genetics in forestry» – Proceedings of the Meeting of the IUFRO Working Party «Ecological and population genetics», Göttingen, August 21-24, 1984, a cura di H.-R. Gregorius. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, p. 253-266.
- MIROV N.T., 1967 – *The genus Pinus*. The Ronald Press Company, New York.
- MOLOTKOV P.I., PATLAJ I.N., 1991 – *Systematic position within the genus Pinus and intraspecific taxonomy*. In: «Genetics of Scots pine», a cura di M. Giertych, Cs. Mátyás. Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo, p. 31-40.
- MORANDINI R., MAGINI E., 1975 – *Il materiale forestale di propagazione in Italia*. Collana Verde no. 34, Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste, Roma.
- MORGANTE M., VENDRAMIN G.G., 1991 – *Genetic variation in Italian populations of Picea abies (L.) Karst. and Pinus leucodermis Ant.* In: «Genetic variation in European populations of forest trees», a cura di G. Müller-Starck, M. Ziehe. Sauerländer's Verlag, Frankfurt am Main, p. 205-227.
- MÜLLER(-STARCK) G., 1977 – *Short note: Cross fertilization in a conifer stand inferred from enzyme gene-markers in seeds*. Silvae Genetica, 26: 223-226.
- MÜLLER-STARCK G., 1979 – *Estimates of self- and cross-fertilization in a Scots pine seed orchard*. In: Proceedings of the «Conference on biochemical genetics of forest trees», a cura di D. Rudin. Swedish University of Agricultural Sciences, Umea, p. 170-179.
- MÜLLER-STARCK G., 1982a – *Sexually asymmetric fertility selection and partial self-fertilization. 2. Clonal gametic contribution to the offspring of a Scots pine seed orchard*. Silva Fennica, 16: 99-106.
- MÜLLER-STARCK G., 1982b – *Reproductive systems in conifer seed orchards. I.*

- Mating probabilities in a seed orchard of Pinus sylvestris L.* *Silvae Genetica*, 31: 188-197.
- MÜLLER-STARCK G., GREGORIUS H.-R., 1986 – *Monitoring genetic variation in forest tree populations*. In: Proceedings of the «18th IUFRO World Congress», Ljubljana, 7-21 Sept. 1986. Division 2, Vol. II, p. 589-599.
- MÜLLER-STARCK G., GREGORIUS H.-R., 1988 – *Analysis of mating systems in forest trees*. In: Proceedings of the «Second international conference on quantitative genetics», a cura di B.S. Weir, E.J. Elsen, M.M. Goodman, G. Namkoong. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, p. 573-594.
- MUONA O., HARJU A., 1989 – *Effective population sizes, genetic variability, and mating system in natural stands and seed orchards of Pinus sylvestris*. *Silvae Genetica*, 38: 221-228.
- MUONA O., YAZDANI R., RUDIN D., 1987 – *Genetic change between life stages in Pinus sylvestris: allozyme variation in seeds and planted seedlings*. *Silvae Genetica*, 36: 39-42.
- NEET-SARQUEDA C., 1994 – *Genetic differentiation of Pinus sylvestris L. and Pinus mugo aggr. populations in Switzerland*. *Silvae Genetica*, 43: 207-215.
- NEI M., 1973 – *Analysis of gene diversity in subdivided populations*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 70: 3321-3323.
- NEI M., 1978 – *Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals*. *Genetics*, 89: 583-590.
- NIKOLIĆ D., TUCIĆ N., 1983 – *Isoenzyme variation within and among populations of European black pine (Pinus nigra Arnold)*. *Silvae Genetica*, 32: 80-89.
- PRAVDIN L.F., 1969 – *Scots pine – Variation, intraspecific taxonomy and selection*. Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem.
- PROVAN J., SORANZO N., WILSON N.J., MCNICOL J.W., FORREST G.I., COTTRELL J., POWELL W., 1998 – *Gene-pool variation in Caledonian and European Scots pine (Pinus sylvestris L.) revealed by chloroplast simple-sequence repeats*. Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences, 265: 1697-1705.
- PRUS-GLOWACKI W., BERNARD E., 1994 – *Allozyme variation in populations of Pinus sylvestris L. from a 1912 provenance trial in Pulawy (Poland)*. *Silvae Genetica*, 43: 132-138.
- PRUS-GLOWACKI W., STEPHAN B.R., 1994 – *Genetic variation of Pinus sylvestris from Spain in relation to other European populations*. *Silvae Genetica*, 43: 7-14.
- PUGLISI S., ATTOLICO M., 2000 – *Allozyme variation in natural populations of the Italian range of Pinus sylvestris L.* *Forest Genetics*, 7: 221-232.
- PUGLISI S., LOVREGGIO R., ATTOLICO M., 1999 – *Subpopulation differentiation along elevational transects within two Italian populations of Scots pine (Pinus sylvestris L.)*. *Forest Genetics*, 6: 247-256.
- RUDIN D., MUONA O., YAZDANI R., 1986 – *Comparison of the mating system of Pinus sylvestris in natural stands and seed orchards*. *Hereditas*, 104: 15-19.
- SAVOLAINEN O., HEDRICK P., 1995 – *Heterozygosity and fitness: no association in Scots pine*. *Genetics*, 140: 755-766.

- SAVOLAINEN O., YAZDANI R., 1991 – *Genetic comparison of natural and artificial populations of Pinus sylvestris*. In: «Genetic variation in European populations of forest trees», a cura di G. Müller-Starck, M. Ziehe. Sauerländer's Verlag, Frankfurt am Main, p. 228-234.
- SCALTSOYIANNES A., ROHR R., PANETSOS K.P., TSAKTSIRA M., 1994 – *Allozyme frequency distributions in five European populations of black pine (Pinus nigra Arnold)*. *Silvae Genetica*, 43: 20-30.
- SINCLAIR W.T., MORMAN J.D., ENNOS R.A., 1999 – *The postglacial history of Scots pine (Pinus sylvestris L.) in western Europe: evidence from mitochondrial DNA variation*. *Molecular Ecology*, 8: 83-88.
- SNEATH P.H.A., SOKAL R.R., 1973 – *Numerical taxonomy*. W.H. Freeman and Co., San Francisco, Calif.
- SNEDECOR G.W., COCHRAN W.G., 1967 – *Statistical methods*. The Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- SWOFFORD D.L., SELANDER R.B., 1989 – *BIOSYS-1 – A computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics*. Illinois Natural History Survey.
- SZMIDT A.E., 1982 – *Genetic variation in isolate populations of stone pine (Pinus cembra)*. *Silva Fennica*, 16: 196-200.
- SZMIDT A.E., WANG X.-R., 1993 – *Molecular systematics and genetic differentiation of Pinus sylvestris (L.) and P. densiflora (Sieb. et Zucc.)*. *Theoretical and Applied Genetics*, 86: 159-165.
- SZMIDT A.E., WANG X.-R., LU M.-Z., 1996 – *Empirical assessment of allozyme and RAPD variation in Pinus sylvestris (L.) using haploid tissue analysis*. *Heredity*, 76: 412-420.
- WANG X.-R., SZMIDT A.E., LINDGREN D., 1991 – *Allozyme differentiation among populations of Pinus sylvestris (L.) from Sweden and China*. *Hereditas*, 114: 219-226.
- WATSON C.S., 1996 – *The vegetational history of the northern Apennines, Italy: information from three new sequences and a review of regional vegetational change*. *Journal of Biogeography*, 23: 805-841.
- WRIGHT S., 1922 – *Coefficients of inbreeding and relationship*. *American Naturalist*, 56: 330-338.
- YAZDANI R., MUONA O., RUDIN D., SZMIDT A.E., 1985 – *Genetic structure of a Pinus sylvestris L. seed-tree stand and naturally regenerated understory*. *Forest Science*, 31: 430-436.
- ZHELEV P., LONGAUER R., PAULE L., GOMORY D., 1994 – *Genetic variation of the indigenous Scots pine (Pinus sylvestris L.) populations from the Rhodopi Mountains*. *Nauka Za Gorata*, 31: 68-76.