

B3 = Identificazione di funghi patogeni opportunisti mediante analisi del genotipo e del fenotipo

P. Angelini¹, A. Rubini², R. Pagiotti¹, R. Venanzoni¹

¹Dip.to di Biologia Applicata, Università degli Studi di Perugia, Borgo XX Giugno 74, 06121 Perugia, Italy;

²CNR, Istituto di Genetica Vegetale, Via della Madonna Alta 130, 06128 Perugia, Italy

Le infezioni sostenute da funghi patogeni opportunisti costituiscono un problema di rilevante e crescente importanza medica, risultando tra le principali cause di morbidità e mortalità negli individui immunocompromessi. Recenti progressi nella biologia molecolare hanno consentito di identificare nuove specie fungine distinte geneticamente che non sono facilmente distinguibili mediante esami morfologici. In questo studio è stato esaminato un metodo per l'identificazione di 28 isolati fungini, rappresentativi di *taxa* clinicamente rilevanti, che prevede l'integrazione di analisi genotipiche e fenotipiche. Per l'analisi molecolare, il DNA genomico è stato isolato da una piccola porzione di colonia (circa 0,1 mg) seguendo il protocollo descritto da Paolocci *et al.* (1). Per tutti i ceppi è stata amplificata tramite Polymerase Chain Reaction (PCR) e sequenziata la regione ITS (4). Per alcuni ceppi (es. *Lecanicillium* e *Penicillium*), a causa della scarso valore diagnostico della regione ITS, si è reso inoltre necessario ricorrere all'amplificazione e sequenziamento dei geni per la Citocromo C ossidasi 1 (CO1), Calmodulina e le subunità 1 e 2 della RNA polimerasi II (RPB1, RPB2) (2, 3). Le sequenze ottenute sono state confrontate con sequenze depositate nel database GenBank tramite analisi Blast e utilizzate per la costruzione di alberi filogenetici. Per l'analisi morfologica, gli isolati fungini sono stati inoculati in piastre Petri contenenti i seguenti substrati colturali: Czapek Yeast Autolysate (CYA) agar, Czapek-Dox (Cz) agar, Blakeslee Malt Extract Autolysate (ME) agar e Yeast Extract Sucrose (Yes) agar a 25, 30 e 37°C per 7 giorni. Tutti gli isolati fungini sono stati esaminati con un microscopio a contrasto di interferenza differenziale. I risultati dell'identificazione molecolare, integrati con i risultati dell'analisi fenotipica, hanno portato all'identificazione delle seguenti specie: *Aspergillus calidoustus* Varga, Houbraken, and Samson (*Eurotiales*; *Trichocomaceae*), *A. tubingensis* (Schober) Mosseray (*Eurotiales*; *Trichocomaceae*), *Beauveria bassana* (Balsamo) Vuillemin (*Hypocreales*; *Cordycipitaceae*), *Lecanicillium aranearum* (Petch) Zare & W. Gams (*Hypocreales*; *Clavicipitaceae*) e *Penicillium aethiopicum* Frisvad (*Eurotiales*; *Trichocomaceae*). L'integrazione di analisi molecolari con i tradizionali metodi fenotipici per l'identificazione di funghi filamentosi clinicamente importanti incrementa in modo molto significativo la specificità e diminuisce i tempi di attesa. Le specie fungine identificate possono essere definite come patogene opportuniste di ospiti immunocompressi in quanto *Aspergillus tubingensis*, *A. calidoustus* e *Beauveria bassana* non sono comunemente segnalate come patogene fungine, mentre *Penicillium aethiopicum* e *Lecanicillium aranearum* sono state segnalate per la prima volta come tali.

1) F. Paolocci, A. Rubini, B. Granetti, S. Arcioni (1999) FEMS Microbiol. Ecol., 28: 23-30.

2) K.A. Seifert, R.A. Samson, J.R. deWaard, J. Houbraken, C.A. Lévesque, J.M. Moncalvo, G. Louis-Seize, P.D.N. Herbert (2007) PNAS, 104: 3901-3906.

3) L. Wang, W. Zhuang (2007) Bio Systems, 88: 113-126.

4) T.J. White, T.D. Bruns, S. Lee, J.W. Taylor (1990) in: Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J., White T.J. (eds.), PCR - Protocols and Applications - A Laboratory Manual, San Diego, CA, USA Academic Press, 315-322.

B3 = Variabilità genetica in tre specie del genere *Cyanus* (*Centaureinae*, *Asteraceae*) della Bulgaria

S. Bancheva, A. Geraci, F.M. Raimondo

Dip.to di Scienze Botaniche dell'Università, via Archirafi 28, 90123 Palermo

Il genere *Cyanus* Mill. comprende 29 specie di cui 17 appartengono alla flora bulgara (1). Il suo centro d'origine e diversificazione comprende Turchia, Sud-Est Europa (incl. Bulgaria) e Caucaso (2). A causa della elevata variabilità morfologica che si riscontra, risulta talvolta molto complesso determinare i limiti fra le diverse specie e definire i rapporti filogenetici che intercorrono tra esse. Gli studi finora condotti sul genere *Cyanus* hanno riguardato i caratteri macro- e micromorfologici, cariologici, palinologici ed ecologici (3, 4, 5). Esistono pochi dati sui caratteri genetici (6).

Nel presente contributo vengono riportati i dati preliminari sulla variabilità genetica di specie del genere *Cyanus* ottenuti mediante l'analisi del polimorfismo isoenzimatico. Sono state investigate 7 popolazioni relative a *C. diospolitanius* Bancheva & S. Stoyanov, *C. pichleri* (Boiss.) Holub e *C. thirkei* (Sch. Bip.) Holub della flora bulgara. Queste tre specie hanno distribuzione limitata e le prime due sono incluse nella nuova edizione del "Libro rosso della Bulgaria", rispettivamente come CR ed EN (secondo i criteri IUCN - 7).

Sono stati identificati 29 alleli relativi a 8 loci di 5 sistemi enzimatici (IDH, MDH, 6-PGD, PGI, PGM), 9 dei quali esclusivi di singole popolazioni. Il numero medio di alleli per locus (A) oscilla tra 1.3 e 2.5. Il maggiore polimorfismo (P=62.5%), è stato rilevato in *C. diospolitanius* e *C. pichleri* (di "Ostriya zavoi" e "Kamilski dol") mentre il minore (P=25%) in *C. pichleri* (di "Ivailovgrad dam") e *C. thirkei* (di "Knyazhevo"). L'eterozigosità attesa (He), che è una misura della diversità intrapopolazionale, manifesta il valore più elevato nella popolazione di *C. diospolitanius* (He 0.413), mentre è molto ridotto nella popolazione di *C. pichleri* di "Ivailovgrad dam", la quale potrebbe avere un'origine clonale.

Il dendrogramma ottenuto evidenzia un'elevata distanza fra *C. diospolitanius* - una specie endemica recentemente descritta (8) - e tutte le altre popolazioni esaminate. Due delle popolazioni di *C. thirkei* mostrano tra loro un'elevata affinità, mentre la terza, localizzata in un territorio distante dalle altre, è risultata abbastanza distinta. La popolazione di *C. pichleri* di "Kamilski dol" mostra una certa affinità con le popolazioni di *C. thirkei* facendo ipotizzare una sua probabile origine ibridogena. Ulteriori studi sono in corso su altre popolazioni di specie del genere *Cyanus* al fine di comprenderne la struttura genetica e i meccanismi di evoluzione.

1) W. Greuter (2008) Med-Checklist. A critical inventory of vascular plants of the circum-mediterranean countries, 2. Dicotyledones (Compositae). Palermo, Genève & Berlin [cclxxxvii + 798 pp.]

2) H. Meusel, E. Jäger (eds.) (1992) T. 3. New York: Gustav Fischer Verlag Jena.

3) B. Steffanov, T. Georgiev (1931) Docladi BAN (in Bulgarian), 44: 133-193.

4) S. Bancheva, F.M. Raimondo (2003) *Bocconea*, 16(2): 507-527.

5) K. Uzunova, S. Bancheva, F.M. Raimondo (2007) *Bocconea*, 21: 249-256.

6) S. Bancheva, J. Greilhuber (2006) *Plant Syst. Evol.*, 257: 95-117.

7) D. Peev (Ed.) (2009) *Red Data Book of Bulgaria*. I. Plants. Sofia.

8) S. Bancheva, S. Stoyanov (2009) *Novon* 19(4).

B3 = Barriere riproduttive tra *Serapias vomeracea* e *S. cordigera*

F. Bellusci, G. Pellegrino, A.M. Palermo, A. Musacchio

Dip.to di Ecologia, Università della Calabria, Arcavacata di Rende (CS)

Le piante preservano la propria integrità attraverso meccanismi di pre-impollinazione (barriere temporali, ecologiche, etologiche) o post-impollinazione, divise a loro volta in pre-zigotiche (germinazione del polline) o post zigotiche (sviluppo dell'embrione, vitalità dei semi, sterilità dell'ibrido) (1). La conoscenza della struttura genetica di popolazioni simpatriche è fondamentale per valutare la natura e la forza della barriera riproduttiva e i livelli di flusso genico tra le specie, e per inferire sui meccanismi responsabili della loro diversificazione. Si ritiene ormai che la straordinaria diversità florale delle orchidee sia dovuta alla pressione selettiva degli impollinatori ed in particolare alla loro impollinazione specie-specifica. Molti studi quindi hanno enfatizzato il ruolo delle barriere pre-impollinazione (etologiche) trascurando l'importanza di quelle post-impollinazione. Tra le orchidee del Mediterraneo quelle appartenenti al genere *Serapias* esibiscono una strategia di impollinazione generalista e vivono spesso in simpatia. L'intento del nostro lavoro era quello di indagare la natura delle barriere riproduttive ed il flusso genico in una popolazione simpatica di *S. vomeracea* e *S. cordigera*. Abbiamo pianificato un approccio integrato tra esperimenti di impollinazione manuale, al fine di valutare la natura delle barriere post-impollinazione, e di analisi molecolare (AFLP e sequenziamento dell'introne del gene *LEAFY*), per definire la struttura genica della popolazione (2). La formazione di frutti e la vitalità dei semi degli incroci interspecifici hanno evidenziato la scarsa barriera post-impollinazione, mentre l'eterozigosità del *LEAFY* di alcuni individui con caratteristiche morfologiche intermedie ha evidenziato la possibilità di eventi di ibridazione tra le due specie. Questi individui potrebbero essere ibridi di prima generazione e/o generazioni successive, ma l'analisi AFLP ci spinge a ritenerli dei reincroci con una delle due specie parentali. In aggiunta, alcuni individui ritenuti morfologicamente appartenenti ad una o all'altra specie sono più correttamente da attribuire ad introgressioni, suggerendo che le due specie simpatriche sono soggette ad un esteso flusso genico. La mancanza di forti barriere post-zigotiche e l'elevata percentuale di germinabilità dei semi evidenziano che le due specie sono geneticamente compatibili e che la rarità del ritrovamento di ibridi di prima generazione sia legata all'esistenza di insospettite barriere pre-impollinazione. Questo scenario è in apparente contrasto con l'opinione generale che ritiene l'impollinazione di *Serapias* di tipo generalista, spingendoci a riconsiderare la natura delle barriere tra le specie. In aggiunta, la struttura genetica della popolazione da noi esaminata mostra molte analogie con quella di una zona di contatto tra *Ophrys iricolor* e *O. lupercalis* in Sardegna (3), suggerendo che in *Serapias*, come già appurato per *Ophrys*, l'integrità della specie sia garantita da meccanismi strettamente legati alla strategia d'impollinazione. E' possibile ipotizzare che, ad esempio, la composizione degli odori emessi dalle specie del genere *Serapias*, per altro molto simile a quella emessa dai rappresentanti del genere *Ophrys* (4), possa giocare un ruolo fondamentale nell'attrarre impollinatori differenti e quindi creare una forte barriera riproduttiva.

1) J. Ramsey, H.D. Bradshaw, D.W. Schemske (2003) *Evolution*, 57: 1520-1534.

2) A.W. Carrie, D.R. Campbell (2005) *Mol. Ecol.*, 14: 781-792.

3) J. Stökl, P.M. Schlüter, T. Stuessy, F. Hannes, G.A. Paulus, M. Ayasse (2008) *Am. J. Bot.*, 95: 472-481.

4) F.P. Schiestl, S. Cozzolino (2008) *BMC Evol. Biol.*, 8: 27.



B3 = Distribuzione della diversità genetica in popolazioni di *Rhododendron ferrugineum* L. delle Alpi e dell'Appennino settentrionale e strategie di conservazione

I. Bruni¹, F. De Mattia², C. Ferrari¹, M. Corazza¹, F. Grassi³, M. Labra²

¹Dip.to di Biologia evolutivistica sperimentale, Università degli Studi di Bologna, via Irnerio 42, 40126, Bologna; ²ZooPlantLab, Dip.to di Biotecnologie e Bioscienze, Università di Milano Bicocca, p.zza della Scienza 1, 20126 Milano; ³Dip.to di Biologia, Università degli Studi di Milano, Via Celoria 26, 20130 Milano

Rhododendron ferrugineum L. è una specie con ampia distribuzione, dai Carpazi alle Alpi e ai Pirenei. Alcune popolazioni sono inoltre presenti sull'Appennino settentrionale. Questa specie predilige condizioni climatiche moderatamente continentali, non tollera escursioni termiche estreme e richiede nel periodo invernale una copertura nevosa di durata e altezza adeguate per la protezione delle gemme. Le popolazioni alpine sono numerose e ben rappresentate, mentre quelle appenniniche sono limitate a poche aree, per lo più rappresentate da pochi individui per popolazione. Al fine di valutare l'importanza di queste popolazioni nell'ambito della diversità infraspecifica di *Rhododendron ferrugineum* e consentire la migliore strategia di conservazione, è cruciale conoscere la distribuzione della variabilità genetica nel loro ambito. Questo studio si rende necessario alla luce di due importanti fenomeni: gli effetti dei cambiamenti climatici sulla copertura nevosa e gli eventi di ibridazione e introgressione. E' infatti noto che, in ambito alpino, *R. ferrugineum* può incrociarsi con la specie *R. hirsutum* L. e formare la specie ibrida *R. x intermedium* Tausch. Attraverso lo sviluppo di marcatori microsatellite è stato possibile valutare la struttura genetica delle popolazioni di *R. ferrugineum* delle Alpi e dell'Appennino settentrionale ed il flusso genico tra le diverse stazioni. Sono state evidenziate popolazioni a rischio (elevato inbreeding, erosione genetica) e valutati gli eventi di ibridazione. I dati ottenuti saranno utilizzati per pianificare interventi di conservazione *in situ* ed *ex situ*.

B3 = Studio della variabilità molecolare in *Crocus suaveolens* e *C. imperati* (Iridaceae), due specie endemiche dell'Italia centro-meridionale

F. Carucci¹, E. Del Guacchio², P. Caputo¹

¹Dip.to delle Scienze Biologiche, sez. Biologia Vegetale, Università di Napoli "Federico II", Via Foria 223, 80139 Napoli, Italia; ²Bagnoli Futura Napoli, Italia

Crocus suaveolens Bertol. e *C. imperati* Ten. (Iridaceae) sono due specie endemiche dell'Italia centro-meridionale molto simili e con areale contiguo; per questa ragione sono state spesso confuse ed inquadrare in modo diverso dai vari autori nel corso degli anni.

Mediante l'uso di marcatori ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) è stato intrapreso uno studio della variabilità molecolare delle due specie. Dei 28 primer impiegati, sei hanno prodotto profili di amplificazione polimorfici, uno ha prodotto un profilo monomorfo ed i restanti 21 hanno mostrato prodotti non confrontabili; per nessuno dei primer testati sono stati individuati profili specie-specifici.

I frammenti, codificati in una matrice binaria per presenza/assenza contenente dati provenienti da quattro popolazioni per ciascuna specie (12 campioni per popolazione), sono stati analizzati con differenti software al fine di valutare i livelli di significatività delle differenze riscontrate tra le due specie e fra popolazioni della stessa specie.

Si è osservato che la percentuale di loci polimorfici è elevata all'interno delle singole popolazioni (40,56% in media). La popolazione meno polimorfica è quella di Castiglione de' Genovesi (Salerno), mentre quella maggiormente polimorfica è quella di Santa Maria del Castello (Napoli), entrambe appartenenti a *C. imperati*. Tuttavia, nel loro complesso, le popolazioni sono comparabili in termini di variabilità e le medie dei loci polimorfici nelle due specie non differiscono in modo statisticamente significativo al T-test ($p=0,414$). In termini di diversità genetica, il valore minore è quello di Roccamonfina (Caserta), mentre la popolazione a diversità genetica più alta è quella di Supino (Frosinone), entrambe appartenenti a *C. suaveolens*.

La matrice è stata anche sottoposta ad analisi molecolare della varianza (AMOVA)(1). La percentuale della varianza più elevata è quella spiegata dalla variabilità all'interno delle popolazioni (circa il 95%), mentre la variabilità tra le popolazioni giustifica circa il 5% della varianza; infine, la varianza tra specie è trascurabile rispetto alla varianza complessiva. La variabilità riscontrata con gli ISSR è molto elevata e ben al di là di quanto ci si sarebbe potuti attendere.

Riferendoci ora alle singole specie, anche la variabilità riscontrata all'interno delle popolazioni è molto maggiore di quella tra le popolazioni. Ciò indica, come peraltro il basso G_{ST} tra le popolazioni delle singole specie, che la differenziazione genetica è bassa o, al massimo, moderata (circa un 10% di "depressione della variabilità" rispetto a popolazioni panmitiche).

In conclusione, il complesso dei dati ottenuti indica che il flusso genico tra le due specie, nonostante i due areali contigui ma non sovrapposti, è elevato o si è appena interrotto. In effetti non esistono estese ed imponenti barriere geografiche tra le varie popolazioni; le due entità non sono ancora marcatamente differenziate e, con le tecniche impiegate, non è possibile affermare che dal punto di vista molecolare esse siano due gruppi distinti.

1) L. Excoffier, P. E. Smouse, J. M. Quattro (1992) *Genetics*, 131: 479-491.



B3 = Caratterizzazione di *Ipomoea imperati* (Vahl) Griseb. nel bacino del Mediterraneo mediante l'uso di marcatori molecolari

P. Cennamo¹, L. Paino², O. De Castro², M. Vázquez-Torres³, P. De Luca²

¹Facoltà di Lettere, Università degli Studi "Suor Orsola Benincasa", Via S. Caterina da Siena 37, 80135 Napoli, Italia; ²Dip.to delle Scienze Biologiche, Sez. Biologia Vegetale, Università di Napoli "Federico II", Via Foria 223, 80139 Napoli, Italia; ³Instituto de Investigaciones Biológicas, Universidad Veracruzana. Av. Dr. Luis Castelazo s/n Col. Industrial Animas, Xalapa-91190, Veracruz, Mexico
pcennamo@unina.it

Ipomoea L. è un genere della famiglia delle *Convolvulaceae*, originaria dei paesi tropicali asiatici e americani, comprendente circa 600 specie note col nome vernacolo di campanelle (1). In Italia, il genere è poco rappresentato essendo presenti allo stato spontaneo *I. purpurea* (L.) Roth, *I. sagittata* Poir. ed *I. imperati* (Vahl) Griseb.

Ipomea imperati è una pianta erbacea carnosa, glabra e laticifera; il fusto è strisciante, spesso radicante ai nodi; le foglie, lunghe 1-4 cm, si presentano cuoriformi alla base e arrotondate all'apice; i fiori sono portati su peduncoli di 2-5 cm e hanno corolla candida, gialla al centro; i frutti (capsule) sono glabri e contengono 2-3 semi lianosi (2).

Il clima ideale per lo sviluppo di *I. imperati* è quello subtropicale, mentre il suo habitat tipico è rappresentato da spiagge e dune marittime, in quanto spiccata è la sua tollerabilità a siccità, salinità e temperature elevate. In Europa è stata segnalata sulle spiagge dell'isola d'Ischia e di Bagnoli dove è stata descritta per la prima volta dal medico naturalista napoletano Ferrante Imperato (3). A causa dell'eccessiva antropizzazione, che corrisponde a: (I) presenza di stabilimenti industriali e balneari; (II) operazioni di pulizia che vengono effettuate sugli arenili, *I. imperati* si è estinta in entrambe le località. Scomparsa dall'Europa continentale, la si ritrova oggi sulle coste dell'Africa settentrionale (Libia, Egitto e Marocco), anche se è stata recentemente segnalata presso la foce del fiume San Leonardo (Siracusa) (4).

Al fine di comprendere i rapporti evolutivi e filogeografici di *I. imperati*, un'analisi molecolare è stata condotta su un campionamento esaustivo di questa specie nel bacino del Mediterraneo. I marcatori molecolari scelti per questa analisi sono stati di tipo nucleare (spaziatori interni trascritti dei geni ribosomali, ITS) e plastidiale (introne del gene della leucina transfer trnL(UAA)). Sono stati campionati ed analizzati individui provenienti dal Marocco, dall'Egitto, dall'Italia e, in aggiunta, per rendere l'analisi più esaustiva, sono stati analizzati anche campioni provenienti dal centro America (Messico e Nord Carolina).

Dai primi risultati ottenuti si evince chiaramente che *I. imperati* presenta dei raggruppamenti di natura geografica; infatti le entità americane e messicane formano un raggruppamento a sé stante, mentre le entità mediterranee si distribuiscono in due sottogruppi, uno formato dalle piante provenienti dal Marocco e dall'Italia e un altro dalle piante dell'Egitto.

Per fornire ulteriori informazioni sui rapporti evolutivi della specie sono in atto ulteriori studi che prevedono di ampliare il numero delle entità avvalendosi anche di campioni d'erbario delle popolazioni ormai estinte ed utilizzando altri marcatori molecolari.

1) D. F. Austin, Z. Huàman (1996) *Taxon*, 29: 501-502.

2) S. Pignatti (1982) *Flora d'Italia*, 2: 390-391 Edagricole, Bologna.

3) V. La Valva, S. Sabato (1983) *Taxon*, 32: 110-114.

4) T. Currisi (1994) Erbario personale.

B3 = Contributo alla caratterizzazione morfoanatomica e micromorfologica fogliare delle Orchidacee siciliane: *Limodorum abortivum* e *Neottia nidus-avis*

P. Colombo, S.A. Giardina, R. Perrone

Università degli Studi di Palermo, Dip.to di Scienze Botaniche, Via Archirafi 28, 90123 Palermo

Limodorum abortivum (L.) Sw. e *Neottia nidus-avis* (L.) Rich. sono tra le poche Orchidacee europee prive di foglie verdi. *L. abortivum* è alta 20-80 cm, con scapo eretto da bruno violaceo a violaceo, con foglie ridotte a piccole squame guainanti; infiorescenza allungata a spiga rada; fiori grandi e vistosi; sepalò dorsale abbattuto sul ginostemio e labello con margini rialzati e venature viola; vegeta in garighe, macchie e boschi (principalmente sughereti e lecceti) sino a 1700 m s.l.m. (1). È una specie mediterraneo-atlantica che si spinge verso Nord fino all'Europa centrale e ad Est fino all'Iran e al Caucaso (2). Gli impollinatori sono api solitarie del genere *Anthophora* (*A. dispar* e *A. biciliata*) (3); sono stati osservati anche casi di cleistogamia (2). *N. nidus-avis* è alta 15-50 cm, interamente giallo-brunastra; foglie in scaglie inguainanti lo scapo; fiori numerosi riuniti in spiga densa; labello diviso all'apice in due lobi divaricati. Fiorisce da metà maggio a luglio. Ha come habitat boschi ombrosi di latifoglie (faggeti e querceti) con ricco strato di humus, da 800 m s.l.m. alle massime altitudini (1). È specie euroasiatica e si spinge ad Est fino al Giappone (2). Gli impollinatori sono ditteri e formiche (3); in condizioni sfavorevoli la pianta può fiorire e fruttificare sottoterra (2). In Italia sono entrambe presenti in tutte le regioni (4). In Sicilia *L. abortivum* è distribuita irregolarmente con maggior frequenza nella fascia montana, mentre *N. nidus-avis*, più localizzata e rara, è limitata a Madonie, Nebrodi ed Etna (1). È stato effettuato un confronto micromorfologico di entrambe le superfici fogliari, che risultano ipostomatiche, con cellule grandi ed isodiametriche e poco ornamentate in *N. nidus-avis*, allungate, maggiormente ornamentate e papillose con umbone centrale in *L. abortivum*. Le foglie dei due *taxa* sono dorsoventrali, più spesse, in corrispondenza della nervatura mediana in *L. abortivum* (633µm), più sottili in *N. nidus-avis* (402µm); l'asse infiorescenziale risulta più grande, più regolare e con parenchima clorofilliano molto più sviluppato in *L. abortivum*, più sottile e con guaina sclerenchimatosa in *N. nidus-avis*. La radice è costituita da parenchima corticale di riserva molto consistente in entrambe le specie, con cellule piccole in *L. abortivum* e molto grandi in *N. nidus-avis*; il cilindro centrale è piccolo in entrambe le orchidacee, con numerose arche in *L. abortivum*, poche in *N. nidus-avis*. In entrambe le specie la corteccia risulta colonizzata da una notevole quantità di ife spiralizzate all'interno di tutte le cellule corticali, ma in *N. nidus-avis* la simbiosi è davvero imponente e vistosa. Ulteriori informazioni sono state ricavate inoltre dallo studio dell'architettura fogliare (5, 6) e del pattern xilematico (7) che fornisce anche interessanti informazioni sull'ecologia delle specie oggetto di studio.

1) A. Falci, S.A. Giardina (2004) Paruzzo Editore, Caltanissetta.

2) P. Delforge (2005) Delachaux et Niestlé, Paris.

3) N.A. Van Der Cingel (1995) A.A. Balkema Publishers, Rotterdam.

4) W. Rossi (2002) Quad. Cons. Natura, 15, Min. Ambiente. Ist. Naz. Fauna Selvatica.

5) K. Esau (1965) John Wiley & Sons, Inc. New York.

6) C. Fuchs (1963) Stain technology, 38: 141-144.

7) Leo J. Hickey et al. (1999) "Manual of Leaf Architecture – morphological description and categorization of dicotyledonous and net-veined monocotyledonous angiosperms Smithsonian Institution". Washington.

B3 = Contributi allo studio morfoanatomico e micromorfologico fogliare di elementi espressivi della flora siciliana: *Lomelosia crenata* (Dipsacaceae) e *Onosma canescens* (Boraginaceae)

P. Colombo, V. Iardi, F. Lentini, R. Perrone

Università di Palermo, Dip.to di Scienze Botaniche, Via Archirafi 28, 90123 Palermo

Nell'ambito di ricerche condotte sulla morfoanatomia di *taxa* rappresentativi della flora siciliana, sono stati studiati *Lomelosia crenata* (Cirillo) Greuter & Burdet e *Onosma canescens* C. Presl, rispettivamente delle famiglie *Scabiosaceae* e *Boraginaceae*.

Lomelosia Raf., in Sicilia, risulta rappresentato da specie di rilevante interesse fitogeografico quali *L. cretica* (L.), *L. argentea* (Jacq.) Greuter & Burdet, *L. divaricata* (L.) Greuter & Burdet e *L. crenata* (Cirillo) Greuter & Burdet (1). In particolare, il gruppo di *L. crenata* consta di 5 specie ad habitus frutescente, tre delle quali - distribuite nel Mediterraneo meridionale - presentano areali di limitata estensione. *L. crenata*, specie orofila, è abbastanza frequente sui rilievi calcarei e calcareo-dolomitici della Sicilia settentrionale. Il materiale delle popolazioni analizzate proviene dalle pendici settentrionali di Monte Pizzuta (Palermo). *Onosma* L. comprende specie erbacee, a ciclo annuo o polienne, distribuite tra il Mediterraneo e l'Asia centrale. In Sicilia, il genere è rappresentato esclusivamente da *O. canescens* C. Presl (1), distinta all'interno dell'aggr. *Onosma echioides* (2) sulla base del numero e dell'architettura delle astrossetole, oltre che per la forma delle foglie lineari a base ottusa, delle brattee lineari-lanceolate, dei fiori eretti e dei semi tuberculati. La specie si rinviene generalmente in stazioni rupestri, semirupestri e su sfaticci di origine carbonatica limitatamente ai Monti di Palermo, delle Madonie, di Rocca Busambra e, infine, in una isolata stazione eterotopica in territorio di Milena (Caltanissetta) su substrato di natura gessosa.

Sono state condotte osservazioni al SEM di entrambe le superfici fogliari di *L. crenata*; esse risultano pennatosette, anfistomatiche e fortemente tomentose (3, 4). I peli sono unicellulari, generalmente silicei, presenti sulle epidermidi e sul margine fogliare e, soprattutto, lungo la nervatura mediana; presentano un piede multicellulare ed un corpo fortemente scarioso ed appuntito. Gli stomi sono anisocitici, con cellule di guardia poco ornamentate; il che contrasta con le cellule compagne che invece lo sono fortemente.

Anche per *Onosma canescens* sono state effettuate osservazioni micromorfologiche al SEM di entrambe le superfici fogliari; queste sono lineari, lineari-lanceolate o spatolate. Per questo taxon non è stato possibile praticare repliche fogliari, poiché le foglie sono abbondantemente tomentose per la presenza di tubercoli di peli costituiti da un corpo basale portante un gran numero di astrossetole al cui interno si eleva una setola centrale fortemente scariosa e ripiegata verso la parte apicale della foglia. Gli stomi sono presenti su entrambe le superfici adassiale ed abassiale delle foglie, e sono anomocitici, talora anche anisocitici (3, 4). Osservazioni anatomiche hanno evidenziato una struttura fogliare isobilaterale con una leggera tendenza alla dorsoventralità. Di entrambe le specie è stata studiata anche l'architettura fogliare, che evidenzia, con la tecnica di Fuchs (5), l'andamento del pattern xilematico, indice di adattamento all'ambiente delle specie.

1) G. Giardina, F.M. Raimondo, V. Spadaro (2007) *Boccone* (2007), 20.

2) W. Greuter, H. M. Burdet, G. Long (1984) *Med Check-list 1*, Conserv. et Jard. Botan., Genève.

3) L. Watson, M.J. Dallwitz (1992 onwards), *The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval*. Version: 17th June 2009, <http://delta-intkey.com>

4) C.R. Metcalfe, L. Chalk (1957) *Anatomy of the dicotyledons 1*, Oxford at the Clarendon Press.

5) C. Fuchs (1963) *Stain Technology*, 38: 141-144.

B3 = Contributo allo studio morfoanatomico e micromorfologico fogliare di elementi espressivi della Flora siciliana: *Periploca laevigata* subsp. *angustifolia* (Asclepiadaceae) e *Cymbalaria pubescens* (Scrophulariaceae)

P. Colombo, V. Ilardi, R. Perrone

Università degli Studi di Palermo, Dip.to di Scienze Botaniche, Via Archirafi 28, 90123 Palermo

Nell'ambito di un progetto di ricerca sostenuto con fondi di Ateneo, è stato affrontato lo studio morfoanatomico e micromorfologico di *Periploca laevigata* subsp. *angustifolia* (Labill.) Markgraf e *Cymbalaria pubescens* (C.Presl) Cufod.

P. angustifolia è una specie dell'elemento S-Medit.-Macaronesico; viene distinta, sulla base della forma delle foglie, una subsp. *laevigata*, endemica delle Canarie e del Marocco, ed una subsp. *angustifolia*, presente nel S-Mediterraneo, all'interno della quale vanno collocate le popolazioni siciliane, uniche in Italia. La specie si rinviene nelle isole del canale di Sicilia (Egadi e Pelagie) dove improntano aspetti di macchia termo-xerofila all'interno di ambiti bioclimatici riferibili all'inframediterraneo, su substrati rocciosi di natura calcarea, dolomitica, vulcanica e calcarenitica.

Il genere *Cymbalaria* Hill è composto da specie erbacee a ciclo perenne, prive di peli ghiandolari; nonostante siano state prodotte diverse revisioni critiche delle *Antirrhineae*, il genere *Cymbalaria* viene sempre considerato autonomo (2), anche se alcuni autori tendono a riportarlo all'interno del genere *Linaria*, per la presenza dello sperone alla base del labbro inferiore del fiore. Recenti studi su base molecolare propendono per l'indipendenza del genere *Cymbalaria* (3). La tassonomia del genere viene complicata dalla mancanza di caratteri vegetativi che possano permettere di differenziare con chiarezza i diversi taxa; fiori, frutti e semi sono gli organi che apportano i caratteri più utili per la differenziazione tassonomica. In Sicilia, il genere risulta rappresentato da due specie, *C. muralis* diventata cosmopolita e *C. pubescens*, specie endemica esclusiva della Sicilia (1), dove si rinviene con una certa frequenza sui versanti più freschi dei rilievi di natura carbonatica. Su queste interessanti endemiche sono state effettuate sezioni anatomiche seriali di 15-20 µm (4, 7) di tutto l'apparato epigeo ed ipogeo da cui sono stati ricavati i PMF (Parametri Morfologici Fogliari), mentre da osservazioni micromorfologiche sulle epidermidi fogliari sono stati ricavati i PEF (Parametri Epidermici Fogliari), l'indice stomatico e la particolare morfologia cuticolare anche con l'ausilio del SEM, che ha permesso l'osservazione dei micro caratteri. Sono state anche chiarificate e macerate le foglie con la metodica di Fuchs (5), per evidenziare l'andamento del pattern xilematico e la composizione delle tracheidi terminali all'interno delle areole, caratteri che sono espressione dell'adattamento delle specie ai fattori limitanti del clima mediterraneo. La terminologia anatomica adoperata è stata quella di Esau (6).

1) G. Giardina, F.M. Raimondo, V. Spadaro (2007) *Boccone*, 20: 273, 331.

2) Cufodontis G. (1947) *Bot. Not.* 135-136

3) Vargas et al. (2004) in *Pl. Syst. Evol.*, 249: 151-172.

4) L. Watson, M.J. Dallwitz (2001) "The Families of Flowering Plants" pp. 324-325; 2324-2341.

5) C. Fuchs (1963) *Stain technology*, 38: 141-144.

6) K. Esau (1965) John Wiley & Sons, Inc. New York.

7) C.R. Metcalfe, L. Chalk (1957) "Anatomy of the dicotyledons" 1. Oxford at the Clarendon Press.

B3 = Studio morfoanatomico delle specie siciliane di *Ptilostemon* (*Asteraceae*)

P. Colombo, V. Spadaro, F.M. Raimondo

Università di Palermo, Dip.to di Scienze Botaniche, Via Archirafi 28, 90123 Palermo

Ptilostemon Cass. (*Asteraceae*), riunisce 16 specie distribuite nel bacino del Mediterraneo (1). In Sicilia, il genere è rappresentato da *P. greuteri* Raimondo & Domina, *P. niveus* (C. Presl) Greuter e *P. stellatus* (L.) Greuter (2), endemici e corrispondenti rispettivamente alle forme nanofaerofita, emicriptofita e terofita. In questo contributo, vengono presentati i risultati di uno studio morfoanatomico rivolto alla loro ulteriore caratterizzazione ecologica e a rivelarne gli adattamenti conseguenti. Lo studio è stato condotto adottando varie metodologie: anatomiche, micromorfologiche ed architetture. Dati sulla fine struttura delle ornamentazioni cuticolari delle foglie sono stati ottenuti al SEM. Allo stesso modo, sono state effettuate osservazioni sui granuli pollinici. Il materiale di studio proviene dalle Madonie per quanto riguarda sia *P. niveus* che *P. stellatus*; dall'unica stazione sinora nota (Castellammare del Golfo) per *P. greuteri* (3). In quest'ultimo, la foglia si presenta dorsoventrale, ipostomatica, con stomi anomocitici in numero di $171 \times \text{mm}^2$; la superficie adassiale consta di un'epidermide poco ornamentata, tomentosa, con 38 peli a frusta $\times \text{mm}^2$; le cellule sono isodiametriche in numero di $640 \times \text{mm}^2$, lunghe 64 e larghe $38 \mu\text{m}$; la superficie abassiale con cellule meno numerose ($400 \times \text{mm}^2$), più piccole $40 \times 27 \mu\text{m}$, e con un numero di peli a frusta infinitamente maggiore (circa $300 \times \text{mm}^2$), tanto da presentarsi come una coltre uniforme bianco-grigiastra. Il picciolo fogliare, in sezione trasversale, si presenta a V aperta, provvisto di una serie di fasci vascolari disposti ad arco, con il maggiore al centro e tre fasci minori per ciascun lato. *P. niveus* si presenta con superfici fogliari molto ridotte, essendo pennate e con spine auree acute molto pungenti che riducono notevolmente la superficie esposta; il lembo fogliare è sempre dorsoventrale ma anfistomatico, con stomi anomocitici più densi sulla superficie adassiale ($69 \times \text{mm}^2$), più radi in quella abassiale ($42 \times \text{mm}^2$); le cellule epidermiche sono isodiametriche, molto ornamentate, meno numerose ($502 \times \text{mm}^2$) rispetto alla corrispondente superficie del *P. greuteri*. La superficie abassiale è fortemente tomentosa, ma con un numero minore di cellule rispetto alla superficie adassiale ($457 \times \text{mm}^2$), ma più numerose rispetto alla corrispondente superficie di *P. greuteri* in risposta ad un ambiente più selettivo per l'altitudine e per la componente edafico-ambientale. *P. stellatus* ha foglie ancora più piccole, scarsamente pelose sulla superficie adassiale ma non "glabra o sparsamente ragnatelosa" (4), bensì con peli più o meno radi e comunque robusti. Questi presentano un piede circolare massiccio con striature cuticolari a stella, corpo lungo, tozzo ed appuntito. Le foglie, dorsoventrali, sono anfistomatiche, con stomi anomocitici poco numerosi e confinati spesso ai lati della nervatura mediana ($48 \times \text{mm}^2$). Le cellule epidermiche sono poco ornamentate ma con cuticola liscia, riflettente e con cellule epidermiche isodiametriche in numero di $502 \times \text{mm}^2$. La superficie abassiale è costituita da cellule più piccole e numerose ($1568 \times \text{mm}^2$) e da un numero di stomi molto più elevato ($426 \times \text{mm}^2$), indice di condizioni ambientali molto stressanti. I risultati ottenuti, a parte le ovvie differenze rimarcate nelle rispettive diagnosi specifiche, evidenziano per i tre taxa una morfologia rispondente alle differenti strategie adattative in risposta ad ambienti diversificati ed estremamente selettivi.

1) W. Greuter (1973), Boissiera, 22.

2) G. Giardina, F.M. Raimondo, V. Spadaro (2007) Bocconea, 20(2007): 5-582.

3) F.M. Raimondo, D. Domina (2006) Willdenowia, 36 (Special Issue): 169-175.

4) S. Pignatti (1982) Flora d'Italia 3, Edagricole, Bologna.

B3 = Convergenza dell'impollinatore ed isolamento riproduttivo in specie simpatriche di *Ophrys* (Orchidaceae) in Sardegna

P. Cortis¹, N. J. Vereecken^{2,3}, F. P. Schiestl³, M. R. Barone Lumaga⁴, A. Cogoni¹, A. Scrugli¹, S. Cozzolino⁴

¹Università degli Studi di Cagliari, Dip.to di Scienze Botaniche, Viale S. Ignazio 13, I-09123 Cagliari, Italy; ²Behavioural and Evolutionary Ecology, Free University of Brussels CP 160/12, Av. F.D. Roosevelt 50, B-1050 Brussels, Belgium; ³Institute of Systematic Botany, University of Zürich, Zollikerstrasse 107, CH-8008 Zürich, Switzerland; ⁴Orto Botanico e Dip.to di Biologia strutturale e Funzionale, Università di Napoli Federico II, Napoli, Italy

Nelle orchidee del genere *Ophrys* l'impollinazione è altamente specifica ed è basata su un inganno di tipo sessuale. Il fiore dell'orchidea, mimando odori e forme della femmina, attira i maschi dell'insetto pronubo, i quali, cercando di accoppiarsi con il fiore, ne favoriscono l'impollinazione. In questo gruppo di orchidee l'isolamento delle specie è generalmente garantito dalla specificità dell'impollinazione: ogni specie di *Ophrys* attrae solitamente i maschi di una sola specie di insetti. Ci sono comunque delle situazioni in cui alcune specie possono condividere un impollinatore comune, ma differire nel posizionamento del polline sul corpo dell'insetto: in queste condizioni ci si aspetta che l'isolamento riproduttivo negli individui sia mantenuto da barriere meccaniche piuttosto che da barriere etologiche.

Nel presente studio è stata quindi investigata una zona naturale di ibridazione in Sardegna tra *O. eleonora* e *O. incubacea*, due specie del genere *Ophrys* che condividono un comune impollinatore, l'apide *Andrena morio*. Nonostante le due specie differiscano nel posizionamento del polline sul corpo dell'insetto (testa e addome) nelle zone di simpatria, vengono sovente ritrovati individui dalle caratteristiche intermedie che lasciano ipotizzare un isolamento soltanto parziale tra le due specie.

E' stata quindi condotta un'analisi dei tratti floreali coinvolti nell'attrazione dell'insetto, come i composti attivi e non-attivi dell'odore e la micromorfologia del labello. Inoltre, è stata studiata l'architettura genetica del sito di ibridazione mediante marcatori molecolari AFLP, mentre la fitness e il numero dei semi delle specie parentali e degli ibridi sono stati stimati mediante incroci controllati. Benché gli ibridi mostrassero caratteri intermedi tra le specie parentali, nella morfologia del labello e nei composti non-attivi, sia le specie parentali che gli ibridi producevano profili molto simili nei composti attivi per l'attrazione dell'insetto. Tuttavia, gli ibridi, pur dimostrandosi in grado di attrarre gli insetti impollinatori producevano un numero di frutti e semi inferiore rispetto a quello delle specie parentali e la stessa architettura genetica della zona di ibridazione indicava che la maggior parte degli ibridi fossero di prima generazione. L'insieme dei risultati indica quindi che, sebbene le due specie parentali possano facilmente ibridare in simpatria come conseguenza della sovrapposizione dell'impollinatore e del debole isolamento meccanico, altre barriere post-zigotiche riducono fortemente la fitness degli ibridi impedendo l'introggressione. Questi risultati evidenziano un contributo significativo delle barriere post-zigotiche, come le divergenze cromosomiche, anche nel mantenimento dell'isolamento riproduttivo in un gruppo di orchidee dove le barriere pre-zigotiche sono state spesso considerate predominanti.



B3 = *Oxalis pes-caprae* L., specie invasiva nella regione mediterranea: indagini ecologiche, biosistematiche e molecolari

E. Della Giovampaola, P. Bruschi, B. Foggi, N. Ranalli, C. Tani, M. A. Signorini

Dip.to di Biologia Vegetale, Università di Firenze, P.le Cascine, 28, 50144 Firenze

enrico.dellagiovampaola@unifi.it

Oxalis pes-caprae L. è una specie originaria del Sud-Africa che si comporta da invasiva in varie regioni del mondo, tra cui il bacino del Mediterraneo. Nell'area di origine è presente con tre morfotipi stilari e si riproduce sia per seme, che vegetativamente tramite bulbilli. Nei Paesi del Mediterraneo è presente prevalentemente con il morfotipo a stilo corto e apparentemente si riproduce solo per via vegetativa.

La ricerca si occupa principalmente di indagini ecologiche, biosistematiche e di analisi molecolari condotte su *O. pes-caprae* L.

Si sta analizzando la presenza di questa specie in particolare nelle isole dell'Arcipelago Toscano e si stanno studiando i fattori ecologici che ne influenzano la distribuzione in modo da monitorarne la diffusione. I primi risultati dimostrano che *Oxalis* cresce in particolare in aree altamente antropizzate e disturbate.

Per quanto riguarda le analisi molecolari, il DNA estratto da ciascuna delle diverse popolazioni raccolte in Italia e all'estero è stato amplificato con primers SSRs plastidiali in modo da esaminare la ripartizione della variabilità genetica tra ed entro le popolazioni. I primi risultati a livello plastidiale evidenziano un elevato polimorfismo tra le diverse popolazioni e anche all'interno di esse, fatto piuttosto sorprendente nel caso di un marcatore a eredità uniparentale e in una specie che si presume si riproduca prevalentemente o esclusivamente per via asessuale. Questi risultati potrebbero far pensare all'introduzione di genotipi diversi da più popolazioni; le successive analisi a livello nucleare previste andranno ad indagare e approfondire queste differenze tra ed entro le popolazioni.

Le indagini biosistematiche intraprese tendono a chiarire le varie fasi del processo riproduttivo; a questo fine si sta analizzando il polline (morfologia, vitalità, germinabilità dei granuli di polline, produzione dei tubetti pollinici) e studiando il gametofito femminile; già nelle prime fasi di analisi condotte in laboratorio è stato possibile osservare la formazione di embrioni all'interno di ovuli di *Oxalis pes-caprae*, di possibile origine apomittica.

Infine, su questa specie si stanno portando avanti anche analisi cariologiche; le popolazioni italiane esaminate sono risultate tutte pentaploidi, con $2n = 5x = 35$.

B3 = Contributo alla conoscenza cariologica del genere *Romulea* (*Iridaceae*) in Italia. I. *R. bulbocodium*, *R. columnae* e *R. rollii*

F. Frignani¹, G. Iiriti², C. Ferri³, F. Vannucchi³, L. Peruzzi³

¹Dip.to di Scienze Ambientali "G. Sarfatti", Università degli Studi di Siena; ²Dip.to di Scienze Botaniche, Università degli Studi di Cagliari; ³Dip.to di Biologia, Università degli Studi di Pisa

Nell'ambito delle ricerche in corso sul genere *Romulea* in Italia (1, 2, 3) gli autori riportano alcuni risultati preliminari relativi alla cariologia di alcuni taxa, allo scopo di migliorare le conoscenze di un gruppo critico della flora italiana. Infatti, il genere presenta un alto grado di variabilità intraspecifica, possibilità di ibridazione e la tendenza a creare popolazioni con peculiari adattamenti morfologici a condizioni climatiche ed edafiche. In particolare la Sardegna viene considerata una regione molto interessante per i possibili scambi genetici tra le varie specie, ibridazioni e speciazione (3).

Relativamente alla famiglia delle *Iridaceae* sono attualmente disponibili conteggi cromosomici di ca. la metà delle specie conosciute (4). La poliploidia in tale famiglia assume un ruolo importante e sono numerosi i generi che presentano un numero cromosomico di base superiore a $x = 10$. Tuttavia, anche se in pochi casi, si assiste ad una variazione del numero di base causata da disploidia. In particolare, in *Romulea*, è stata notata tale variazione ed infatti si sono succedute nel tempo varie opinioni riguardo il valore del numero di base ancestrale. Per tale genere venne proposto $x = 12$ (5), ma sembrerebbe più adatto attribuire $x = 13$ sulla base di comparazioni fatte al di fuori di tale taxon (4). Tale problema potrebbe essere riesaminato alla luce della filogenesi, al momento però scarsamente compresa (4).

Allo stato attuale, per le specie di *Romulea* presenti in Italia i dati cariologici noti in letteratura si riferiscono a 7 taxa ed i conteggi cromosomici riportati sono in totale 14. Le analisi cariologiche hanno interessato alcune specie ad ampia distribuzione (*R. bulbocodium*, *R. columnae* e *R. rollii*) su materiale raccolto in Sardegna e in Toscana. Una prima analisi dei dati acquisiti evidenzia una parziale discordanza con quanto riportato in letteratura. *R. bulbocodium* è risultata tetraploide ($4x$) sia in popolamenti della Sardegna che della Toscana. Lo stesso livello di ploidia è stato riscontrato anche in *R. rollii*, su materiale della Toscana continentale. Sono stati evidenziati infine corredi cromosomici diversi all'interno di *R. columnae*, che presenta popolamenti diploidi ($2x$) nell'Arcipelago Toscano (6), triploidi ($3x$) nella Toscana continentale e pentaploidi in Sardegna ($5x$). Dal confronto dei dati acquisiti con quelli di letteratura, è possibile ipotizzare per tutte e tre le specie un numero cromosomico di base secondario $x = 9$.

1) F. Frignani, G. Iiriti (2007) Atti XII Optima Meeting, Pisa: 110.

2) G. Iiriti, F. Frignani (2008) Atti 103° Congresso S.B.I.: 108.

3) F. Frignani, G. Iiriti (2008) *Candollea*, 63(2): 253-260.

4) P. Goldbatt, M. Takei (1997) *Ann. Missouri Bot. Gard.*, 84: 285-304.

5) M. P. de Vos (1972) *J. Bot.*, 9: 1-307.

6) M. Rizzotto (1992) *Inform. Bot. Ital.*, 23: 119-122.

B3 = Diversità genetica e assetto cromosomico di popolazioni siciliane del genere *Prospero* Salisb. (*Hyacinthaceae*)

A. Geraci, P. Mazzola, F.M. Raimondo, R. Schicchi

Dip.to di Scienze Botaniche dell'Università, via Archirafi 28, 90123 Palermo

Prospero Salisb. è un genere, appartenente alla famiglia delle *Hyacinthaceae*, comprendente delle specie a fioritura autunnale, distribuite in una vasta area che, includendo tutta la regione Mediterranea, si estende dalle coste Atlantiche di Inghilterra, Portogallo e Spagna fino al Caucaso, Balcani e regione Pontica (1, 2). Le specie appartenenti al genere erano comunemente classificate nell'ambito del genere *Scilla*. Recentemente è stato ritenuto più appropriato separarle e inserirle nel genere *Prospero* sulla base di alcuni caratteri sinapomorfi relativi alla regione micropilare (3). Le specie della flora italiana sono *Prospero autumnalis* e *P. obtusifolium*; altre sei specie sono state descritte per l'isola di Creta. (4). Dal punto di vista cariologico il genere è molto variabile nella sua area di distribuzione presentando principalmente numeri base $x = 7, 6$ per *P. autumnalis*, $x = 4$ per *P. obtusifolium* e vi è inoltre un numero elevato di popolazioni poliploidi (3). In Italia relativamente a *P. autumnalis* sono note popolazioni diploidi per Sardegna, Sicilia, Pantelleria e Campania, popolazioni tetraploidi nel resto del territorio ed in Sicilia e popolazioni esaploidi nel Carso triestino ed anche in Sicilia (5).

Nel presente studio è stato indagato il numero cromosomico di popolazioni di *P. autumnalis* e *P. obtusifolium* del territorio siciliano ed è stato condotto uno studio isoenzimatico delle popolazioni allo scopo di valutare la variabilità genetica all'interno delle popolazioni e la diversità interpopolazione e interspecifica.

Per quanto concerne l'assetto cromosomico delle 10 popolazioni di *P. autumnalis* esaminate 9 (Marsala, Calatafimi, San Martino delle Scale, M. Pellegrino, Piano Porrizzi, Contessa Entellina, Castellana Sicula, Taormina) sono risultate diploidi ($2n = 2x = 14$) mentre la popolazione raccolta nei pressi di Salemi (TP) è risultata esaploide ($2n = 6x = 42$). Le quattro popolazioni di *P. obtusifolium* (M. Cofano, Erice, Menfi, Montevago) sono risultate diploidi con assetto cromosomico $2n = 2x = 8$.

Relativamente all'analisi isoenzimatica sono state esaminate 11 popolazioni di *P. autumnalis* (Scopello, Calatafimi, Erice - S. Matteo, M. Cofano, San Martino delle Scale, Contessa Entellina, Petralia Sottana, Marianopoli, Taormina, Salemi, Zingaro, Florida) e tre di *P. obtusifolium* (M. Cofano, Erice, Menfi) elaborando 5 sistemi enzimatici (PGM, PGI, 6PGD, MDH, IDH), per un totale di 8 presunti loci. Il numero medio di alleli per locus oscilla tra 1,1 e 2,0. La percentuale di loci polimorfici varia tra 12,5 e 75. La variabilità intrapopolazione (6) è risultata nel complesso moderata ($H=0.191$ per *P. autumnalis*; $H=0.212$ per *P. obtusifolium*), mentre quella interpopolazione e interspecifica molto elevata (7). Lo studio ha evidenziato sia una grande differenza genetica delle due specie di *Prospero* indagate, sia una grande diversità nel pattern allelico tra le popolazioni di *P. autumnalis* della Sicilia occidentale (Trapanese) e le altre, facendo supporre una divergenza in atto tra le popolazioni della Sicilia che, quindi, si confermerebbe come una possibile area di differenziazione della specie.

1) F. Speta (1979) *Webbia*, 34 (1): 419-431.

2) F. Speta (1993) 5 OPTIMA Meeting Istanbul 8-15 september 1986, pp.109-124.

3) I. Ebert, J. Greilhuber, F. Speta (1996) *Pl. Syst. Evol.*, 203: 143-177.

4) F. Speta (2000) *Linzer. Biol. Beitr.*, 32(2): 1323-1326.

5) A. Geraci, R. Schicchi (2002) *Fl. Medit.*, 12: 177-182.

6) M. Nei (1973) *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 70: 3321-3323.

7) M. Nei (1978) *Genetics*, 89: 586-590.

B3 = Preliminary results on ISSR characterization of *Capparis spinosa* L. in Sicily

A. S. Gristina¹, M. Siragusa², F. Carimi², G. Garfi², S. Fici³

¹Univ. di Palermo, Dip.to di Agronomia Ambientale e Territoriale; ²CNR IGV sezione Palermo; ³Univ. di Palermo, Dip.to di Scienze Botaniche, ficis@unipa.it
silvestrale@gmail.com; mirko.siragusa@igv.cnr.it

The genus *Capparis* L. (*Capparaceae*) includes about 250 species (1) with tropical and subtropical distribution. In the Mediterranean region the genus shows a remarkable diversity. In Sicily a single species is recognized, *C. spinosa*, including two intraspecific taxa: subsp. *spinosa* and subsp. *rupestris* (Sibth. & Sm.) Nyman. *C. spinosa* subsp. *spinosa* is present on clay soils in markedly xerophilous areas of southern and central Sicily (2) and shows a considerable pattern of variation (3). *C. spinosa* subsp. *rupestris* is mainly distributed along the coastal area on limestone and volcanic cliffs, with scattered populations in calcareous and chalky outcrops of the inner areas (2). In a recent revision of the genus *Capparis* section *Capparis*, Inocencio et al. (4) treated these two taxa at specific rank.

In order to investigate the variability of this complex group, researches were undertaken on within and between population genetic diversity by using the ISSR molecular marker analysis. The aim of the investigation was the genetic characterization of Sicilian populations and the assessment of any correlation between genetic and morphological diversity. Leaf material for genetic analysis was collected from 17 Sicilian wild populations belonging to both subspecies, from different substrata: limestone, volcanite, chalk and clay. First results provided specific molecular markers for subsp. *rupestris*. Further analysis on populations from other areas are needed to confirm these results.

1) D.J. Mabberly (1989) *The Plant Book*. Cambridge University Press.

2) S. Fici, L. Gianguzzi (1997) *Bocconea*, 7: 437-443.

3) S. Fici (2001) *Plant Systematics and Evolution*, 228: 123-141.

4) C. Inocencio, D. Rivera, C. Obon, F. Alcaraz, J. Barreña (2006) *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 93: 122-149.

B3 = Androdioicismo (disfasia sessuale) in *Fritillaria persica* L. (Liliaceae)

E. Mancuso, L. Peruzzi

Università degli Studi di Pisa

Tra le strategie riproduttive delle angiosperme, andromonoicismo e androdioicismo, ovvero la presenza, rispettivamente, di fiori maschili ed ermafroditi sullo stesso individuo o su individui diversi, sono ritenute tra le più rare. Studi condotti negli ultimi anni hanno però riscontrato nelle *Liliales* una interessante eccezione a tale regola. Tra i diversi esempi di androdioicismo/andromonoicismo è spesso riscontrato un caso particolare noto come *gender disphasy* o disfasia sessuale, ovvero la determinazione del sesso in base alla taglia/età dell'individuo. Secondo questo modello gli individui/fiori più giovani e di taglia più piccola allocano le loro risorse preferenzialmente verso la funzione maschile, mentre individui/fiori di taglia maggiore, grazie ad una maggiore quantità di risorse immagazzinate, esprimono entrambe le funzioni sessuali (1).

Secondo alcuni autori la disfasia sessuale non andrebbe considerata un caso di reale androdioicismo/andromonoicismo, in quanto durante il corso del ciclo vitale ogni individuo fornisce alla popolazione un uguale contributo da parte di entrambe le funzioni sessuali (2). Lo studio di questi fenomeni su un'altra specie appartenente allo stesso genere (3) ha fatto ricadere l'attenzione su alcuni esemplari di *F. persica* presenti in coltivazione presso l'Orto Botanico di Pisa. La specie è una geofita bulbosa originaria dell'Asia occidentale (4). Ai fini dell'indagine sono stati presi in considerazione gli otto individui adulti fioriferi presenti, di cui tre presentavano infiorescenze composte da soli fiori maschili e cinque con infiorescenze composte da soli fiori ermafroditi. Per verificare se si trattasse di un caso disfasia sessuale o di androdioicismo in senso stretto, sono stati effettuati rilevamenti morfometrici e test di valutazione della fitness maschile. Per ciascun individuo fiorifero è stato conteggiato il numero di fiori ed è stato misurato il diametro dello scapo alla base; la stima della fitness è stata invece effettuata in laboratorio tramite misurazione dei granuli pollinici, test di vitalità pollinica (MTT) e di germinabilità pollinica in soluzioni zuccherine a diverse concentrazioni (5), in modo comparato tra fiori ermafroditi e fiori maschili. Inoltre, sono stati effettuati esperimenti di impollinazione manuale per valutare la capacità fecondante del polline prodotto da piante di sesso diverso e il grado di autocompatibilità degli ermafroditi, effettuando tutti gli incroci possibili: autoimpollinazione spontanea, autoimpollinazione manuale, impollinazione geitonogama, impollinazione xenogama da un altro individuo ermafrodita e da un individuo maschile. Sono stati poi conteggiati i frutti ed i semi prodotti. I risultati ottenuti indicano che non sono presenti differenze nella potenziale fitness maschile di individui di sesso diverso, ma che il sesso è correlato alla taglia/età dell'individuo, date le maggiori dimensioni e il maggior numero di fiori degli individui ermafroditi rispetto ai maschili. La specie, inoltre, risulta essere quasi totalmente autoincompatibile. Sebbene lo studio non sia stato effettuato su una popolazione naturale ma su pochi individui in coltivazione, le nostre osservazioni, considerata anche la frequenza del fenomeno nelle *Liliaceae*, ci fanno ipotizzare che *Fritillaria persica* sia una specie androdioica ed in particolare soggetta a disfasia sessuale.

1) D. G. Lloyd, K. S. Bawa (1984) *Evol. Biol.*, 17: 255-336.

2) J. R. Pannel (2002) *Funct. Ecol.*, 16: 862-865.

3) L. Peruzzi, E. Mancuso, D. Gargano (2008) *Atti 103° Congresso S.B.I., Reggio Calabria*: 114.

4) S. Pignatti (1982) *Edagricole*, Bologna.

5) A. Dafni (1992) *Oxford University Press*, Oxford.

B3 = Ibridazione interspecifica nel genere *Quercus* L. (*Fagaceae*): il caso di *Quercus soluntina* Tin. ex Lojac.

P. Mazzola, A. Geraci, R. Schicchi, A. Troia, F. M. Raimondo

Dip.to di Scienze Botaniche dell'Università, via Archirafi 38, 90123 Palermo

Il tema del flusso genico e dell'ibridazione interspecifica in *Quercus* L. suscita interesse sia per gli aspetti sistematici, legati ai limiti del concetto di specie (1), sia anche per quelli evolutivi ed ecologici (2).

Quercus[×] *soluntina* Tin. ex Lojac. fu descritta da Lojaco-Pojero (3) come l'ibrido fra *Q. coccifera* L. s. l. e *Q. ilex* L., presente con i progenitori in un'esigua superficie esposta a Nord, alle falde del Monte Catalfano ad Est di Palermo (4). L'area è isolata rispetto a quella delle altre stazioni siciliane di *Q. coccifera*, anch'esse puntiformi nelle parti occidentali e sud orientali dell'isola.

Sul Monte Catalfano la popolazione di *Q. soluntina* consiste di un'ampia serie di termini intermedi tra i due estremi, anch'essi presenti, morfologicamente corrispondenti a *Q. ilex* e *Q. coccifera*. Questo scenario è ideale per verificare il ruolo dei singoli taxa, specialmente di *Q. coccifera*, nei processi di ibridazione e introgressione, già evidenziati da Schicchi et al. (5) per la stessa *Q. soluntina*. La nostra indagine ha come punto di partenza il fatto che l'esigua popolazione di *Q. coccifera* ivi presente (non più di un centinaio di individui, in tutto) si è mantenuta morfologicamente distinta dal leccio e dall'ibrido e che, a causa di meccanismi da accertare, non sono evidenti gli effetti di quei fenomeni di introgressione che nel susseguirsi delle generazioni avrebbero potuto causare la scomparsa del progenitore più debole, *Q. coccifera*. Tenendo conto che il problema è stato affrontato anche in altre regioni italiane (6) ed europee, anche con metodiche molecolari (1, 2, 7) senza pervenire a risultati pienamente soddisfacenti, abbiamo intrapreso lo studio dei popolamenti di querce sempreverdi del complesso di Monte Catalfano mediante diversi approcci potenzialmente idonei ai nostri scopi, analizzando:

- a) morfologia del polline: le osservazioni al SEM hanno evidenziato una certa variabilità sia nelle dimensioni che nella ornamentazione dell'esina, tuttavia rivelatasi inadeguata a discriminare i singoli taxa. Per spiegare tale variabilità è stata in passato ipotizzata l'esistenza di remoti processi di ibridazione tra *Q. ilex* e *Q. coccifera* (6);
- b) vitalità del polline: la colorazione dei pollini (con Cotton blue beta-lactofenolo) ha evidenziato al momento percentuali paragonabili di pollini non vitali nei tre taxa esaminati;
- c) diversità isoenzimatica: l'uso degli isoenzimi si è dimostrato efficace nella identificazione degli ibridi in *Quercus* (7). La messa a punto dei protocolli di estrazione a partire dalle foglie, già testati su altre specie sempreverdi, potrebbe fornire un attendibile quadro integrativo rispetto a quello ottenuto per la penisola iberica utilizzando le sequenze ITS e ISSR (1); quest'ultimo indicherebbe un processo evolutivo ricorrente in cui la stabilizzazione dei caratteri morfologici dopo l'ibridazione precederebbe la stabilizzazione genetica (1).

1) R.R. de Casas, E. Cano, L. Balaguer, E. Perez-Corona, E. Manrique, C. Garcia-Verdugo, P. Vargas (2007) *Flora*, 202: 488-499.

2) R.J. Petit, C. Bodenes, A. Ducousso, G. Roussel, A. Kremer (2003) *New Phytol.*, 161: 151-164.

3) M. Lojaco-Pojero (1904) *Flora Sicula*, 2(2). Palermo.

4) C. Marcenò, F. M. Raimondo (1972) *Giorn. Bot. Ital.*, 106: 290-291.

5) R. Schicchi, P. Mazzola, F. M. Raimondo (2001) *Boccone*, 13: 485-490.

6) F. Chiesura Lorenzoni, E. Defrancesco (1984) *Webbia*, 38: 659-664.

7) P. Oliveira, A.C. Custodio, C. Branco, I. Reforco, F. Rodrigues, M. C. Varela., C. Meierrose (2003) *Forest Genetics*, 10: 283-297.



B3 = Morphometric and statistical investigation of natural populations of the *Senecio squalidus* (Asteraceae) group from Mount Etna

S. A. Musumeci

Dip.to di Botanica, Università degli Studi di Catania, Via A. Longo 19, 95125 Catania

The *Senecio squalidus* group features some morphologically changeable *taxa* whose taxonomic limits have been variously interpreted over the past 200 years. Four names, in addition to *Senecio squalidus*, have been associated with this problem: *Senecio squalidus* L. var. *aetnensis* (Jan in DC) Fiori, *S. squalidus* L. var. *glaber* (Ucria) Fiori, *S. squalidus* L. var. *chrysanthemifolius* Poir, *S. siculus* All. (2)

A procedure to identify diversity groups in natural populations of the *Senecio squalidus* group has been devised. This procedure is based on both image processing and multivariable statistical methodologies, leading to the use of the morphological descriptors of image analysis. Digital images of leaves, capitula and seeds of adult *Senecio* plants were analysed by means of ImageJ software (1), while statistical analysis was performed with SPSS package. The images of leaves and seeds were obtained by a flatbed scanner and elaborated with a macro developed for morphometric measurements. This method allowed building up a database for the characterization of these plants and the creation of statistic classifiers for the discrimination of different groups. For three *taxa* of the *Senecio squalidus* group 287 samples were collected from 24 natural populations on Mount Etna (122 samples for *Senecio squalidus* L. var. *aetnensis* (Jan in DC) Fiori, 80 samples for *Senecio squalidus* L. var. *glaber* (Ucria) Fiori, 85 samples for *Senecio squalidus* L. var. *chrysanthemifolius* Poir) and 30 samples from 2 natural populations of *Senecio squalidus* L. var. *chrysanthemifolius* on Vulcano isle (Aeolian archipelago). These data were processed by means of a matrix containing 22 parameters used for successive statistical and cluster analyses after a screening procedure (statistical data exploration). For each sample, the following parameters were used in the quantitative morphological analysis: number of leaf lobe; rectangle enclosing leaf perimeter area index (which indicates the photosynthesising area); capitula diameter; ligule length; seed/pappus length ratio; seed morphology. For each sampling station the next parameters were used: temperature; altitude; exposure; evapotranspiration.

Cluster Analysis confirmed a separation into three natural groups, one including the upper belt populations, one including the middle belt populations and the last one including the populations from lower altitudes, with a distribution of morphological variations depending on climatic characteristics and anthropization level of the sampling stations.

The geographically referenced data sets were represented by *Geographical Information Systems* (GISs) in order to create a georeferenced map of sample variations. Spatial interpolation algorithms were used to estimate the parameter values at sampled locations, providing a mean of integrating data sampled at different sets of locations, as well as visualization.

1) Image J, Image Processing and Analysis in Java - <http://rsbweb.nih.gov/ij/>

2) J.K. James, R.J. Abbott (2005) *Evolution*, 59(12): 2533-2547.

B3 = Sequenziamento del genoma plastidiale di *Quercus robur* L. e studi filogenetici

N. Ranalli¹, P. Bruschi¹, F. Pinzauti², P. Grossoni¹, G. G. Vendramin²

¹Università degli Studi di Firenze, Dip.to di Biologia vegetale; ²CNR, Istituto di Genetica Vegetale, Firenze

La cellula vegetale ha tre diversi genomi: il genoma nucleare, che viene ereditato da entrambi i genitori, ed il genoma dei due organelli: mitocondri e cloroplasti, che viene ereditato in modo uniparentale. Il DNA cloroplastico è ereditato in modo diverso in angiosperme e in gimnosperme: generalmente via seme nelle prime (ereditarietà materna) e generalmente via polline nelle seconde (ereditarietà paterna). Il genoma cloroplastico è una molecola di DNA circolare, costituito, tranne poche eccezioni, da due regioni duplicate ed invertite (*Inverted Repeat*, IR) che dividono la molecola in una regione maggiore (*Large Single Copy*) ed una minore (*Small Single Copy*). Variazioni nelle sequenze del DNA cloroplastico sono ampiamente utilizzate per analizzare relazioni interspecifiche e per studi filogenetici nelle Angiosperme, anche in *taxa* sistematicamente molto complessi come il genere *Quercus*. Riarrangiamenti del genoma del cloroplasto sono molto rari nell'evoluzione così da poter essere utilizzati per separare importanti specie diverse (ad esempio nel DNA barcoding), mentre il basso livello di evoluzione di questa molecola è una seria limitazione a livello intraspecifico.

Lo scopo di questo lavoro è quello di determinare la sequenza nucleotidica del genoma del cloroplasto in *Quercus robur* L., analizzarne e descriverne la struttura, e confrontarla con quella di altri *taxa* appartenenti alla famiglia delle *Fagaceae*.

La strategia utilizzata per il sequenziamento del cloroplasto ha previsto un primo ciclo di amplificazioni con primer consensus plastidiali (1, 2). Gli ampliconi ottenuti sono stati mescolati e nebulizzati fino ad ottenere una miscela di frammenti tra 800bp e 2000bp. Tali frammenti sono stati clonati in un vettore plasmidico, in modo da ottenere una banca genomica del cloroplasto. Il sequenziamento di circa 2000 cloni di questa libreria ha permesso di coprire circa l'80% del genoma organellare. Per colmare le sequenze mancanti sono stati disegnati primer specifici sulle regioni fiancheggianti i gap. I frammenti di cpDNA sono stati sequenziati e successivamente assemblati fino ad ottenere l'intera mappa; è stata condotta l'annotazione dei geni e l'analisi delle regioni codificanti e non codificanti.

Il genoma plastidiale risulta avere una struttura circolare composta da 158858bp, di cui 2 regioni identiche, ripetute ed invertite di 25498bp. Tali regioni sono separate da una regione a singola copia corta costituita da 19330bp ed una regione a singola copia lunga costituita da 88532bp. Dalle prime analisi effettuate sul genoma è risultato che vi è un contenuto di A+T del 60,05% e un contenuto di G+C del 35,64%. I geni annotati sono stati analizzati e confrontati con quelli di altre specie; i risultati saranno presentati e discussi.

1) D. Grivet, B. Heinze, G.G. Vendramin, R.J. Petit (2001) *Molecular Ecology Notes*, 1(4): 345-349.

2) Sebastiani, dati inediti.

B3 = Significato tassonomico dei tricomi fogliari in *Pinguicula* L. (*Lentibulariaceae*)

G. Rodondi, M. Beretta, C. I. L. Patti, C. Andreis

Sezione di Botanica Sistemática e Geobotanica, Dip.to di Biologia, Università degli Studi di Milano, via G. Celoria 26, 20133 Milano, MI, Italy

Il genere *Pinguicula* L. (*Lentibulariaceae*), presente in tutti i continenti tranne l’Africa (esclusa una regione a Nord-Ovest) e l’Oceania, comprende circa 100 specie rare, insettivore, che colonizzano ambienti oligotrofici soggetti, negli ultimi decenni, ad una drastica riduzione. Questo studio ha l’obiettivo di integrare le conoscenze su *Pinguicula*, nella Regione Alpina, analizzando alcuni caratteri micromorfologici di valore tassonomico, in campioni provenienti da diverse popolazioni. È stata considerata la micromorfologia dei tricomi fogliari che rappresentano un adattamento dell’epidermide alla “carnivoria”. Si distinguono: a) **ghiandole sessili** (responsabili delle secrezioni enzimatiche) composte da una cellula basale, una columellare e da cellule secernenti apicali; b) **ghiandole peduncolate** (responsabili della secrezione di mucopolisaccaridi con proprietà adesive) simili alle sessili, ma con una cellula pedunculata interposta tra la basale e la columellare; c) **tricomi semplici**, pluricellulari (Figg. 1, 2) (1, 2, 3).

La struttura dei tricomi è stata esaminata con tecniche di microscopia ottica ed elettronica a scansione utilizzando frammenti di foglia (disidratati, inclusi in resina, tagliati, colorati con blu di toluidina e montati su vetrini permanenti). Su lembi di foglia (tratto mediano) montati con acqua e glicerina sono state effettuate misure di alcuni parametri (densità e distribuzione dei tricomi, diametro e numero di cellule componenti le teste delle ghiandole sessili e peduncolate). I parametri osservati sono stati scelti in base a lavori precedentemente condotti su *P. vulgaris*, *P. lusitanica*, *P. grandiflora* e *P. ionantha* (2, 3).

I risultati fin qui ottenuti per le specie *P. alpina*, *P. reichenbachiana* e *P. poldinii*, sono stati confrontati con i valori noti in letteratura per altre specie (Fig. 3). E’ in corso uno *screening* volto a far emergere differenze tassonomiche tra le diverse specie di *Pinguicula* della Regione Alpina con l’utilizzo della metodologia messa a punto in questo studio.

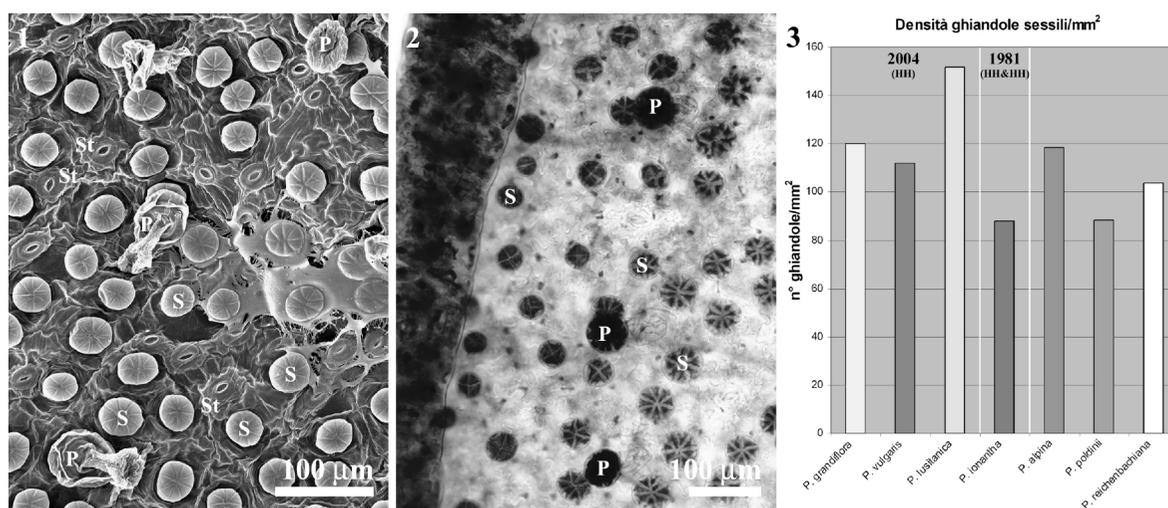


Fig. 1 - *P. poldinii*: ghiandole sessili e peduncolate (SEM). Fig. 2 - *P. alpina*: ghiandole in prossimità del margine fogliare. Fig. 3 - “densità ghiandole sessili/mm²”: confronto con i dati di letteratura (2, 3). S = ghiandola sessile, P = ghiandola pedunculata, St = stoma.

1) Y. Heslop-Harrison, R. B. Knox (1971) *Planta*, 96: 183-211.

2) Y. Heslop-Harrison, J. Heslop-Harrison (1981) *Annals of Botany*, 47: 293-319.

3) Y. Heslop-Harrison (2004) *Journal of Ecology*, 92: 1071-1118.

B3 = Osservazioni micromorfologiche ed architetture su specie del genere *Pyrus* (*Malloideae*, *Rosaceae*) in Sicilia

R. Schicchi, A. Geraci, P. Marino, P. Colombo

Università degli Studi di Palermo, Dip.to di Scienze Botaniche, Via Archirafi 20, 90123 Palermo

Il genere *Pyrus* nella flora siciliana è rappresentato da sei specie: *Pyrus spinosa* Forssk., *P. pyraster* Burgsd., *P. communis* L., *P. vallis-demonis* Raimondo & Schicchi, *P. sicanorum* Raimondo, Schicchi & P. Marino e *P. castribonensis* Raimondo, Schicchi & Mazzola (1, 2, 3). Le suddette specie, ben differenziate per i caratteri macromorfologici ed ecologici, vengono indagate per quanto attiene alle strutture micromorfologiche ed architetture delle foglie, di petali e dei pollini al fine di acquisire ulteriori elementi di conoscenza.

In tutti i taxa esaminati le foglie si presentano ipostomatiche, con stomi anomocitici il cui numero oscilla mediamente tra 280 e 300/mm² in *P. spinosa*, *P. sicanorum* e *P. castribonensis*; è inferiore in *P. pyraster* e *P. communis* (160-200/mm²) e decisamente più elevato in *P. vallis-demonis* (360-460/mm²). Il numero delle cellule epidermiche oscilla tra 880 e 1670/mm². In *Pyrus castribonensis* le cellule dell'epidermide dei petali e delle foglie presentano dimensioni maggiori rispetto alle altre specie indagate (38-45(60) × 23-28(32) μm) rispetto alle altre specie. Il polline è tricolpato e si presenta di forma ellittica, con estremità polari arrotondate in quasi tutti i taxa esaminati. Il rapporto tra diametro polare ed equatoriale (r) è mediamente pari a 1,86 in *P. castribonensis*, 1,89 in *P. sicanorum* e di poco superiore a 2 in *P. spinosa*, *P. pyraster* e *P. communis*. nettamente differente si presenta il polline di *P. vallis-demonis* che risulta tendenzialmente circolare con r compreso tra 1 e 1,13.

L'esina evidenzia un orientamento dei muri pressoché parallelo, mentre le dimensioni delle perforazioni (*puncta*) sono differenti: piccole ed irregolarmente distribuite in *P. castribonensis* e *P. vallis-demonis*, più grandi e numerose nelle altre entità.

Per quanto riguarda i caratteri anatomici della foglia (4, 5, 6), il mesofillo consta generalmente di due strati di palizzata con notevoli variazioni tra le varie specie anche per quanto concerne lo spessore; il lacunoso è caratterizzato da numerosi e piccoli spazi intercellulari, interrotti da fasci vascolari provvisti di guaina generalmente parenchimatica con tendenza a sclerificare in condizione di stress. Sono evidenti dei cristalli di ossalato di calcio, solitari o in cluster. L'architettura xilematica presenta un pattern di tipo pennato-semicraspedodromo ad eccezione di *P. sicanorum* in cui il pattern è craspedodromo per la presenza di dentelli marginali molto pronunziati. Le areole sono piccole ed irregolari con rami liberi biramificati con tracheidi terminali molto lignificate con sclereidi.

Le analisi micromorfologiche forniscono utili elementi per la distinzione delle specie esaminate. In particolare, molto attendibili sono risultate le caratteristiche del polline che, come già evidenziato da Matsuta *et al.* (7), consentono anche una discriminazione a livello sottospecifico nell'ambito del genere *Pyrus*.

1) F.M. Raimondo, R. Schicchi, (2004) *Boccone*, 17: 325-330.

2) F.M. Raimondo, R. Schicchi, P. Marino (2006) *Fl. Medit.*, 16: 379-384.

3) F.M. Raimondo, R. Schicchi, P. Mazzola (2006) *Naturalista Sicil.*, 30(3-4): 363-370.

4) C. Fuchs (1963) *Stain technology*, 38: 141-144.

5) L. Watson and M.J. Dallwitz (2001) *The Families of Flowering Plants* pp. 2324-2341.

6) Leo J. Hickey *et al.* (1999) "Manual of Leaf Architecture – morphological description and categorization.

7) N. Matsuta, M. Omura, T. Akihama (1982) *Japan. J. Breed.*, 32(2): 123-128.

B3 = Barriere prezigotiche nell'isolamento riproduttivo delle orchidee

G. Scopece¹, S. Cozzolino¹, M.R. Barone Lumaga²

¹Dip.to di Biologia Strutturale e Funzionale; ²Orto Botanico, Università degli Studi di Napoli Federico II

L'isolamento riproduttivo è il prerequisito per la convivenza in simpatria di specie filogeneticamente affini. Le orchidee mediterranee dei generi *Orchis* ed *Anacamptis* sono note per l'attrazione generalizzata dei loro insetti impollinatori che determina spesso una grande quantità di impollinazioni interspecifiche in condizioni di simpatria (1). Ciononostante, le zone di ibridazione tra queste specie di orchidee sono rare e generalmente costituite da pochi individui (2). Recenti studi hanno dimostrato l'esistenza di meccanismi di isolamento prezigotici post-impollinazione che limitano fortemente la produzione di frutti in incroci tra specie diverse di orchidee (3, 4). Ad oggi, tuttavia, non è ancora chiaro il meccanismo che determina tali barriere ed in particolare in quale stadio di sviluppo dei gametofiti maschili e femminili esso agisca. Nelle orchidee, lo sviluppo dei gametofiti femminili è indotto dall'impollinazione (5) ma non è noto, nel caso delle impollinazioni interspecifiche, se i tubetti pollinici si sviluppano regolarmente e se, o in quale stadio, si arresta lo sviluppo degli ovuli. Inoltre resta da chiarire la presenza ed il ruolo della competizione pollinica interspecifica, un meccanismo che potrebbe svolgere un ruolo importante nell'isolamento riproduttivo tra specie sottoposte ad un intenso scambio di polline in condizione di simpatria.

Allo scopo di fare luce su questi importanti meccanismi di isolamento, abbiamo utilizzato un approccio integrato fatto di incroci manuali, analisi molecolari ed osservazioni di microscopia elettronica su coppie di orchidee mediterranee con differenti sindromi di impollinazione. Nel dettaglio, abbiamo focalizzato la nostra attenzione su specie che producono nettare e che quindi sono impollinate con una certa costanza da parte degli impollinatori e su specie che non producono nettare e sono quindi sottoposte ad un maggior numero di possibili impollinazioni interspecifiche. Il confronto tra i due gruppi potrà permettere di comprendere se la minore specificità d'impollinazione e la conseguente maggiore probabilità di impollinazioni interspecifiche possano promuovere ed accelerare l'evoluzione dei meccanismi di isolamento prezigotico post-impollinazione.

1) N. A. Van Der Cingel (1995) Balkema, Rotterdam.

2) S. Cozzolino, A. Widmer (2005) *Taxon*, 54: 977-985.

3) G. Scopece, A. Musacchio, A. Widmer, S. Cozzolino (2007) *Evolution*, 61: 2623-2642.

4) S. Cozzolino, G. Scopece (2008) *Phyl. Trans. R. Soc. London B*, 363: 3037-3046.

5) X. S. Zhang, S. D. O'Neill (1993) *Plant Cell*, 5: 403-418.

B3 = Le specie del genere *Oenothera* in Piemonte: analisi morfometrica dei semi e dei frutti e distribuzione territoriale

C. Siniscalco¹, E. Cecere¹, A. Pistarino², A. Soldano³

¹Dip.to di Biologia Vegetale, Università di Torino, viale Mattioli 25, Torino; ²Museo Regionale di Scienze Naturali, via Giolitti 36, Torino; ³Largo Brigata Cagliari 6, Vercelli

Le entità del genere *Oenothera* in Italia sono riunite nella sezione *Oenothera* che presenta tre sottosezioni: *Oenothera*, *Munzia*, *Raimannia*, a cui appartengono complessivamente 20 specie; in Piemonte ne sono presenti 11, di cui 2 dubbie (1). Si tratta di un genere poco conosciuto e per lo più critico per i suoi aspetti genetici complessi quali la produzione di microspecie con il sistema riproduttivo PHT (*Permanent Translocation Heterozygosity*) e l'ibridazione (2). Le specie presenti in Italia sono considerate "esotiche dubbie" in relazione alla loro origine in Europa a partire da materiale americano.

L'esame degli *exsiccata* (Erbari dell'Università di Torino [TO-HP] e del Museo Regionale di Scienze Naturali di Torino [MRSN]) e la sintesi di osservazioni di campo hanno consentito di aggiornare i dati di presenza in Piemonte rispetto a Conti *et al.* (1) e di completare anche cartograficamente i più recenti dati distributivi risalenti a Soldano (3) per le seguenti 8 entità: *Oenothera biennis* L., *O. fallacoides* Soldano & Rostański, *O. glazioviana* Micheli, *O. oehlkersii* Kappus ex Rostański, *O. pedemontana* Soldano, *O. sesitensis* Soldano, *O. stucchii* Soldano e *O. suaveolens* Persoon var. *latipetala* Soldano. Viceversa 4 specie (*O. laciniata* Hill, *O. oakesiana* (A. Gray) Robbins ex S. Watson & J.M. Coult., *O. parviflora* L. e *O. rosea* L'Hér. ex Aiton) sono documentate solo da rinvenimenti di inizio '900 e prive di conferme recenti. Una di queste (*O. oehlkersii*) è stata ritrovata alla quota più elevata finora censita in Europa (1500 m s.l.m. a Ceresole Reale in Valle dell'Orco, TO); tale dato conferma l'alta potenzialità invasiva delle entità di questo genere, sia per le attitudini a colonizzare luoghi disturbati di pianura sia per le possibilità di adattamento ad ambienti montani.

Per le 12 entità sono state effettuate sui frutti e sui semi indagini microscopiche morfologiche e morfometriche che hanno confermato la validità dei caratteri indagati sui semi (forma, dimensioni, colore, tipo di rugosità della superficie e presenza o meno di ali): questi sono risultati importanti elementi di differenziazione ai fini sistematici. È stata quindi prodotta una chiave dicotomica diretta all'identificazione delle specie basata su frutti e semi di *exsiccata* nei quali alcuni elementi diagnostici come la colorazione antocianica scompaiono con l'esiccazione.

Infine sono state prodotte macro e microfotografie e disegni di frutti e semi che costituiscono un contributo al progetto in corso: "Atlante fotografico dei frutti e dei semi della flora del Piemonte e della Valle d'Aosta" promosso dai Dipartimenti di Biologia Vegetale e di Scienze della Terra dell'Università di Torino e dal Museo Regionale di Scienze Naturali di Torino.

1) F. Conti, G. Abbate, A. Alessandrini, C. Blasi (eds.) (2005) Palombi, Roma.

2) W. Dietrich, W.L. Wagner, H.P. Raven (1997) Syst. Bot. Monogr., 50: 1-234.

3) A. Soldano (1993) Natura Bresciana, Ann. Mus. Civ. Sc. Nat., Brescia, pp. 85-116.

B3 = Filogenesi e filogeografia molecolare del genere *Epipactis* lungo la penisola italiana

V. Tranchida Lombardo^{1,2}, A. Cristaudo¹, S. Cozzolino²

¹Sezione di Biologia ed Ecologia Vegetale DACPA, Università di Catania, via Valdisavoia 5, 95123, Catania, Italia; ²Dip.to di Biologia strutturale e funzionale, Università "Federico II", complesso MSA, 80126 Napoli, Italia

Il genere *Epipactis* (*Orchidaceae*) è caratterizzato da un elevato numero di taxa estremamente variabili dal punto di vista morfologico e riproduttivo, in cui è spesso difficile delineare i confini tassonomici. Questo genere di orchidee può quindi rappresentare un interessante modello di studio per analizzare le conseguenze che importanti fenomeni naturali, quali la frammentazione geografica e l'alternarsi delle ultime fasi glaciali ed interglaciali, hanno prodotto sulla cladogenesi e sull'attuale distribuzione delle specie di orchidee boschive presenti nel bacino del Mediterraneo.

Nel presente studio abbiamo analizzato le relazioni sia filogenetiche che filogeografiche in membri di *Epipactis* distribuiti lungo la penisola italiana allo scopo di comprendere se i recenti cambiamenti paleoclimatici verificatisi nell'areale mediterraneo possano aver determinato gli attuali profili di distribuzione e diversificazione all'interno di questo complesso e variabile aggregato di taxa.

Per analizzare le relazioni filogenetiche tra le specie abbiamo studiato la variabilità in sequenze di alcune regioni del genoma plastidiale, mentre le principali rotte filogeografiche sono state individuate analizzando i polimorfismi microsatellitari.

I nostri risultati hanno permesso di individuare due principali linee filetiche costituite da *E. helleborine* s.s. e dal complesso *E. muelleri/microphylla/atrорubens*. Queste due linee filetiche comprendono specie allogame ampiamente distribuite, specie endemiche, entità isolate geograficamente e taxa strettamente autogami.

Dal punto di vista filogeografico, la variabilità riscontrata a livello microsatellitare ci ha consentito di individuare un solo aplotipo principale per tutti i taxa della linea filetica di *E. helleborine* e tre aplotipi principali, tra loro collegati, distribuiti tra i taxa della linea filetica di *E. muelleri/microphylla/atrорubens*. Accanto a questi aplotipi più comuni ed ampiamente distribuiti lungo la penisola italiana, sono stati individuati altri rari aplotipi ma a distribuzione estremamente localizzata.

L'insieme dei risultati sembra quindi escludere che la penisola possa aver rappresentato un'area di rifugio glaciale e supporta l'ipotesi di una recente colonizzazione, forse post-glaciale, del genere *Epipactis* lungo la penisola italiana e di una possibile evoluzione multipla di taxa endemici e/o segregati geografici dalle due principali linee filetiche individuate. La rapida diversificazione e l'estrema variabilità morfologica osservata potrebbero quindi essere spiegate come conseguenza sia della recente frammentazione dell'areale che dei frequenti cambiamenti nella modalità riproduttiva, da allogama ad autogama.

B3 = Biologia riproduttiva in *Ambrosina bassii* L. (*Araceae*, *Ambrosineae*): osservazioni sulla fenologia e sulla morfologia del seme

A. Troia, R.E. Spallino, A. Geraci

Dip.to di Scienze Botaniche dell'Università, via Archirafi 28, 90123 Palermo

Ambrosina bassii L. è una specie filogeneticamente isolata: appartiene infatti ad un genere e ad una tribù monotipici. Il genere più affine, anche sulla base di studi genetici, risulta *Arisarum* P. Miller, collocato in un'altra tribù monotipica (1).

Le conoscenze sulla biologia riproduttiva di *Ambrosina* sono molto esigue, forse a causa della sua distribuzione limitata e discontinua al centro del Mediterraneo, e della sua fenologia invernale e poco appariscente; a parte lo studio specifico ma datato di Killian (2), sono state rintracciate alcune più recenti osservazioni sull'argomento (3).

Nel quadro di ricerche che interessano i diversi aspetti della biologia riproduttiva (meccanismi di impollinazione, morfologia del polline, dispersione, etc.), in questo contributo si presentano dati inerenti alla morfologia del frutto e del seme di *A. bassii*, comparati con quelli riferiti ad *Arisarum vulgare* Targ.-Tozz., dal momento che *Arisarum* è identificato come "sister-group" (4).

Sono stati monitorati sia individui coltivati presso l'Orto Botanico di Palermo, sia alcune popolazioni naturali. Come già segnalato da Killian (2), in *A. bassii* la produzione di frutti è molto rara; abbiamo verificato infatti la presenza di occasionali frutti nelle popolazioni naturali di Mazara del Vallo (TP) e di Santo Pietro (CT). Tra le piante coltivate in 16 vasi (contenenti individui provenienti da varie località siciliane), è stata verificata la maturazione di soltanto 4 frutti. Le piante coltivate hanno consentito inoltre di monitorare l'andamento fenologico: la fioritura è iniziata nella prima decade di novembre prolungandosi fino a marzo; i frutti sono diventati visibili tra gennaio e febbraio, raggiungendo la maturità a maggio.

Il frutto di *Ambrosina*, che come il fiore si sviluppa a livello del suolo, è globoso e contiene numerosi semi (11-40); lo stilo permane fino alla deiscenza, che avviene a partire dalla parte apicale. Non si tratta di una bacca, come riportato da vari autori (ad es. Mayo *et al.*, 1) ma di una capsula, come indicato da Bassi (5). In *Arisarum* il frutto è emisferico e con pochi semi, appiattito nella parte superiore e con margini angolosi sporgenti.

Il seme di *Ambrosina* è bruno-aranciato, subgloboso, la superficie presenta coste longitudinali in parte oscurate da una leggera reticolatura; è presente un evidente arillo, biancastro. L'esame al SEM ha evidenziato la differente morfologia delle superfici del seme e dell'arillo di *Ambrosina* e di *Arisarum*; in particolare, l'ornamentazione del seme di *Ambrosina* appare nettamente e finemente alveolata, a differenza di *Arisarum* dove prevalgono le strutture longitudinali.

In conclusione, le osservazioni effettuate hanno confermato che in *Ambrosina* la riproduzione sessuale è poco frequente; la presenza dell'arillo, certamente connesso alla dispersione zoocora, costituisce un dato interessante per questa specie ad areale limitato e frammentato. L'ornamentazione del seme si conferma, inoltre, un carattere utile anche a fini sistematici.

1) S.J. Mayo, J. Bogner, P.C. Boyce (1997) Royal Botanic Gardens, Kew

2) C. Killian (1929) Bull. Soc. Hist. Nat. Afrique du Nord, 20: 257-278.

3) D. Barabé, C. Lacroix, M. Gibernau (2004) Can. J. Bot., 82: 282-289.

4) L.I. Cabrera, G.A. Salazar, M.W. Chase, S.J. Mayo, J. Bogner, P. Devila (2008) Am. J. of Botany, 95: 1153-1165.

5) F. Bassi (1763) "De *Ambrosina* novo Plantae genere". Bologna.

B3 = Analisi del pattern di covarianza dei caratteri morfologici fogliari di alcune specie simpatriche del subgenere *Quercus*

V. Viscosi, P. Fortini

Museo Erbario del Molise, Dip.to STAT, Università degli Studi del Molise, C.da Fonte Lappone, 86090 Pesche (IS)

La morfologia fogliare delle specie del subgenere *Quercus* presenta un ampio grado di variabilità inter- ed intra-specifica, legata principalmente ai fenomeni d'ibridazione ed introgressione. In particolar modo, quando più specie vivono in simpatria, gli ibridi di diverse generazioni presentano un pattern di variabilità morfologica che tipicamente si esprime lungo un *continuum* di forme tra le specie parentali.

In questo studio, la *2-Block Partial Least-Squares analysis* è utilizzata per studiare il pattern di covarianza tra diversi set di dati morfologici fogliari, campionati su 336 alberi di un bosco misto di *Q. petraea*, *Q. pubescens*, *Q. pyrenaica* e *Q. robur* in Francia sud-orientale. La *2B-PLS analysis* è un recente metodo statistico sviluppato per l'esplorazione dei pattern di covarianza tra variabili di due o più set di dati, che permette di costruire combinazioni lineari in grado di spiegare la maggior parte della covarianza esistente tra le variabili.

Questo lavoro punta allo studio di tre differenti set di variabili relativi alla forma fogliare (punti omologhi e contorni) ed a 19 variabili morfologiche, tradizionalmente usate per lo studio della morfologia fogliare delle specie del subgen. *Quercus*. Tutti i set di variabili sono stati ridotti a PCs e sottoposti a 2B-PLS: i contorni fogliari e le 19 variabili morfologiche sono state analizzate in relazione ai punti omologhi ed i risultati ottenuti hanno permesso di estrarre 7 combinazioni lineari significative per entrambe le analisi effettuate. La variazione di forma, spiegata dalle combinazioni lineari significative, è stata visualizzata mediante griglie di deformazione e correlata al peso delle variabili degli altri due set di dati.

In entrambe le analisi, i set di dati sono molto correlati tra loro (Fig. 1) e le prime combinazioni lineari hanno permesso di distinguere le specie e di associare le variazioni di forma fogliare ad altre variabili morfologiche (Fig. 2): le variazioni di forma che si riferiscono alla profondità dei lobi risultano correlate principalmente con le variabili dimensionali ed il pattern di venatura, mentre la variabilità della lunghezza del picciolo e della forma della base fogliare risultano correlate al numero di lobi e alla pubescenza.

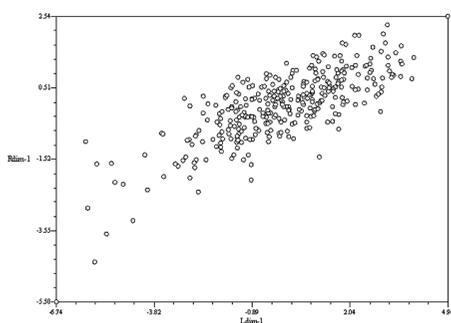


Fig. 1 - 2B-PLS su punti omologhi e contorni ($r=0.812$; $p=0.001$).

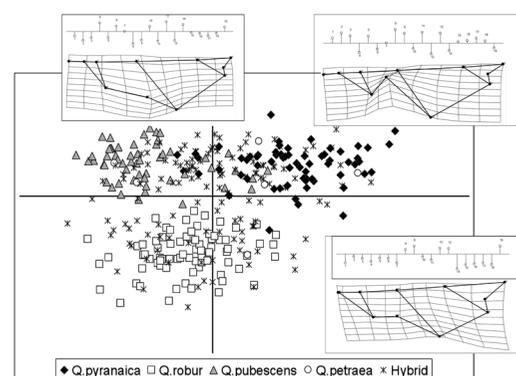


Fig. 2 - 2B-PLS su punti omologhi e 19 variabili.