

SOCIETÀ BOTANICA ITALIANA

SEZIONE REGIONALE PUGLIESE

RIUNIONE SCIENTIFICA

ABSTRACTS DELLE RELAZIONI

Bari  
23 Gennaio 2009



## Riunione scientifica della Sezione Regionale Pugliese della Società Botanica Italiana Bari, 23 gennaio 2009

### ManS-GFP: marker fluorescente per i dittiosomi

M. DE CAROLI, G. DALESSANDRO e G. PIRO.  
Di.S.Te.B.A., Università del Salento.

Le glicosiltransferasi sono enzimi coinvolti nella sintesi di oligosaccaridi, polisaccaridi e nella porzione carboidratica di glicosidi, glicolipidi, glicoproteine e proteoglicani. La loro specifica funzione è quella di catalizzare il trasferimento di residui glicosidici da un substrato che funge da donatore glicosidico attivato, normalmente un nucleoside difosfato zucchero, ad una molecola accettrice. A tutt'oggi, nonostante i notevoli passi avanti compiuti grazie agli studi sul genoma, sono ancora scarse le conoscenze sulle glicosiltransferasi delle cellule vegetali. Solo recentemente, infatti, sono stati clonati i primi enzimi del Golgi. Nel genoma di *Arabidopsis* sono stati identificati circa 420 geni che codificano per enzimi coinvolti nella biosintesi di glicoconjugati con una potenziale localizzazione nel Golgi, ma sono stati clonati solo 10 cDNA di enzimi responsabili della maturazione degli N-glicani e 8 cDNA coinvolti nella biosintesi di glicoconjugati (COUTINHO *et al.*, 2003). Le prime analisi su glicosiltransferasi coinvolte nella biosintesi dei polisaccaridi di matrice sono state condotte attraverso approcci indiretti basati sulla immunolocalizzazione dei loro prodotti (ZHANG, STAEHELIN, 1992). Il recente clonaggio di alcune glicosiltransferasi vegetali ha reso possibile effettuare la loro fusione con una proteina fluorescente (GFP) ed ottenere informazioni più precise sui segnali di *targeting* e sulla localizzazione specifica di alcune glicosiltransferasi nelle diverse cisterne dei dittiosomi (RITZENTHALER *et al.*, 2002). Nell'ambito di una ricerca che mira ad ottenere *marker* proteici fluorescenti che permettano di poter seguire *in vivo* il *sorting* delle proteine coinvolte nella biosintesi e rimodellamento della parete, è stata effettuata una fusione tra una variante di GFP indirizzata alla via di secrezione, secGFP, ed il cDNA del gene *CslA02* di *Arabidopsis thaliana* con ipotetica funzione di  $\beta$ -mannano sintasi, qui indicato con ManS. È stato così ottenuto il costrutto ManS-GFP utilizzato per effettuare trasformazioni transienti in protoplasti ottenuti da foglie di tabacco (*Nicotiana tabacum* L.). Dopo 18 ore di trasformazione, ManS-GFP marca il RE corticale e la zona perinucleare; ciò indica l'immissione co-traduzionale della proteina di fusione nel RE, in continuità con la membrana nucleare. Sono visibili, inoltre, delle strutture punti-

formi fluorescenti, numerose e diffuse all'interno del protoplasto. Esperimenti con Brefeldina A (BFA), una tossina fungina che, inibendo la produzione di vescicole dal RE, porta al disassemblaggio delle cisterne del Golgi con una redistribuzione delle proteine nel RE (RITZENTHALER *et al.*, 2002), hanno evidenziato una redistribuzione della fluorescenza nel RE. Le variazioni nel pattern di fluorescenza di ManS-GFP in presenza di BFA dimostrano che le strutture puntiformi fluorescenti sono dittiosomi. Co-trasformazioni con ST-RFP (SAINT-JORE *et al.*, 2002), marcatore fluorescente delle cisterne *trans* del Golgi, hanno evidenziato una perfetta co-localizzazione tra ManS-GFP e ST-RFP confermando il transito di ManS-GFP nei dittiosomi e, precisamente, nel *trans*-Golgi.

Dopo trattamento con cicloesimide, inibitore della sintesi proteica che permette di visualizzare la localizzazione finale della chimera, l'unico compartimento fluorescente rimane il Golgi, pertanto ManS-GFP ha la sua stabile localizzazione finale esclusivamente nei dittiosomi. La fluorescenza osservata nel RE fino a 24 ore di espressione è dovuta al transito della proteina nel RE e non a specifici segnali di ritenzione. I risultati ottenuti permettono di stabilire che ManS-GFP rappresenta un *marker* proteico fluorescente utile per studiare il *sorting* di una proteina ai dittiosomi.

Questo lavoro è stato finanziato con i fondi del progetto PRIN 2008.

### LETTERATURA CITATA

- COUTINHO P.M., DELEURY E., DAVIES G.J., HENRISSAT B., 2003 – *An Evolving Hierarchical Family Classification for Glycosyltransferases*. J. Mol. Biol., 238: 307-317.
- RITZENTHALER C., NEBENFUHR A., MOVAFEGHI A., STUSSI-GARAUD C., BEHNIA L., PIMPL P., STAEHELIN L.A., ROBINSON D. G., 2002 – *Reevaluation of the effects of brefeldin A on plant cells using tobacco Bright Yellow 2 cells expressing Golgi-targeted green fluorescent protein and COPI antisera*. Plant Cell, 14: 237-261.
- SAINT-JORE C.M., EVINS J., BATOKO H., BRANDIZZI F., MOORE I., HAWES C., 2002 – *Redistribution of membrane proteins between the Golgi apparatus and endoplasmic reticulum in plants is reversible and not dependent on cytoskeletal networks*. Plant J., 29: 661-678.
- ZHANG G.F., STAEHELIN L.A., 1992 – *Functional Compartmentation of the Golgi Apparatus of Plant Cells*. Plant Physiol., 99: 1070-1083.

## Sfruttamento della plasticità del tonoplasto a scopi biotecnologici

G-P. DI SANSEBASTIANO, M. FARACO e G. DALESSANDRO. Di.S.Te.B.A., Università del Salento

Le piante producono un numero quasi illimitato di metaboliti secondari, tra i quali integratori alimentari, farmaci, tossine, materiali industriali di grande interesse e valore.

Questi elementi apportano naturalmente dei vantaggi alla pianta ma presentano ugualmente dei problemi poiché, oltre a competere con il metabolismo primario, sono spesso tossici per la cellula stessa. Di conseguenza l'evoluzione ha provveduto a selezionare adeguati sistemi di compartimentazione associati alla biosintesi di questi composti. Per limitare la citotossicità di questi composti la cellula vegetale li accumula in compartimenti con bassa attività metabolica come apoplasto e vacuoli.

I meccanismi di trasporto ed accumulo sono poco conosciuti ed in questa mancanza si trova spesso la ragione dei numerosi insuccessi collezionati in campo biotecnologico quando si interviene unicamente sul *pathway* biosintetico nella speranza di aumentare la resa di una determinata molecola.

Qualche recente successo, come ad esempio l'arricchimento di sostanze anticancro in bacche di pomodori transgenici (BUTELLI *et al.* 2008), ha riportato grande attenzione sui composti fenolici quali flavonoidi ed antociani. Si continua, in genere, ad indirizzare gli interventi biotecnologici solo su aspetti biosintetici e si conta su effetti indotti (e casuali) per ciò che concerne l'accumulo dei prodotti. Il compartimento che accumula antociani e flavonoidi, spesso un vacuolo, non è studiato e considerato con attenzione.

Eppure, il vacuolo in grado di accumulare una molecola di interesse in condizioni ottimali, tali da aumentarne la stabilità e quindi la quantità, può essere manipolato. Abbiamo numerosi esempi dell'enorme plasticità del complesso vacuolare. Possiamo osservare come l'espressione di diverse proteine del tonoplasto sia capace di alterarne l'organizzazione senza compromettere la vitalità della cellula e lo sviluppo normale del tessuto.

Questo è sorprendente considerando il ruolo essenziale di alcune funzioni vacuolari (ROJO *et al.*, 2001), ma assolutamente evidente grazie alla disponibilità di numerosi marcatori di membrana che evidenziano senza dubbio alcuno la plasticità di questi compartimenti. Compartimenti vacuolari diversi hanno, quasi sicuramente, ontogenesi distinte ma si fondono e si riorganizzano per soddisfare l'enorme varietà di funzioni tradizionalmente attribuite al vacuolo.

Questi eventi di riorganizzazione, realizzati essenzialmente tramite fusione delle membrane dei distinti tonoplasti, sono probabilmente il passaggio più facilmente manipolabile.

Studi recenti hanno portato alla dissezione di passag-

gi importanti dell'accumulo degli antociani (VERWEIJ *et al.* 2008), con particolare attenzione su ciò che caratterizza i vacuoli coinvolti. Tali conoscenze offrono l'occasione di tentare una manipolazione dei meccanismi di accumulo dei metaboliti secondari, senza dover necessariamente alterare pesantemente la fisiologia dell'intera pianta.

Gli strumenti molecolari sulle cui potenzialità stiamo indagando sono le proteine SNARE. Tra queste SYP51 che, sovraespressa, mostra di avere un effetto di interferenza nel normale sviluppo dei vacuoli.

### LETTERATURA CITATA

- BUTELLI E., TITTA L., GIORGIO M., MOCK H.P., MATROS A., PETEREK S., SCHIJLEN E.G., HALL R.D., BOVY A.G., LUO J., MARTIN C., 2008 – *Enrichment of tomato fruit with health-promoting anthocyanins by expression of select transcription factors*. Nat. Biotechnol., 26 (11): 1301-1308.
- ROJO E., GILLMOR C.S., KOVALEVA V., SOMERVILLE C.R., RAIKHEL N.V., 2001 – *VACUOLELESS1 is an essential gene required for vacuole formation and morphogenesis in Arabidopsis*. Dev. Cell, 1: 303-310.
- VERWEIJ W., SPELT C., DI SANSEBASTIANO G.P., VERMEER J., REALE L., FERRANTI F., KOES R., QUATTROCCHIO E., 2008 – *An H<sup>+</sup> P-ATPase on the tonoplast determines vacuolar pH and flower colour*. Nat. Cell Biol., 10 (12): 1456-1462.

## Caratterizzazione quali-quantitativa dei carboidrati in sei differenti varietà di patata dolce (*Ipomea batatas* L. Lam.)

C. NOTARO, M.S. LENUCCI, G. PIRO e G. DALESSANDRO. Di.S.Te.B.A., Università del Salento.

*Ipomea batatas* L. Lam. è una specie appartenente alla famiglia delle *Convolvulaceae*, nativa delle aree tropicali delle Americhe. È una pianta erbacea, perenne con steli rampicanti, foglie lobate o palmate. Essa presenta rizotuberi carnosi dal caratteristico sapore dolciastro, per cui è comunemente conosciuta come "patata dolce".

I rizotuberi di *I. batatas* possono presentare differenze, in base alla varietà, nel colore della buccia (rossa, viola, marrone o bianca) e della polpa, che può essere bianca, gialla o arancione.

Negli ultimi anni la patata dolce è diventata oggetto di studio in campo agroalimentare soprattutto perché è una coltura che si adatta facilmente alle diverse condizioni ambientali, non ha bisogno di particolari cure colturali e presenta alte rendite in termini produttivi di raccolto. Le patate dolci inoltre, sebbene siano comunemente conosciute come "small farmer's crop", coltivate su superfici estese, producono enormi quantità di biomassa a basso costo.

Dal punto di vista nutrizionale i tuberi sono un'ottima fonte di carboidrati ed energia (O'HAIR, 1990), infatti, son costituiti da: 71% acqua, 17,5% amido, 7,5% altri carboidrati, 1% fibra, 1,88% proteine,

0,2% grassi, 1% ceneri. La digeribilità dei carboidrati presenti nei tuberi di patata dolce è maggiore del 90% (YOSHIDA, MORIMOTO, 1958).

Più del 95% della produzione di *I. batatas* deriva dai paesi in via di sviluppo, dove costituisce, in ordine d'importanza, la quinta coltura utilizzata a scopo alimentare. In Italia, la patata dolce è coltivata in Veneto, Emilia Romagna e Lazio per la produzione di amido, fecola e alcool. In Puglia è tradizionalmente coltivata in terreni marginali della provincia di Lecce e, in minor misura, di Bari e Brindisi, dove costituisce un prodotto alimentare "di nicchia". È una pianta caratterizzata da un alto contenuto di carboidrati, prevalentemente amido, che si accumula nelle cellule parenchimatiche dei tuberi. La quantità di energia giornalmente accumulata per ettaro sotto forma di amido è considerevolmente maggiore di quella ottenuta da frumento, riso, cassava e patata comune.

L'adattabilità della patata dolce a crescere in terreni poveri e la richiesta di poche cure colturali rende questa specie potenzialmente interessante come biomassa da utilizzare per la produzione di bio-carburanti, soprattutto perché, a differenza di altre coltivazioni ricche in carboidrati amilacei, è considerata una fonte non essenziale di alimentazione nei paesi industrializzati.

In questo lavoro, è stata condotta una caratterizzazione quali-quantitativa dei carboidrati di sei diverse varietà di patata dolce, riconoscibili da evidenti differenze nella colorazione della polpa e della buccia, per valutare un loro possibile utilizzo come fonte energetica alternativa. Sono state prese in considerazione due varietà di provenienza locale (a pasta gialla e buccia marrone e a pasta e buccia bianca), una cultivar proveniente dall'Honduras a pasta gialla e buccia violacea e tre cultivar a pasta arancione e buccia marroncina di provenienza Israeliana, Sud Africana e Americana.

Gli zuccheri solubili sono stati estratti con etanolo al 70%; l'amido è stato idrolizzato a glucosio mediante  $\alpha$ -amilasi e amiloglicosidasi. I polisaccaridi di parete (pectine, emicellulose e cellulosa) sono stati sottoposti a trattamenti idrolitici sequenziali con acido trifluoroacetico ed acido solforico. Gli zuccheri ottenuti nelle diverse frazioni sono stati analizzati mediante HPAEC-PAD.

Sono state evidenziate variazioni rilevanti nella quantità totale di zuccheri solubili in tutte sei le varietà di patata dolce; in particolare nella patata dolce locale a pasta gialla la quantità totale di zuccheri solubili è 73,6 g/kg fw, in quella locale a pasta bianca 15,0 g/kg fw, in quella proveniente dall'Honduras 51,4 g/kg fw, in quella Israeliana 19,6 g/kg fw, in quella Sud africana 65,7 g/kg fw e in quella Americana 37,3 g/kg fw. In tutte le varietà, il saccarosio è risultato lo zucchero solubile percentualmente maggiore, seguito da glucosio, fruttosio e maltosio.

La quantità di amido è anch'essa variabile nelle sei varietà ed è compresa tra 901,4 mg/g dw nella varietà proveniente dall'Honduras e 376,6 mg/g dw in quella proveniente da Israele. Lo stesso dicasi per

quanto riguarda la quantità e composizione dei polisaccaridi di parete derivanti da idrolisi chimica che è risultata variabile tra i 127mg/g dw in quella Americana e i 69,6 mg/g dw in quella locale a pasta bianca.

Da questi dati si evince che la varietà locale a pasta gialla presenta il più alto contenuto in zuccheri solubili (73,6 g/Kg fw) e il più alto quantitativo di polisaccaridi strutturali e di riserva (916,3 mg/g dw), pertanto è quella potenzialmente più idonea a essere utilizzata come biomassa per la produzione di bioetanolo.

#### LETTERATURA CITATA

- O'HAIR, S.K., 1990 – *Tropical root and tuber crops*. Hort. Rev., 12: 157-196.  
 YOSHIDA, M., MORIMOTO, H., 1958 – *The nutritive value of sweet potato as carbohydrate source of poultry feeds*. World Poultry Sci. J., 14(3): 246.

#### Analisi dei carboidrati in porzioni edibili e non di una varietà di carciofo locale

S. GRASSI, M.S. LENUCCI, F. RIZZELLO, R. RUSSO, G. PIRO e G. DALESSANDRO. Di.S.Te.B.A., Università del Salento.

Il carciofo (*Cynara cardunculus* L. subsp. *scolymus*) è una pianta erbacea poliennale appartenente alla famiglia delle Composite. Originaria del bacino del Mediterraneo, è una specie ortiva di notevole importanza nell'economia agricola italiana, dati i 50.601 ettari coltivati (ISTAT, 2008).

Il carciofo, nelle sue numerose varietà coltivate selezionate nel tempo, offre una porzione edibile, rappresentata dall'infiorescenza immatura dotata di brattee e ricettacolo, e porzioni non edibili, tra cui le foglie, i gambi e le brattee esterne coriacee (scarti). Nel complesso, costituisce una pianta rinomata per le sue proprietà nutrizionali, preventive e curative, correlabili al suo alto contenuto di composti biologicamente attivi, quali la fibra alimentare, l'inulina e i polifenoli.

In questo studio è stata realizzata una valutazione comparativa tra le porzioni edibili e non di una varietà locale di questa specie ortiva, la Brindisina, allo scopo di evidenziare le differenze nel contenuto di zuccheri solubili, polisaccaridi di riserva e polisaccaridi strutturali di parete. Queste misurazioni sono importanti parametri nella valutazione qualitativa degli alimenti vegetali; d'altro canto, consentono di valutare, relativamente alle porzioni non edibili, alcuni impieghi che ne permettano la valorizzazione. Gli zuccheri solubili, essendo composti a basso peso molecolare, sono stati estratti dagli omeogenati di ciascuna porzione del carciofo mediante estrazione con etanolo al 60%. I composti polimerici, insolubili in alcool, sono stati precipitati mediante centrifugazione andando a costituire il Residuo Insolubile in

Alcool (RIA).

Il contenuto totale in zuccheri solubili è maggiore nei gambi ed è ripartito in maniera all'incirca equimolare tra gli zuccheri individuati, quali glucosio, fruttosio e saccarosio. Nelle rimanenti porzioni si ha una diminuzione in termini di quantità totale; lo zucchero solubile prevalente è il glucosio, nonostante il suo contenuto sia pur sempre inferiore a quello dei gambi. La diminuzione di glucosio, fruttosio e saccarosio nelle porzioni che costituiscono il capolino fiorale (brattee interne ed esterne) può trovare indirettamente una spiegazione nel loro maggior contenuto di inulina, polisaccaride di riserva tipico delle Composite sintetizzato a partire da saccarosio o da glucosio e fruttosio, previa sintesi dello stesso disaccaride (EDELMAN, JEFFORD, 1968).

Amido ed inulina rappresentano i polisaccaridi di riserva, stimati l'uno in base al glucosio rilasciato mediante digestione con  $\alpha$ -amilasi ed amiloglicosidasi, l'altra in base al fruttosio rilasciato mediante digestione con inulinasi. Mentre l'amido è presente in quantità decisamente basse in tutte le porzioni, l'inulina prevale nelle brattee interne (10,1 g/kg fw) ed in quelle esterne (7,5 g/kg fw).

La maggior parte dei carboidrati che caratterizzano ciascuna porzione del carciofo è però rappresentata dai polisaccaridi di parete. Le pareti cellulari di ciascuna porzione del carciofo Brindisino sono state sottoposte ad un'analisi quali-quantitativa degli zuccheri solubilizzati mediante trattamenti idrolitici di natura chimica (idrolisi sequenziali con TFA e  $H_2SO_4$ ) o enzimatica (idrolisi con Driselasi). La parete cellulare di ciascuna porzione del carciofo manifesta in termini generali la stessa suscettibilità ai due differenti trattamenti idrolitici (acido ed enzimatico), dato che il contenuto totale degli zuccheri solubilizzati dall'idrolisi sequenziale in TFA e  $H_2SO_4$  è paragonabile a quello degli zuccheri solubilizzati mediante Driselasi.

In relazione all'idrolisi chimica, la valutazione comparativa del contenuto totale degli zuccheri, costituenti i polisaccaridi di parete, tra le diverse porzioni del carciofo evidenzia significative differenze: le brattee esterne risultano esserne più ricche; in particolare i polisaccaridi di matrice contribuiscono maggiormente alla composizione della parete cellulare delle stesse rispetto alla cellulosa. Vale lo stesso principio nelle brattee interne, nei gambi e nelle foglie in cui però il contenuto totale dei polisaccaridi di parete diminuisce.

Dalla tipologia degli zuccheri, analizzati mediante HPAEC-PAD, è possibile formulare un'idea di quali siano i principali polisaccaridi costituenti le pareti cellulari della pianta del carciofo Brindisino. Nel complesso, si può affermare che, nelle pareti cellulari del carciofo, siano presenti omogalatturonani, ramnogalatturonani di tipo I, arabani, galattani, arabinogalattani, xiloglucani, xilani, glucuronoxilani, mannani e cellulosa.

Dunque, le brattee interne col relativo ricettacolo del carciofo Brindisino, come quelle di altre varietà, risultano ad alto contenuto di fibre, sia solubili che

insolubili, data l'elevata presenza di sostanze pectiche, emicellulose e cellulosa. Un'altra sostanza, l'inulina, che contribuisce in misura rilevante alla componente carboidratica di riserva, rende questo prodotto un alimento particolarmente adatto ai diabetici.

Tutti gli scarti del carciofo potrebbero essere processati per isolare i polisaccaridi di parete essendo i carboidrati più rappresentativi. In qualità sia di fibre alimentari sia di composti bioattivi, i suddetti polisaccaridi potrebbero essere utilizzati come additivi nella preparazione di numerosi alimenti per migliorarne le proprietà reologiche e nutrizionali. Tuttavia, prima dell'impiego nell'industria alimentare, sarebbe opportuno analizzare le proprietà organolettiche e funzionali delle fibre isolate da questi organi.

I gambi si potrebbero prestare bene alla produzione di bevande fermentate, dato il loro elevato contenuto in zuccheri solubili, tra i quali glucosio e fruttosio sono quelli facilmente fermentabili dai ceppi tradizionali di *Saccharomyces cerevisiae*.

Dalle brattee esterne, più che dai gambi e dalle foglie, si potrebbe estrarre l'inulina. Ulteriori studi per determinare il grado di polimerizzazione dell'inulina che caratterizza questa varietà di carciofo, sarebbero necessari per valutare specificamente le sue proprietà e quindi il suo possibile impiego nell'industria alimentare e farmaceutica.

#### LETTERATURA CITATA

- EDELMAN J., JEFFORD T., 1968 – *The mechanism of fructosan metabolism in higher plants as exemplified in Helianthus tuberosus*. New Phytol., 67: 517-531.  
 ISTAT, 2008 – [www.istat.it/agricoltura/datiagri/coltivazioni/anno2008/](http://www.istat.it/agricoltura/datiagri/coltivazioni/anno2008/)

#### Caratterizzazione biochimica degli scarti industriali del carciofo: valutazione del loro potenziale utilizzo per la produzione di bio-etanolo

F. RIZZELLO, M.S. LENUCCI, S. GRASSI, R. RUSSO, G. PIRO e G. DALESSANDRO. Di.S.Te.B.A., Università del Salento.

La necessità di ridurre le emissioni di gas serra e, più in generale, l'inquinamento atmosferico, unitamente all'imprevedibile andamento del prezzo del greggio, stanno rapidamente spostando la convenienza economica verso l'uso di fonti energetiche alternative. Le biomasse sono considerate una delle più promettenti risorse energetiche rinnovabili nell'immediato futuro per la produzione di bio-combustibili a basso impatto ambientale. Il più comune bio-carburante attualmente in commercio è l'etanolo, ottenuto per fermentazione alcolica degli zuccheri contenuti nelle biomasse vegetali. Circa il 90% del bio-etanolo è attualmente prodotto da colture agricole amidacee (mais, riso e canna da zucchero) determinando problemi nella ripartizione di queste risorse tra uso alimentare o energetico (SUN *et al.*, 2002). La biomas-

sa lignocellulosica è una risorsa economica, rinnovabile e abbondantemente disponibile; non essendo utilizzabile per l'alimentazione umana, è considerata una alternativa interessante per la produzione di bio-etanolo. La sua complessità chimica e strutturale è, tuttavia, uno dei principali ostacoli nel processo di bio-conversione in zuccheri semplici e nelle successive fasi fermentative (KUMAR *et al.*, 2008). Per tale ragione, la produzione di bio-etanolo da biomasse lignocellulosiche è ancora in fase sperimentale esigendo una attenta ottimizzazione dell'intero processo. La ricerca di enzimi e/o miscele enzimatiche in grado di idrolizzare efficientemente il materiale lignocellulosico, così come il miglioramento delle condizioni d'idrolisi in termini di rapporto enzima/substrato, temperatura e tempo d'esercizio, è fondamentale per rendere economicamente conveniente la produzione di bio-etanolo. La saccarificazione della biomassa contribuisce, infatti, in modo determinante al costo del processo produttivo (TENGBORG *et al.*, 2001). Gli scarti agro-industriali sono una considerevole fonte di biomassa lignocellulosica disponibile a costo zero. I residui vegetali (brattee esterne, gambi e foglie) provenienti dalla lavorazione industriale del carciofo costituiscono un residuo orticolo ampiamente diffuso in Puglia, regione che, oltre a contribuire con più del 30% alla produzione nazionale di quest'ortaggio, è anche dotata delle strutture necessarie alla sua trasformazione industriale in prodotti conservieri.

In questo lavoro abbiamo caratterizzato, da un punto di vista biochimico, gli scarti crudi e sbollentati (a 100°C per 15 minuti) derivanti da due diverse procedure industriali per la preparazione di carciofi sott'olio, allo scopo di valutare il loro possibile utilizzo nella produzione di bio-etanolo. Inoltre, sono state effettuate delle prove sperimentali per valutare la suscettibilità di tali scarti a tre diverse miscele enzimatiche (Driselasi, Cellulasi da *Trichoderma viride* + Macerozima R10 e Cellulasi da *Trichoderma reesei* + Novozima 188) cercando di ottimizzare il processo di saccarificazione.

Le analisi biochimiche hanno rivelato che la lignina costituisce circa il 40% del peso secco (dw) di entrambi gli scarti del carciofo, seguita dai carboidrati (-34,5% dw negli scarti crudi; -28,9% dw negli scarti cotti) e dalle proteine (~14% dw indipendentemente dalla cottura). In entrambi gli scarti il contenuto lipidico è risultato modesto (-4% dw) mentre relativamente abbondante è la componente fenolica (-3,8% dw negli scarti crudi; -2,5% dw negli scarti cotti). La frazione inorganica, rappresentata dalle ceneri, è risultata maggiore negli scarti crudi (8,3%) rispetto a quelli cotti (2,6%) a causa della perdita di sali minerali nell'acqua di cottura. Analogamente, una consistente riduzione nel contenuto di clorofille a e b è evidente negli scarti sbollentati (-81%) data la labilità termica di questi pigmenti. La quantità di  $\beta$ -carotene, pur molto bassa, non subisce variazioni dovute al trattamento termico.

L'idrolisi della componente carboidratica con le diverse miscele enzimatiche ha evidenziato il rilascio

di zuccheri fermentabili (esosi) e non (pentosi) da ceppi *wild-type* di *Saccharomyces cerevisiae*. Cellulasi+Novozima 188 si è dimostrata essere la miscela più efficiente nel processo di saccarificazione di entrambi gli scarti, determinando la conversione del materiale polisaccaridico in zuccheri semplici anche a basse concentrazioni di enzima (<0,5% v/v) e concentrazioni di substrato pari al 10% w/w.

Pertanto, in virtù dell'elevato contenuto in carboidrati, gli scarti analizzati possono essere considerati un'ottima fonte di zuccheri potenzialmente utilizzabili per la produzione di bio-etanolo; tuttavia, a causa dell'altrettanto alto contenuto in lignina e fenoli, sembra opportuno sottoporre tali biomasse a pre-trattamenti estrattivi in modo da allontanare quei composti che possono interferire con le fasi idrolitiche e fermentative. La rimozione della lignina e dei composti fenolici, ad esempio, potrebbe aumentare in maniera considerevole il tasso d'idrolisi enzimatica e permettere una ulteriore riduzione della quantità di enzimi idrolitici (MCMILLAN, 1994). La lignina, infatti, interferisce con l'idrolisi della cellulosa impedendo l'accesso degli enzimi, mentre i fenoli inibiscono gli enzimi idrolitici legandosi in maniera irreversibile a essi (ZHU *et al.*, 2005). I fenoli, inoltre, possono inibire le successive reazioni fermentative grazie alla loro attività antimicrobica (PANAGIOTOU, OLSSON, 2007). Questi pretrattamenti dovrebbero far parte di un processo multistep, dove i composti eliminati trovano applicazioni alternative. I fenoli estratti possono, ad esempio, essere addizionati a formulazioni nutraceutiche come antiossidanti, mentre la lignina trova molteplici impieghi come materiale di partenza per la produzione di numerosi prodotti chimici.

In conclusione l'uso degli scarti agro-industriali provenienti dalla lavorazione di materie prime locali permetterebbe al nostro territorio di progredire verso un modello di sviluppo sostenibile, riducendo al contempo l'inquinamento, l'incidenza di malattie ad esso correlate e migliorando, di conseguenza, la qualità della vita. Tuttavia, a causa della eterogeneità biochimica delle numerose tipologie di scarti agro-industriali, si rende necessaria una attenta caratterizzazione valutando, caso per caso, le migliori strategie di utilizzo.

#### LETTERATURA CITATA

- KUMAR R., SINGH S., SINGH O.M., 2008 – *Bioconversion of lignocellulosic biomass: biochemical and molecular perspectives*. J. Ind. Microbiol. Biotechnol., 35: 377-391.
- MCMILLAN J.D., 1994 – *Pretreatment of lignocellulosic biomass*. In: HIMMEL M.E., BAKER J.O., OVEREND R.P. (Eds.), *Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production*: 292-324. American Chemical Society, Washington, DC.
- PANAGIOTOU G., OLSSON L., 2007 – *Effect of compounds released during pre-treatment of wheat straw on microbial growth and enzymatic hydrolysis rates*. Biotechnol. Bioeng., 96: 250-258.
- SUN Y., CHENG J.Y., 2002 – *Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review*. Bioresour. Technol., 83: 1-11.

- TENGBORG C., GALBE M., ZACCHI G., 2001 – *Influence of enzyme loading and physical parameters on the enzymatic hydrolysis of steam-pretreated softwood*. Biotech. Program, 17: 110-115.
- ZHU X., ZHANG H., LO R., LU Y., 2005 – *Antimicrobial Activities of Cynara scolymus L. Leaf, Head, and Stem Extract*. J. Food Sci., 70(2): 149-152

### Metabolismo dei frutto-oligosaccaridi in piante tipiche del territorio pugliese

A. PARADISO<sup>1</sup>, L. MASTROPASQUA<sup>1</sup> e L. DE GARA<sup>1,2</sup>.  
<sup>1</sup>Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale, Università di Bari. <sup>2</sup>Centro Integrato di Ricerca, Università Campus Biomedico, Roma.

I fruttani sono oligosaccaridi, prevalentemente costituiti da fruttosio, che presentano un particolare interesse dal punto di vista nutrizionale, in particolare per la loro attività prebiotica, per l'effetto positivo sull'assorbimento del calcio e sul mantenimento dell'integrità della mucosa intestinale (ROBERFROID *et al.*, 1998; ABRAMS *et al.*, 2005; KLEESSEN, BLAUT, 2005).

I fruttani sono sintetizzati solo dal 15% delle Angiosperme, tra cui le *Asteraceae*, *Campanulaceae* e *Boraginaceae* tra le dicotiledoni, *Poaceae* e *Liliaceae* tra le monocotiledoni. È noto, inoltre, che le condizioni ambientali, in particolare quelle relative allo stato idrico e termico, influenzano notevolmente il metabolismo dei fruttani, in quanto regolano l'attività degli enzimi coinvolti nei processi di sintesi e idrolisi (VALLURU, VAN DEN ENDE, 2008).

Nel nostro studio il contenuto dei fruttani è stato analizzato in alcune piante tipiche del territorio pugliese, scelte tra quelle appartenenti alle famiglie notoriamente dotate del metabolismo dei fruttani.

Alcune delle piante analizzate presentano livelli significativi di fruttani anche nelle parti eduli: *Muscari comosum* (25 mg/g peso fresco del bulbo) > *Asparagus officinalis* (6 mg/g peso fresco del turione) > *Borago officinalis* (4 mg/g peso fresco delle foglie). Questi dati preliminari, se confrontati a quanto riportato in letteratura (MUIR *et al.*, 2007), suggeriscono che le condizioni ambientali del territorio pugliese possono essere favorevoli all'accumulo di fruttani, anche in piante di interesse agro-alimentare; tuttavia è necessario ampliare l'indagine anche ad altre fasi di sviluppo di queste piante e ad altri periodi di raccolta.

Considerata la complessità degli studi sul metabolismo in piante cresciute in campo, dovuta all'impossibilità di analizzare un dato processo metabolico in condizioni standardizzate, si è pensato di realizzare uno studio sul metabolismo dei fruttani in un sistema sperimentale altamente controllato, quale una coltura in vitro. A tal scopo si è scelto di propagare *M. comosum*, considerata l'elevata capacità di accumulo di fruttani e il particolare carattere di tipicità di questa pianta nel territorio pugliese. I bulbi di *M. comosum*, infatti, sono impiegati da lungo tempo per

preparare piatti e conserve tipiche.

Il prelievo degli espianti è stato effettuato da bulbi preventivamente lavati in acqua corrente e privati delle tuniche esterne. La fase di sterilizzazione è stata completata con un lavaggio in ipoclorito di sodio (1%) addizionato di Tween 20 (2%) e con un lavaggio in una soluzione biocida (PPM= Plant Preservative Mixture- Micropoli). Gli espianti, costituiti dalle gemme apicali e da sezioni del girello, sono stati impiantati su mezzo di coltura solido, del tipo Murashige e Skooge, addizionato di saccarosio (3%), PPM (0.1%) e ormoni (IAA=acido indol acetico; BA=benzil adenina) in un range di concentrazione compreso tra 0.8 mg/l e 1.2 mg/l per BA; 0.2 mg/l e 1 mg/l per IAA.

Le prove effettuate hanno permesso di identificare le concentrazioni ormonali ottimali (BA: 0.8 mg/l ; IAA: 1 mg/l) utili per la propagazione in vitro di *M. comosum*.

Sulle colture, attualmente in fase di stabilizzazione, è stata fatta una verifica preliminare per valutare se, anche in queste condizioni sperimentali, sia attivo il metabolismo dei fruttani. Le analisi effettuate evidenziano un significativo accumulo di tali oligosaccaridi nei tessuti ottenuti nella coltura in vitro (19 mg/g peso fresco), anche se i livelli riscontrati sono leggermente inferiori a quelli dei bulbi commerciali. I germogli ottenuti saranno sottoposti a condizioni di crescita differenti variando l'apporto ormonale, la quantità di saccarosio nel terreno e l'esposizione alla luce, con l'obiettivo di poter ampliare le conoscenze sul ruolo del metabolismo dei fruttani nella crescita e nello sviluppo delle piante ed identificare le condizioni culturali più idonee alla proliferazione e crescita dei bulbi.

### LETTERATURA CITATA

- ABRAMS S.A., GRIFFIN I.J., HAWTHORNE K.M., LIANG L., GUNN S.K., DARLINGTON G., ELLIS K.J., 2005 – *A combination of prebiotic short- and long-chain inulin type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents*. Am. J. Clin. Nutr., 82: 471-476.
- KLEESSEN B., BLAUT M., 2005 – *Modulation of gut mucosal biofilms*. Br. J. Nutr., 93 (Suppl.1): S35-S40.
- MUIR J.G., SHEPHERD S.J., ROSELLA O., ROSE R., BARRET J.S., GIBSON P.R., 2007 – *Fructan and free fructose content of common Australian vegetables and fruit*. J. Agric. Food Chem., 55: 6619-6627.
- ROBERFROID M.B., VAN LOO J., GIBSON G.R., 1998 – *The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products*. J. Nutr., 128: 11-19.
- VALLURU R., VAN DEN ENDE W., 2008 – *Plant fructans in stress environments: emerging concepts and future prospects*. J. Exp. Bot., 59: 2905-2916.

### Studio dell'espressione di geni per HSP in cultivar di grano duro (*Triticum durum* Desf.) con differente capacità di acquisire termotolleranza

S. PATALEO, P. RAMPINO, E. ASSAB, M. DE PASCALI e C. PERROTTA. Di.S.Te.B.A., Università del Salento.

Gli stress abiotici quali siccità, salinità, alte temperature, stress ossidativo e stress da agenti chimici tossici provocano una serie di alterazioni fisiologiche, biochimiche e molecolari che influiscono negativamente sul normale sviluppo delle piante e sulla produttività delle colture. In particolare l'alta temperatura costituisce una delle modificazioni più importanti dell'ambiente, capace di indurre risposte adattative negli organismi sottoposti a questo tipo di sollecitazione. La capacità delle piante di sopravvivere alle alte temperature si basa su due componenti: la termotolleranza costitutiva, che è la capacità intrinseca di sopravvivere alle alte temperature, e la termotolleranza acquisita, cioè la capacità di sopravvivere a temperature normalmente letali dopo un'esposizione ad uno shock termico moderato (acclimatazione) (KLUEVA *et al.*, 2001).

Durante l'evoluzione le piante hanno selezionato diversi meccanismi fisiologici e biochimici per adattarsi e quindi per sopravvivere alle alte temperature. Tra queste la permeabilità, la fluidità e la stabilità della membrana cellulare (SANGWAN *et al.*, 2002). Infatti, la diffusione degli elettroliti dovuta alla perdita dell'integrità della membrana cellulare a causa delle elevate temperature, è considerata un indice del danno causato dallo stress alla cellula. Inoltre, lo stress termico induce la sintesi di proteine, come le *heat shock* (HSP) che sono direttamente coinvolte nella prevenzione degli effetti deleteri che le alte temperature provocano a livello cellulare (MAESTRI *et al.*, 2002).

Scopo di questo lavoro è stato lo studio, a livello fisiologico e molecolare, della risposta allo stress termico di una collezione di cultivar di grano duro (*Triticum durum* Desf). In particolare sono state analizzate 16 diverse cultivar e ne è stato determinato sia il livello di termotolleranza costitutiva che la capacità di acquisire termotolleranza in seguito al trattamento di acclimatazione prima dello shock termico. La valutazione dei genotipi è stata effettuata mediante il test CMS (*Cell Membrane Stability*) (FOKAR *et al.*, 1998), che è in grado di valutare l'ammontare del *leakage* elettrolitico di tessuti vegetali sottoposti a *heat shock* in vitro (52 °C), sfruttando una tecnica conduttimetrica. Il valore che se ne ricava è un indice della sensibilità o resistenza della membrana cellulare e quindi della pianta allo stress termico. Il saggio per la valutazione della termotolleranza acquisita è stato effettuato su piantine di circa 10 giorni poste per 24 ore a 34 °C con un regime di alta umidità relativa, per fornire uno stress moderato; il test CMS è stato eseguito immediatamente dopo l'acclimatazione. I due genotipi che maggiormente differivano nella capacità di tollerare lo stress termico dopo il pre-trattamento, sono stati scelti e utilizzati per le analisi a livello molecolare. In particolare sono stati scelti: Bradano, perché è risultato uno dei più sensibili allo stress e sembra essere incapace di acquisire termotolleranza, e Messapia che, al contrario, acquisisce elevati livelli di termotolleranza dopo l'acclimatazione. Entrambi i genotipi sono stati esposti a differenti condizioni di stress e successivamente è stato

analizzato il profilo di espressione di diversi geni per HSP. Sono stati studiati il gene per HSP101C e quattro geni che codificano per HSP a basso peso molecolare (sHSP) appartenenti a classi differenti (classe P plastidiale, classe M mitocondriale, classe I e classe II citoplasmatiche). Il livello di espressione di questi geni è stato determinato in piantine di entrambi i genotipi sottoposte a differenti regimi termici. I risultati ottenuti hanno evidenziato che i geni HSP sono espressi esclusivamente nelle piantine sottoposte a stress termico; ciò conferma il coinvolgimento delle HSP nei meccanismi di protezione attivati dalle piante in risposta alle alte temperature. Per la maggior parte dei geni analizzati eccetto che per l'HSP mitocondriale non è stato possibile identificare una correlazione significativa tra il livello di espressione e il fenotipo termotollerante. Infatti, il livello di espressione del gene per sHSPM è più alto in Messapia, che è il genotipo termotollerante. Questo risultato conferma i dati riportati in uno studio sui cereali nel quale è stato evidenziato che la presenza di numerose sHSP mitocondriali come avviene in mais è associata ad una termotolleranza più alta rispetto alla termotolleranza del grano e della segale nei quali è presente solo una proteina appartenente a questa classe (WAHID *et al.*, 2007). È quindi ragionevole ipotizzare che l'accumulo del trascritto di questa sHSP potrebbe essere utilizzato come indicatore della termotolleranza nelle piante di grano duro.

Questo lavoro è stato realizzato con i fondi del MIUR (progetto AGROGEN) e del MIPAF (progetto SICerMe).

#### LETTERATURA CITATA

- FOKAR M., BLUM A., NGUYEN H.T., 1998 – *Heat tolerance in spring wheat. II. Grain filling*. Euphytica, 104: 9-15.
- KLUEVA N.Y., MAESTRI E., MARMIROLI N., NGUYEN H.T., 2001 – *Mechanisms of thermotolerance in crops*. In: S.S. BASRA (Ed.), *Crop Responses and Adaptations to Temperature Stress*: 177-217. Food Products Press, Binghamton, NY.
- MAESTRI E., KLUEVA N., PERROTTA C., GULLI M., NGUYEN H., MARMIROLI N., 2002 – *Molecular genetics of heat tolerance and heat shock proteins in cereals*. Plant Mol. Biol., 48: 667-681.
- SANGWAN V., ÖRVAR B. L., BEYERLY J., HIRT H., DHINDSA R.S., 2002 – *Opposite changes in membrane fluidity mimic cold and heat stress activation of distinct plant MAP kinase pathways*. Plant J., 31: 629-638.
- WAHID A., GELANI S., ASHRAF M., FOOLAD M.R., 2007 – *Heat Tolerance in plants: An overview*. Environ. Exp. Bot., 61: 199-223.

#### Acido ascorbico ed auxina: una strana coppia per la percezione delle condizioni ambientali e la regolazione dello sviluppo

M.C. DE TULLIO, Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale, Università di Bari "Aldo Moro".

Le piante, come tutti gli altri organismi viventi, devono integrare gli stimoli ambientali esterni con i

sistemi di comunicazione operanti al loro interno (es. stimoli ormonali) allo scopo di regolare al meglio il proprio sviluppo. I meccanismi molecolari di integrazione delle informazioni esterno/interno sono ancora ben poco conosciuti. L'acido ascorbico (AA), a lungo studiato esclusivamente per il suo ruolo antiossidante, è sempre più considerato una potenziale molecola segnale in grado di percepire variazioni delle condizioni ambientali e tradurle in ulteriori segnali che portano ad attivare le varie risposte dell'organismo (GRANO, DE TULLIO, 2007). Praticamente tutti gli aspetti dello sviluppo della pianta sono sotto il controllo dell'ormone vegetale acido indoloacetico (IAA), la principale auxina. La possibilità di una connessione tra AA ed IAA nella regolazione della crescita fu suggerita già alcuni anni fa (DE TULLIO, ARRIGONI, 1999), ed è stata confermata da un recente studio in cui si osserva come IAA esogeno (1  $\mu$ M) influenzi significativamente il sistema dell'AA in radici di *L. esculentum* (TYBORSKI *et al.*, 2008). L'enzima apoplastico AA ossidasi (AAO) potrebbe intervenire nel *cross-talk* tra AA ed IAA, in quanto è noto che IAA ed altre auxine sintetiche ne inducono l'espressione. Sono stati condotti alcuni esperimenti allo scopo di verificare l'ipotesi di una relazione tra AA ed IAA. I dati fin qui ottenuti dimostrano che la somministrazione di IAA (100 nM) induce un significativo aumento del contenuto di AA ed un aumento dell'attività di AAO in apici radicali di *Cucurbita maxima* Duchesne. Viceversa, usando una linea di *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. che esprime il gene codificante per la *Green Fluorescent Protein* (GFP) sotto il controllo del promotore sintetico DR5 (indotto da IAA), è stato possibile osservare che la tipica distribuzione di IAA nel centro quiescente dell'apice radicale risulta alterata in risposta a diversi composti che modificano il contenuto di AA ed il rapporto tra AA e la sua forma ossidata acido deidroascorbico (DHA). Questi dati confermano una interazione AA-IAA-AAO che sarà oggetto di ulteriori studi.

#### LETTERATURA CITATA

- DE TULLIO M.C., ARRIGONI O., 1999 – *Ascorbic acid and plants: multiple roles and new perspectives*. Curr. Topics Phytochem., 2: 135-143
- GRANO A., DE TULLIO M.C., 2007 – *Ascorbic acid as a sensor of oxidative stress and a regulator of gene expression: the Yin and Yang of vitamin C*. Med. Hypoth., 69: 953-954
- TYBORSKI J., KRZEMIŃSKI Ł., TRETYN A., 2008 – *Exogenous auxin affects ascorbate metabolism in roots of tomato seedlings*. Plant Growth Reg., 54: 203-215.

#### Indagini preliminari sull'effetto di acqua ozonata sui sistemi enzimatici di difesa in piantine di *Cucumis melo* L.

S. DE LEONARDIS, F. CICCARESE e C. PACIOLLA.  
Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale,  
Università di Bari "Aldo Moro".

L'ozono ( $O_3$ ) è una specie chimica altamente reattiva composta da tre atomi di ossigeno. Come forte ossidante (o come generatore di radicali liberi) a livello fogliare esso può causare differenti sintomi inclusi clorosi e necrosi, che possono portare a seri problemi per la sopravvivenza della pianta. Questo succede quando la capacità di detossificazione biochimica cellulare non riesce a prevenire le ossidazioni  $O_3$ -indotte. L'ozono, infatti, si decompone rapidamente nella fase acquosa della matrice apoplastica originando specie reattive dell'ossigeno (ROS). Tuttavia, grazie alla presenza a livello apoplastico di acido ascorbico e altri scavengers di ROS, la maggior parte dell'ozono con cui la pianta viene a contatto è distrutto preservando così l'integrità della membrana plasmatica (CHAMEIDES, 1989; CONKLIN, BARTH, 2004). Le ROS sono considerate, tuttavia, anche molecole segnali che inducono il potenziamento dei sistemi antiossidanti nei processi di detossificazione cellulare (BOLWELL, 1999; FOYER, NOCTOR, 2005). Per contro è stato riportato che l'acqua ozonata è di utile impiego per il suo potere antibatterico e antivirale. Pertanto sulla base di ciò, attraverso approcci biochimici e fitopatologici, sono state condotte indagini preliminari per accertare se applicazioni limitate di acqua ozonata su piantine di melone (*Cucumis melo* L.) possono potenziare i meccanismi di difesa nella pianta quando questa è attaccata da funghi fitopatogeni quali *Sphaerotheca fusca* (Schlecht. ex Fr.) Poll.

In particolare è stata studiata l'attività degli enzimi "sensori" dello stress ossidativo quali ascorbato perossidasi, perossidasi generiche, superossido dismutasi e catalasi (TOMMASI *et al.*, 1998) in radici di piantine di melone dopo trattamento con acqua ozonata e trasferimento delle piantine stesse in terreno ed in vermiculite. Le analisi condotte hanno evidenziato una differente situazione nelle risposte dell'apparato radicale in relazione al substrato considerato (terreno o vermiculite). In particolare è risultato che nel terreno l'attività della catalasi è maggiormente potenziata dopo il trattamento con acqua ozonata, mentre l'attività degli altri enzimi antiossidanti rimane invariata. In vermiculite invece l'attività degli enzimi studiati dopo il trattamento con acqua ozonata diminuisce fino a scomparire del tutto.

#### LETTERATURA CITATA

- BOLWELL G.P., 1999 – *Role of active oxygen species and nitric oxide in plant defense responses*. Curr. Opin. Plant Biol., 2: 287-294.
- CHAMEIDES W.L., 1989 – *The chemistry of ozone deposition to plant leaves: the role of ascorbic acid*. Environ. Sci. Technol., 23: 595-600.
- CONKLIN P.L., BARTH C., 2004 – *Ascorbic acid, a familiar small molecule intertwined in the response of plant to ozone, pathogens, and the onset of senescence*. Plant Cell Environ., 27: 959-970.
- FOYER C.H., NOCTOR G., 2005 – *Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context*. Plant Cell Environ., 28: 1056-1071.
- TOMMASI F., PACIOLLA C., ARRIGONI O., 1998 – *The ascorbate system in recalcitrant and orthodox seeds*. Physiol. Plant., 105: 193-198.

### Variazioni di alcuni sistemi antiossidanti nelle interazioni *Vitis vinifera* (L.) cv. Italia e funghi associati al “mal dell’esca”

G. BRUNO, M.P. IPPOLITO, L. SPARAPANO e F. TOMMASI. Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale, Università di Bari “Aldo Moro”.

Il ‘mal dell’esca’, ampelopatia che si accompagna da secoli alla vite, è caratterizzato da sintomi che colpiscono gli organi interni ed esterni della pianta. Nelle piante adulte (8-10 anni o più vecchie) ricorrente è la carie bianca del legno, spesso delimitata da aree colonnari bruno-nerastre. In concomitanza o prima di questi sintomi si possono notare, in sezione trasversale macchie puntiformi bruno-nerastre che, osservate in sezione longitudinale, formano striature di colore rosa-bruno (venature brune), più o meno estese a seconda dell’età della pianta e della cerchia legnosa colonizzata dai patogeni. Sulle foglie, nei mesi di luglio e agosto, si osservano dapprima maculature clorotiche lungo i bordi che, col passar del tempo, confluiscono negli spazi internodali (irradiandosi a ventaglio), mentre le aree periferiche virano ad una colorazione giallo-bruna o rosso-bruna (a seconda delle cultivar) e le aree centrali imbruniscono e necrotizzano. La somma delle alterazioni conduce alla facies di “tigratura”. Sugli acini, i sintomi compaiono durante l’invasatura: piccole macchie bruno-violacee, molto evidenti su uve bianche, necrotiche, irregolari o confluenti fino a formare delle aree estese. In vigneti vecchi è ricorrente, nei mesi caldi dell’anno, l’apoplezia dei tralci. Agenti eziologici di questa complessa fitopatia sono: *Fomitiporia mediterranea* Fischer (Fme), basidiomicete agente della carie del legno (FISCHER, 2006), e due micromiceti tracheofili associati alle venature brune: *Togninia minima* (Tull & C. Tull) Berl. (Tmi; anamorrofo: *Phaeoacremonium aleophilum* W. Gams Crows & M.J. Wingf.) e *Phaeoconiella chlamydospora* W. Gams Crows, M.J. Wingf & L. Mugnai (Pch). La variegata sintomatologia del ‘mal dell’esca’ ha dapprima suggerito, e successivamente confermato, il ruolo dei metaboliti secondari prodotti dai patogeni nell’evoluzione dei sintomi. Infatti, Pch e Tmi, producono in vitro ed in planta metaboliti fitotossici: aglucani (pullulano) e pentacetidi naftalenonici (scitalone e isosclerone). Queste tre sostanze, saggiate su foglie e grappoli di vite da sole o in combinazione, causano sintomi molto simili a quelli osservati in campo su piante affette da ‘mal dell’esca’ (BRUNO, SPARAPANO, 2006; BRUNO *et al.*, 2007). Scopo del presente lavoro è stato un’attenta indagine biochimica e fisiologica su piante sane di *Vitis vinifera* L. cv. Italia, coltivata a “tendone” in agro di Noicattaro (Bari) e su piante della stessa cultivar manifestanti sintomi evidenti di venature brune (VB, associate alla presenza nel legno di Pch+Tmi), e di venature brune e carie (VB+C, associata a Pch+Tmi+Fme). Da piante di ciascuna delle tre classi, sono state raccolte foglie in corrispondenza di quattro fasi fenologiche:

“foglie distese”, “allegazione”, “chiusura del grappolo” e “grappolo maturo”. Nelle ultime due fasi fenologiche, nelle piante malate, sono state analizzate foglie asintomatiche e foglie sintomatiche. Su ciascun campione di foglie raccolte sono state determinate le concentrazioni di pullulano, scitalone e isosclerone, clorofilla ed H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Particolare attenzione è stata rivolta ai metaboliti fitotossici di origine fungina, agli antiossidanti ascorbato e glutazione, al loro stato redox e all’attività degli enzimi coinvolti nel loro metabolismo. Pullulano, scitalone e isosclerone sono risultati assenti nelle foglie raccolte nelle prime due fasi fenologiche e presenti nelle ultime due, sia nei campioni raccolti sia da piante con VB che da piante con VB+C. Nessuna delle tre sostanze è stata estratta da foglie sane. La concentrazione della clorofilla è diminuita nel corso delle quattro fasi fenologiche, soprattutto nelle foglie raccolte da piante con infezione duale (Pch+Tmi) e tripla (Pch+Tmi+Fme). La riduzione maggiore è stata riscontrata nelle foglie affette da “tigratura”. Nelle piante con sintomi di VB e di VB + C, il contenuto in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nelle foglie raccolte durante le quattro fasi fenologiche considerate è risultato circa tre volte maggiore di quello delle foglie di piante sane. All’incremento della H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> si è contrapposta la riduzione del contenuto di enzimi antiossidanti e dello stato redox. Nelle fasi di “chiusura del grappolo” e di “grappolo maturo”, nelle foglie raccolte da piante infette, l’attività degli enzimi coinvolti nel ciclo ascorbato/glutazione è diminuita del 41-61% rispetto a quella riscontrata nelle foglie di piante sane. Sembra quindi che, nel “mal dell’esca”, determinanti chimici di virulenza dei patogeni (fitotossine) contribuiscano alla patogenesi ed alla manifestazione dei sintomi ed inducano nell’ospite condizioni di stress ossidativo. In questo stato, la pianta ospite manifesterà in parte o in toto le alterazioni biochimiche e fisiologiche determinatesi nei tessuti attraverso i sintomi.

#### LETTERATURA CITATA

- BRUNO G., SPARAPANO L., 2006 – *Effects of three esca-associated fungi on Vitis vinifera L. II. Characterization of biomolecules in xylem sap and leaves of healthy and diseased vines*. *Physiol. Mol. Plant Path.*, 69: 195-208.
- BRUNO G., SPARAPANO L., GRANITI A., 2007 – *Effects of three esca-associated fungi on Vitis vinifera L. IV. Diffusion through the xylem of metabolites produced by two tracheophilous fungi in the woody tissue of grapevine leads to esca-like symptoms on leaves and berries*. *Physiol. Mol. Plant Path.*, 71: 116-124.
- FISCHER M., 2006 – *Biodiversity and geographic distribution of basidiomycetes causing esca-associated white rot in grapevine: a worldwide perspective*. *Phytopath. Medit.*, 45(S): S30-S42.

### Caratterizzazione istologica e biochimica di tuberi di *Nephrolepis cordifolia* (L.) Presl

C. FASCIANO<sup>1</sup>, G. BRUNO<sup>1</sup>, L. D’AQUINO<sup>2</sup> e F. TOMMASI<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Dipartimento di Biologia e Patologia

Vegetale, Università di Bari "Aldo Moro". <sup>2</sup>ENEA, Centro di Ricerche di Portici (Napoli).

Le Pteridofite, comunemente note come felci, sono forse gli organismi vegetali più antichi al mondo. La loro presenza, infatti, è testimoniata già a partire dall'Era Paleozoica ed ha poi visto un incremento dal Carbonifero (DiMICHELE, PHILLIPS, 2002). Le conoscenze generali su questi organismi vegetali, soprattutto riguardanti gli aspetti fisiologici e metabolici, sono ancora molto scarse sebbene esse sembrino essere molto resistenti a condizioni di stress, compreso quello derivante dal bioaccumulo di metalli pesanti nei loro tessuti (TU *et al.*, 2004; SRIVASTAVA *et al.*, 2005; GONZAGA *et al.*, 2006; RATHINASABAPATHI *et al.*, 2006; OLIVARES *et al.*, 2008). Fra le felci ci sono specie esotiche che sono ormai entrate a far parte del nostro panorama floristico in quanto largamente utilizzate per scopi ornamentali, tra cui quelle appartenenti ai generi *Nephrolepis* e *Pteris*.

Il genere *Nephrolepis*, in particolare, vanta una varietà di forme e specie tra le quali le due più comuni sono *Nephrolepis exaltata* L. e *Nephrolepis cordifolia* (L.) Presl. Queste due specie hanno caratteristiche morfologiche simili a livello della parte aerea mentre la parte ipogea presenta caratteristiche nettamente diverse tra le due specie: *N. cordifolia*, infatti, possiede organi sotterranei detti "tuberi" che sono assenti in *N. exaltata*. *N. exaltata* è stata maggiormente studiata ed in letteratura essa viene presentata come accumulatrice di mercurio (CHEN *et al.*, 2008), mentre scarse sono le informazioni riguardanti *N. cordifolia*. Lo scopo principale di questo lavoro è stato quello di indagare le caratteristiche biologiche di *N. cordifolia* ed analizzare e caratterizzare i principali sistemi antiossidanti al fine di valutare le cause della resistenza della specie agli stress. Sono state fatte osservazioni istologiche della fronda, del rachide e soprattutto dei tuberi. In questi è stato valutato il contenuto d'acqua, la presenza di polisaccaridi con tecniche sia di tipo qualitativo che quantitativo, la presenza di metaboliti ed enzimi con funzioni antiossidanti. I dati ottenuti hanno dimostrato come i tuberi siano principalmente organi di riserva di acqua, amido, saccarosio e fruttosio. Essi contengono acido ascorbico e glutazione. Indagini microscopiche ed isolamenti su substrati selettivi hanno evidenziato la presenza di endofiti fungini nella parte radicale.

#### LETTERATURA CITATA

- CHEN J., SHIYAB S., HAN E.X., MONTS D.L., WAGGONER C.A., YANG Z., SU Y., 2008 – *Bioaccumulation and physiological effects of mercury in Pteris vittata and Nephrolepis exaltata*. *Ecotoxicol.*, 18: 110-121.
- DiMICHELE W. A., PHILLIPS T. L., 2002 – *The ecology of Paleozoic ferns*. *Rev. Paleobot. Palynol.*, 119: 143-159.
- GONZAGA M.I.S., SANTOS J.A.G., LENA Q.M.A., 2006 – *Arsenic chemistry in the rhizosphere of Pteris vittata L. and Nephrolepis exaltata L.* *Environ. Pollut.*, 143: 254-260.
- OLIVARES E., PEÑA E., MARCANO E., MOSTACERO J.,

- AGUIAR G., BENÍTEZ M., RENGIFO E., 2008 – *Aluminum accumulation and its relationship with mineral plant nutrients in 12 pteridophytes from Venezuela*. *Environ. Exp. Bot.* (in stampa).
- RATHINASABAPATHI B., SRIVASTAVA M., MA L. Q., 2006 – *Arsenic Hyperaccumulating Ferns and their Application to Phytoremediation of Arsenic Contaminated Sites*. *Global Science Books, III*: 304-311.
- SRIVASTAVA M., MA L.Q., SINGH N., SINGH S., 2005 – *Antioxidant responses of hyper-accumulator and sensitive fern species to arsenic*. *J. Exp. Bot.*, 56: 1335-1342.
- TU S., MA L., LUONGO T., 2004 – *Root exudates and arsenic accumulation in arsenic hyperaccumulating Pteris vittata and non hyperaccumulating Nephrolepis exaltata*. *Plant Soil*, 258: 9-19.

#### Ruolo delle variazioni di sistemi antiossidanti indotte dall'esposizione ad alcune "terre rare" nelle risposte a stress abiotici in specie modello

M.P. IPPOLITO<sup>1</sup>, C. FASCIANO<sup>1</sup>, L. D'AQUINO<sup>2</sup> e F. TOMMASI<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale, Università di Bari "Aldo Moro". <sup>2</sup>ENEA, Centro di Ricerche di Portici (Napoli).

Le piante sono frequentemente sottoposte a stress, cioè a condizioni esterne che influenzano negativamente la loro crescita, sviluppo e produttività. Nelle piante gli stress inducono risposte complesse che coinvolgono l'espressione genica e il metabolismo. Tra le risposte riscontrate a livello cellulare in caso di stress, vi è un incremento di specie reattive dell'ossigeno (ROS), che comunque vengono prodotte anche in condizioni fisiologiche durante processi quali la respirazione cellulare e la fotosintesi, e variazioni dei principali sistemi antiossidanti che controllano i livelli di ROS (MITTLER, 2002). Le ROS più comunemente riscontrate nella cellula vegetale sono il perossido d'idrogeno e l'anione superossido. Fra i sistemi cellulari che controllano il livello di ROS al fine di evitare gli effetti negativi di esse (perossidazione lipidica, danneggiamento degli acidi nucleici e delle proteine) vi sono metaboliti, quali l'acido ascorbico (ASC) e il glutatione (GSH), ed enzimi quali quelli coinvolti nel ciclo dell'ascorbato-glutazione, la catalasi e la superossido dismutasi.

Negli ultimi decenni si è diffuso, soprattutto nei Paesi orientali, l'uso di fertilizzanti e spray fogliari contenenti "terre rare" con l'intento di aumentare la produttività e la tolleranza a stress (HU *et al.*, 2004). In letteratura esistono dati che mostrano come opportune concentrazioni di lantanio promuovono la resistenza alla siccità (DIATLOFF *et al.*, 1995), riducono i danni alle membrane biologiche indotti da stress osmotico (ZENG *et al.*, 1999) e alleviano lo stress ossidativo (ZHANG *et al.*, 2003) in piante di grano. Il lantanio inoltre riduce i danni cellulari da freddo in cellule di mais in coltura (CHEN, LI, 2001). Alterazioni dei sistemi antiossidanti sono state osservate in *Lemna minor* L. con un significativo aumen-

to delle attività degli enzimi coinvolti nel ciclo ascorbato-glutatione dopo trattamenti con nitrato di lantanio e con una miscela di nitrati di lantanidi in rapporti di concentrazione noti. Tali effetti sembrano correlati sia alla concentrazione che alla durata del trattamento (IPPOLITO *et al.*, 2007). Alterazioni dei sistemi antiossidanti sono state anche osservate in grano (D'AQUINO *et al.*, 2009) e fagiolo (TOMMASI *et al.*, 2006).

Scopo del presente lavoro è stato lo studio degli effetti di pre-trattamenti con nitrato di lantanio e con una miscela di nitrati di diverse terre rare leggere (La, Ce, Pr, Nd), in rapporti di concentrazione noti, nelle risposte da stress in due specie modello, una acquatica, *Lemna minor*, ed una terrestre, *Lycopersicon esculentum* Mill. sottoposte rispettivamente a raffreddamento e a siccità. I dati ottenuti hanno evidenziato che benché i pre-trattamenti inducano significative stimolazioni nei sistemi antiossidanti, non si osserva un miglioramento nella risposta allo stress. Infatti le piantine di *L. minor* risultano essere meno tolleranti al freddo e quelle di pomodoro più suscettibili alla siccità. Il significato delle alterazioni degli antiossidanti viene discusso.

#### LETTERATURA CITATA

- CHEN W.P., LI P.H., 2001 – *Chilling induced Ca<sup>2+</sup> overload enhances production of active oxygen species in maize (Zea mays L.) cultured cells: the effect of abscisic acid treatment*. Plant Cell Environ., 24: 91-800.
- D'AQUINO L., DE PINTO M.C., NARDI L., MORGANA M., TOMMASI F., 2009 – *Effect of some light Rare Earth Elements on seed germination, seedling growth and antioxidant metabolism in Triticum durum*. Chemosphere (in stampa).
- DIATLOFF E., SMITH F.W., ASHER C.J., 1995 – *Rare earth elements and plant growth. I: Effects of lanthanum and cerium on root elongation of corn and mungbean*. J. Plant Nutr., 18: 1963-1976.
- HU Z., RICHTER H., SPAROVEK G., SCHNUG E., 2004 – *Physiological and biochemical effects of Rare Earth elements on plants and their agricultural significance: a Review*. J. Plant Nutr., 27: 183-220.
- IPPOLITO M.P., PACIOLLA C., L. D'AQUINO, M. MORGANA, TOMMASI F., 2007 – *Effect of rare earth elements on growth and antioxidant metabolism in Lemna minor L.* Caryologia, 60: 125-128.
- MITTLER R., 2002 – *Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance*. Trends Plant Sci., 7: 405-410.
- TOMMASI F., BIANCO L., PACIOLLA C., NARDI L., MORGANA M., D'AQUINO L., 2006 – *Effetto di alcune "terre rare" sulla germinazione dei semi e sulla crescita di plantule di Phaseolus vulgaris L.* Inform. Bot. Ital., 38: 182-183.
- ZENG F.L., AN Y., ZHANG H.T., ZHANG M.F., 1999 – *The Effects of La<sup>3+</sup> on the Peroxidation of Membrane Lipids in wheat seedling leaves under osmotic stress*. Biol. Trace Elem. Res., 69: 141-150.
- ZHANG L., ZENG F., XIAO R., 2003 – *Effect of Lanthanum Ions (La<sup>3+</sup>) on the Reactive Oxygen Species Scavenging Enzymes in Wheat Leaves*. Biol. Trace Elem. Res., 91: 243-255.

#### Risposte morfofisiologiche di espianti di *Lilium* 'Helvetia' a differenti livelli di salinità, durante la proliferazione 'in vitro'

M. GRAMEGNA, C. FASCIANO, G. BORRACCINO, F. TOMMASI e L. MASTROPASQUA. Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale, Università di Bari "Aldo Moro"

L'elevata concentrazione di sali nel terreno, dovuta anche a irrigazioni con acque salmastre, rappresenta per le coltivazioni causa di stress che può essere tollerato in modo diverso a seconda della specie. Diversi sono i meccanismi coinvolti nelle risposte allo stress salino fra cui l'accumulo di soluti compatibili, come zuccheri e amminoacidi, in vari compartimenti cellulari (HASEGAWA *et al.*, 2000; MUNNS, 2002; BARTELS, SUNKAR, 2005). In letteratura esistono numerosi dati relativi alla tolleranza allo stress salino soprattutto in piante di interesse agro-alimentare (ROUSSOS *et al.*, 2007). Pochi studi hanno affrontato specificatamente il problema per le piante ornamentali (FORNES *et al.*, 2007) e in particolare per il genere *Lilium*, benché la sua coltivazione abbia notevole interesse economico. In un precedente lavoro è stato messo a punto un protocollo di micropropagazione *in vitro* di piante di *Lilium* 'Helvetia', varietà da fiore reciso molto apprezzata e commercializzata (D'ANIELLO *et al.*, 2006). In questo studio è stata saggiata la capacità rigenerativa di scaglie di bulbo di *Lilium* 'Helvetia' su terreno addizionato di NaCl, al fine di valutare le risposte di tale varietà allo stress salino e ottenere informazioni utili alla selezione di piante pre-condizionate a terreni irrigati con acque salmastre (FRANCO *et al.*, 2006). Scaglie provenienti da bulbilli coltivati su Murashighe e Skoog (MS), sono state trasferite su MS addizionato di IAA 3,3 µM, BA 2,2 µM e saccarosio al 3%, secondo il protocollo precedentemente messo a punto (D'ANIELLO *et al.*, 2006). Lo stress salino è stato indotto aggiungendo al mezzo di coltura NaCl 10, 30 e 60 mM. Dopo 3 mesi, in camera di crescita a 24±2°C con fotoperiodo di 16 ore di luce d'intensità pari a 70 µm × m<sup>-2</sup> × s<sup>-1</sup>, sono stati valutati parametri di crescita e morfologici relativi alla numerosità, peso e dimensioni dei bulbilli nati da ogni scaglia e parametri fisiologici come il contenuto in clorofilla, acido ascorbico, zuccheri solubili ed amido. La proliferazione degli espianti si è verificata in tutte le condizioni di salinità e in presenza di terreno con NaCl 60 mM si sono formati numerosissimi bulbilli se pur di dimensioni ridotte. Lo stato redox dell'ascorbico, come rapporto AA/AA+DHA, mostra un incremento all'aumentare della salinità del terreno e ciò suggerisce un potenziamento dei sistemi antiossidanti che controllano le specie reattive dell'ossigeno prodotte in maggior quantità in conseguenza dello stress salino. Il contenuto degli zuccheri solubili rimane invariato all'aumentare della salinità mentre l'amido, di cui i bulbilli - essendo strutture di riserva - sono par-

ticolarmente ricchi, diminuisce soprattutto in presenza di NaCl 60 mM. Tali dati suggeriscono che la varietà tollera elevate concentrazioni di sale e che il protocollo di micropropagazione risulta essere efficace anche alle massime concentrazioni di NaCl, producendo bulbilli di minori dimensioni, ma in numero elevato. Ulteriori studi saranno condotti per meglio caratterizzare i cambiamenti fisiologici e metabolici in risposta allo stress salino valutando, inoltre, la capacità di sviluppo di piantine ottenute dalle subcolture in terreni a differente salinità.

#### LETTERATURA CITATA

- BARTELS D., SUNKAR R., 2005 – *Drought and salt tolerance in plants*. Crit. Rev. Plant Sci., 24: 23-58.
- D'ANIELLO G., BORRACCINO G., MASTROPASQUA L., 2006 – *Rigenerazione 'in vitro' di bulbilli da espunti di foglia, nodo e internodio di fusto del Lilium Orientale 'Helvetia'*. Inform. Bot. Ital., 38(1): 179-180.
- FORNES F., BELDA R. M., CARRIÒN C., NOGUERA V., GARCÍA-AGUSTÍN P., ABAD M., 2007 – *Pre-conditioning ornamental plants to drought by means of saline water irrigation as related to salinity tolerance*. Sci. Hortic., 113: 52-59.
- FRANCO J.A., MARTÍNEZ-SÁNCHEZ J.J., FERNÁNDEZ, J.A., BAÑÓN S., 2006 – *Selection and nursery production of ornamental plants for landscaping and xerogardening in semi-arid environments*. J. Hort. Sci. Biotechnol., 81: 3-17.
- HASEGAWA P.M., BRESSAN R.A., ZHU J.K., BOHNERT H.J., 2000 – *Plant cellular and molecular responses to high salinity*. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 51: 463-499.
- MUNNS R., 2002 – *Comparative physiology of salt and water stress*. Plant Cell Env., 25: 239-250.
- ROUSSOS P. A., GASPARATOS D., TSANTILI E., PONTIKIS C.A., 2007 – *Mineral nutrition of jojoba explants in vitro under sodium chloride salinity*. Sci. Hortic., 114: 59-66.

#### Sulla presenza di una nuova associazione a *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. & Link e *Fumana scoparia* Pomel nell'Arco Jonico tarantino (Puglia)

- L. FORTE<sup>1</sup>, F. CARRUGGIO<sup>2</sup> e F. MANTINO<sup>3</sup>.  
<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze delle Produzioni Vegetali - Museo Orto Botanico, Università di Bari.  
<sup>2</sup>Dipartimento DACPA, Università di Catania.  
<sup>3</sup>Dipartimento DiSACD, Università di Foggia.

*Fumana scoparia* Pomel è specie stenomediterranea diffusa in maniera localizzata e discontinua a partire dalla Spagna ed il Nord-Africa fino al Libano e alla Siria, su rupi calcaree e in garighe, a quote comprese tra 0 e 800 m s.m., ma anche fino a 2000 m s.m. in Africa settentrionale (BALDINI, 1999). In Italia è estremamente localizzata, essendo stata segnalata nel '800 in stazioni isolate solo in tre regioni, Sicilia, Puglia sul Promontorio del Gargano e Toscana all'Isola del Giglio, ma riconfermata solo in quest'ul-

tima (BALDINI, 1999). Dalla letteratura, infatti, non risultano dati recenti circa la presenza di questa entità in Puglia e Sicilia (SCOPPOLA, SPAMPI-NATO, 2005; GIARDINA *et al.*, 2007), sebbene CONTI *et al.* (2005) la riportino per la Sicilia. Recentemente, tuttavia, è stata rinvenuta in Puglia nel territorio dell'Arco Jonico tarantino ed in Basilicata a Matera (CARRUGGIO, FORTE, in stampa) in garighe camefitiche, dove concorre con *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. & Link a determinarne la fisionomia.

Per fornire un contributo all'inquadramento sistematico di queste garighe è stata condotta un'analisi della vegetazione sulla base di 21 rilievi fitosociologici eseguiti con il metodo della scuola sigmatista di Zurigo-Montpellier nel territorio dell'Arco Jonico tarantino compreso tra i comuni di Ginosa e Statte. I rilievi sono stati sottoposti ad analisi statistica con tecniche di classificazione ed ordinamento, utilizzando i valori di copertura trasformati secondo la scala di van der Maarel. La matrice iniziale è stata ottenuta eliminando tutte le specie con frequenza inferiore al 10% ed i rilievi sottoposti a classificazione gerarchica con la tecnica del legame medio sulla base della matrice di dissimilarità, calcolata con il reciproco della funzione *similarity ratio*. Impiegando la stessa matrice, i rilievi sono stati ordinati attraverso l'Analisi delle Coordinate Principali.

Sulla base dell'analisi floristico-sociologica per le garighe in esame si propone l'istituzione di una nuova associazione (*Fumano scopariae-Thymetum capitati*) che, seguendo la revisione sintassonomica di BIONDI (2000), viene riferita all'ordine *Rosmarinetalia officinalis* Br.-Bl. ex Molinier 1934 della classe *Rosmarinetea officinalis* Rivas-Martínez, T.E. Díaz, F. Prieto, Loidi & Penas 1991. Le garighe riferibili a questa associazione si rinvencono tipicamente su substrato roccioso di natura calcarea, a quote comprese tra circa 100 e 300 m s.m., in aree con fitoclima mesomediterraneo oceanico a tendenza continentale ( $Ic > 17$ ), con ombrotipo secco o sub-umido. In esse a *T. capitatus* e *F. scoparia* si associano, a volte con discreti valori di copertura, anche *Fumana thymifolia* (L.) Spach., *Fumana ericoides* (Cav.) Gand., *Helianthemum jonium* Lacaíta, *Satureja cuneifolia* Ten. e, con minore frequenza, *Fumana laevis* (Cav.) Pau. Questa nuova associazione si distingue dalle altre descritte per l'alleanza *Cisto eriocephali-Ericion multiflorae* Biondi 2000, a cui anch'essa viene riferita, per la presenza delle specie considerate caratteristiche e/o differenziali *F. scoparia*, *S. cuneifolia*, *Jurinea mollis* (L.) Rchb. subsp. *mollis* e *Linum austriacum* L. subsp. *tommasinii* (Rchb.) Greuter & Burdet. Le ultime tre, in particolare, sono tutte interessanti specie del contingente floristico orientale che permettono di distinguere questa associazione dalle altre floristicamente analoghe ed in modo specifico da *Rosmarino-Thymetum capitati* Furnari 1965 e da *Helianthemo jonii-Thymetum capitati* Biondi & Guerra 2008, recentemente descritta per questo stesso territorio (BIONDI, GUERRA, 2008). Oltre all'aspetto tipico (*fumanetosum scopariae*), anche sulla scorta dei risultati della

classificazione e dell'ordinamento, è possibile distinguere uno maggiormente termofilo. Quest'ultimo, che si propone di inquadrare nella subassociazione *fumanetosum laevis*, si differenzia per la presenza di *F. laevis* e *Pinus halepensis* Mill., oltre che per una minore partecipazione di *F. ericoides* ed una maggiore presenza in termini di copertura di *S. cuneifolia* e *Rosmarinus officinalis* L. L'assetto corologico della nuova associazione proposta è caratterizzato nettamente da specie circummediterranee. La significativa partecipazione di specie endemiche, subendemiche e del contingente floristico orientale (Est-Mediterranee e SE-Europee) permette di differenziarla nell'ambito di *syntaxa* mediterranei a carattere centro-occidentale a cui è riferita e ne evidenzia l'importanza fitogeografica. La presenza, infine, con frequenza elevata di *H. jonium*, *Hippocrepis glauca* Ten. e *Stipa austroitalica* Martinovsky subsp. *austroitalica* permette di ipotizzare l'istituzione di una nuova sub-alleanza (*Helianthemion jonii*) nell'ambito di *Cisto-Ericion multiflorae*, che raggrupperebbe le comunità di gariga su substrato roccioso calcareo dell'Italia sud-orientale. Infatti, l'analisi comparata, svolta per ora solo a livello qualitativo, delle garighe indagate e di altre floristicamente analoghe presenti in Puglia e Basilicata ha evidenziato la costante presenza delle specie in precedenza indicate.

#### LETTERATURA CITATA

- BALDINI R.M., 1999 – *Fumana scoparia* Pomel (Cistaceae): *considerations on a poorly known species for the Italian flora*. Webbia, 54 (1): 73-84.
- BIONDI E., 2000 – *Syntaxonomy of the Mediterranean chamaephytic and nanophanerophytic vegetation in Italy*. Coll. Phytosoc., 27: 123-145.
- BIONDI E., GUERRA V., 2008 – *Vegetazione e paesaggio vegetale delle gravine dell'arco jonico*. Fitosociologia, 45 (1) suppl. 1: 57-125.
- CARRUGGIO F., FORTE L., – *Notulae alla checklist della flora vascolare italiana*. Inform. Bot. Ital. (in stampa).
- CONTI F., ABBATE G., ALESSANDRINI A., BLASI C. (Eds.), 2005 – *An Annotated Checklist of the Italian Vascular Flora*. Palombi Editori, Roma. 420 pp.
- GIARDINA G., RAIMONDO F.M., SPADARO V., 2007 – *A catalogue of plants growing in Sicily*. Bocconea, 20:1-582.
- SCOPPOLA A., SPAMPINATO G. (Eds.), 2005 – *Atlante delle specie a rischio di estinzione*. CD-ROM in: SCOPPOLA A., BLASI C. (a cura di), *Stato delle conoscenze sulla Flora vascolare d'Italia*. Palombi Editori, Roma. 253 pp.

#### Indagini preliminari per lo studio dell'ecologia della germinazione dei semi di *Phillyrea latifolia* L.

L. FORTE, S. ANIFANTIS, V. CAVALLARO e F. MACCHIA. Dipartimento di Scienze delle Produzioni Vegetali - Museo Orto Botanico, Università di Bari "Aldo Moro".

*Phillyrea latifolia* L., arbusto o piccolo albero semperverde della famiglia delle *Oleaceae*, è specie steno-

mediterranea ampiamente diffusa nei boschi e nelle macchie sempreverdi a distribuzione circummediterranea della classe *Quercetea ilicis* Br.-Bl. ex A. & O. Bolòs 1950. Meno termofila rispetto alla affine *Phillyrea angustifolia* L. (PIGNATTI, 1982), in Italia è presente in tutte le regioni fatta eccezione di Piemonte e Valle d'Aosta (CONTI *et al.*, 2005). I frutti sono delle drupe sub-sferiche monosperme lunghe sino ad 1 cm, arrotondate o appiattite all'apice, mai acuminate (TUTIN *et al.*, 1972; PIGNATTI, 1982), inizialmente di colore rosso, poi nere a maturità tra ottobre e dicembre. In questa specie, come nella congenere e, comunque, come avviene per tutte le specie a frutti carnosetti appetibili dagli animali, la dispersione dei semi è endo-zoocora, e nello specifico operata da uccelli frugivori di piccola e media taglia (HERRERA, 1984; HERRERA *et al.*, 1994; DEBUSSCHE, ISENMANN, 1994; HERRERA *et al.*, 1998). In letteratura è noto che questa modalità di dispersione può o no incidere sul processo germinativo; nei semi a dormienza fisica ne può indurre la rottura mentre in quelli che non hanno questo tipo di dormienza può aumentare o diminuire oppure lasciare inalterata la percentuale di germinazione (BASKIN, BASKIN, 2001). Nella letteratura scientifica e tecnica, infine, è riportato che i semi di *P. latifolia* presentano una duplice dormienza (una fisica ed una dovuta ad inibitori presenti nell'endosperma) (HERRERA *et al.*, 1994; GARCÍA-FAYOS, 2001) e che per la propagazione per seme sono necessari trattamenti di scarificazione meccanica o chimica in acido solforico per 30 minuti (GARCÍA-FAYOS, 2001; PIOTTO, DI NOI, 2001).

Sulla scorta di queste considerazioni e del fatto che non sono noti studi specifici sul comportamento germinativo dei semi di *P. latifolia* in condizioni controllate, sono state avviate, ed in parte concluse, prove di germinazione in laboratorio ed in campo al fine di indagare il processo germinativo di due popolazioni pugliesi della specie. In questo contributo si riportano solo alcuni dei dati relativi alle prove condotte in laboratorio su semi provenienti dal "Bosco Isola" di Lesina (Foggia), finalizzate a valutare l'effetto della temperatura, del pericarpo carnoso (polpa), della scarificazione chimica e del *chilling* sulla germinazione. Con il termine "seme" è indicato l'insieme del seme e dell'endocarpo legnoso.

Dai risultati ottenuti con le prove effettuate in celle termostate, al buio ed a differenti temperature costanti (3, 6, 9, 12, 15, 21 e 24 ±1 °C) su semi privi di e con polpa, emerge che, una volta rimosso il pericarpo carnoso, i semi non mostrano dormienza né di tipo fisico né di tipo fisiologico. Non è presente, inoltre, neppure una dormienza secondaria indotta dalle basse temperature, come mostrano i risultati delle prove di *chilling* condotte alle temperature di 3 e 6 °C e con durata di 15 e 30 giorni. L'effetto della temperatura sul processo germinativo è risultato statisticamente significativo (F=333,4; p<0,001). Alla temperatura costante di 15 °C la percentuale di germinazione è risultata massima (> 90%), mentre alle temperature più basse (3-9 °C) ed a quella più alta

(24 °C) è diminuita sino ad annullarsi, ma sempre senza incidere sulla vitalità dei semi. Il confronto tra i risultati ottenuti con le prove di scarificazione chimica (acido solforico al 97% per 10, 20 e 30 minuti) ed il controllo non mostra differenze statisticamente significative nella percentuale di germinazione ( $F=1,02$ ;  $p>0,05$ ) ma solo nei tempi medi di germinazione ( $F=9,1$ ;  $p<0,01$ ), che sono di poco più brevi per i semi scarificati. Questi risultati evidenziano che l'ingestione dei frutti da parte degli uccelli ed il passaggio attraverso il loro sistema digerente non incide in maniera importante sul processo germinativo, anche perché la più elevata differenza riscontrata nei tempi medi di germinazione è al massimo di 20 giorni. La predazione dei frutti di questa specie da parte dell'avifauna, quindi, svolgerebbe solo la funzione di rimuovere la polpa e con essa gli inibitori della germinazione evidentemente presenti.

#### LETTERATURA CITATA

- BASKIN C.C., BASKIN J.M., 2001 – *Seeds. Ecology, Biogeography and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic Press, London. 666 pp.
- CONTI F., ABBATE G., ALESSANDRINI A., BLASI C. (Eds.), 2005 – *An Annotated Checklist of the Italian Vascular Flora*. Palombi Editori, Roma. 420 pp.
- DEBUSSCHE M., ISENMANN, P., 1994 – *Bird-dispersed seed rain and seedling establishment in patchy mediterranean vegetation*. *Oikos*, 69 (3): 414-426.
- GARCÍA-FAYOS P., 2001 – *Bases ecológicas para la recolección, almacenamiento y germinación de semillas de especies de uso forestal de la Comunidad Valenciana*. Banc de Llavors Forestals, Valencia. 82 pp.
- HERRERA C.M., 1984 – *A study of avian frugivores, bird-dispersed plants, and their interaction in Mediterranean scrublands*. *Ecol. Monogr.*, 54: 1-23.
- HERRERA C.M., JORDANO P., GUTIÁN J., TRAVESET, A. 1998 – *Annual variability in seed production by woody plants and the masting concept: reassessment of principles and relationship to pollination and seed dispersal*. *Amer. Nat.*, 152: 576-594.
- HERRERA C.M., JORDANO P., LÓPEZ-SORIA L., AMAT J.A., 1994 – *Recruitment of a mast-fruiting, bird-dispersed tree: bridging frugivore activity and seedling establishment*. *Ecol. Monogr.*, 64 (3): 315-344.
- PIGNATTI S., 1982 – *Flora d'Italia*. 2, Edagricole. Bologna.
- PIOTTO B., DI NOI A., 2001 – *Propagazione per seme di alberi ed arbusti della flora mediterranea*. ANPA, Roma.
- TUTIN T.G., HEYWOOD V.H., BURGESS N.A., MOORE D.M., VALENTINE D.H., WALTERS S.M., WEBB D.A. (Eds.), 1972 – *Flora Europaea*. Vol. III. Cambridge University Press.

#### Caratteristiche microclimatiche e geobotaniche della grotta turistica "La Zinzulusa" (Castro, Lecce)

D. D'AGOSTINO<sup>1,2</sup>, L. BECCARISI<sup>3</sup>, S. SIVIERO<sup>2</sup>, R. CATALDO<sup>2</sup> e V. ZUCCARELLO<sup>3</sup>. <sup>1</sup>Scuola Superiore ISUFI, Università del Salento. <sup>2</sup>Dipartimento di Scienza dei Materiali, Università del Salento. <sup>3</sup>Di.S.Te.B.A., Università del Salento.

La Grotta Zinzulusa rappresenta una delle più interessanti manifestazioni del fenomeno carsico nel territorio salentino e risulta tra i siti più importanti dal punto di vista biospeleologico, a livello internazionale, per la ricchezza di specie animali endemiche (PESCE, 2001). L'apertura al pubblico ed il numeroso flusso di turisti a partire dagli anni '50 (CICCARESE, PESCE, 1999) ha determinato una trasformazione dell'ambiente originario. In particolare, un inadeguato impianto di illuminazione a luce incandescente ha favorito lo sviluppo di colonizzazioni vegetali fototrofiche, normalmente assenti in grotta, ed ha costituito un fattore di disturbo per le specie faunistiche. Con lo scopo di risolvere tale problema, nel marzo del 2008 è stato installato un nuovo impianto di illuminazione a luce fredda (*led*), avente caratteristiche relativamente più compatibili con l'ambiente ipogeo. Il presente studio è finalizzato a determinare le condizioni microclimatiche e le caratteristiche delle comunità vegetali della grotta. I risultati preliminari sono riportati in questa nota sinteticamente. Da dicembre 2007 dieci sensori rilevano in continuo temperatura ed umidità all'interno della grotta. Fino a circa metà percorso, lungo circa 150 m, le caratteristiche microclimatiche risentono dell'ambiente esterno. Il sensore posto all'ingresso della grotta registra medie mensili comprese nell'intervallo 12.6-22.6 °C, corrispondenti rispettivamente ai mesi di febbraio ed agosto, mentre gli altri registrano range di temperature progressivamente minori, in funzione della loro posizione più interna alla grotta. L'umidità relativa raggiunge il valore di saturazione dopo circa 90 m dall'ingresso, e resta tale per il resto del percorso. Sono state inoltre realizzate due serie di misure di luminosità all'interno della grotta con l'ausilio di un luxmetro, prima e dopo la sostituzione dell'impianto d'illuminazione. Da queste si osserva come l'intensità luminosa nella grotta sia aumentata a seguito del cambiamento dell'impianto; nonostante ciò, la distribuzione della luce nello spazio è più consona all'habitat naturale delle specie faunistiche. In merito alle caratteristiche geobotaniche, la ricerca si articola in due fasi:

1) La definizione delle principali comunità vegetali presenti in grotta è stata effettuata attraverso un campionamento distribuito su tutta la planimetria della grotta.

2) La risposta delle comunità vegetali alla luce è stata studiata attraverso un campionamento sistematico lungo transetti disposti radialmente intorno alle lampade, lungo i quali sono stati rilevati i tipi di comunità presenti e l'intensità luminosa ogni 30 cm.

Nella zona subliminare si riscontra la presenza di formazioni dense e compatte di licheni, briofite e pteridofite. Nella zona interna, dall'esame microscopico dei campioni raccolti sulle superfici esposte all'illuminazione artificiale, risulta la presenza di alghe verdi endolitiche (*Chlorophyta*), cianobatteri (*Cyanophyta*, tra cui predominano colonie del tipo *Merismopedia* sugli apici stillicidiosi delle concrezioni calcitiche), talli di briofite poco sviluppati e piccoli licheni. Relativamente a questi ultimi, da un primo *screening*,

sono state individuate sette entità differenti. In assenza di luce, mancano le specie fototrofiche e si rinvencono solo miceli fungini, normalmente distribuiti all'interno di strutture vermiformi o in estese colonizzazioni biancastre. In Fig. 1 sono rappresentati i dati di un transetto. Nel caso specifico, la comunità 1 (rappresentata da soli miceli) esprime il carattere di maggiore sciafilia, sviluppandosi a intensità luminose inferiori. Le comunità 2 (costituita da miceli ed alghe verdi) e 3 (costituita solo da alghe verdi) si alternano senza rispondere selettivamente all'illuminazione; per cui altri fattori potrebbero essere coinvolti nel fenomeno. In conclusione, il monitoraggio compiuto sino ad oggi ed ancora in corso rivela come la decennale esposizione delle pareti della grotta all'illuminazione artificiale abbia favorito l'instaurarsi di una ricca e complessa flora crittogamica, organizzata in comunità che si distribuiscono selettivamente lungo il gradiente di illuminazione; questo fenomeno è percepibile a diversi livelli di scala, sia lungo l'asse dall'esterno all'interno della grotta, sia radialmente intorno ai punti luce artificiali. Dai dati registrati sino ad oggi, si evince che quasi tutte le comunità fototrofiche trovano il loro *optimum* ecologico nel breve intervallo compreso tra 50 e 150 lux e sono escluse sia a valori più elevati di intensità luminosa che a valori più bassi. Risulta significativo come le comunità fototrofiche evitino le elevate intensità luminose, e questo rappresenta verosimilmente un successo, seppur parziale, raggiunto con l'installazione

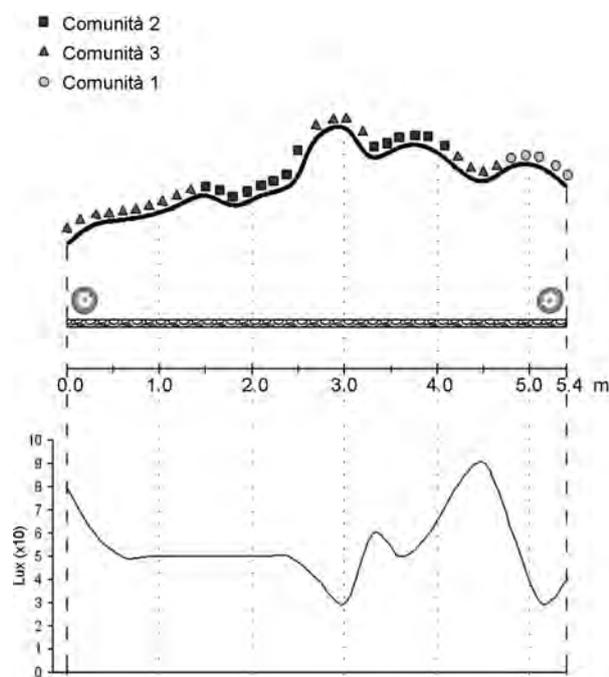


Fig. 1

Distribuzione dei principali tipi di comunità presenti e della variabile illuminazione lungo uno dei transetti realizzati, interposto tra due punti luce.

Community typology distribution and light intensity for a transept placed between two lighting spots.

ne del nuovo impianto di illuminazione. Nonostante l'intensità luminosa nella grotta sia generalmente aumentata a seguito del cambiamento dell'impianto, le nuove lampade a *led* riscaldano meno ed emettono in un *range* di frequenza molto ridotto. L'attuale situazione, oltre a non favorire lo sviluppo di comunità biologiche estranee alla grotta nelle immediate vicinanze dei punti luce, appare più efficace anche dal punto di vista della sicurezza per i visitatori. Le comunità presenti all'interno della Grotta Zinzulusa sono costituite da crittogame afferenti a diversi *phyla*. L'obiettivo di determinare in maniera raffinata tutti gli organismi presenti è per il momento, date le modeste risorse disponibili, un obiettivo ambizioso da raggiungere. Nonostante ciò, questi risultati rappresentano una prima tappa da cui ripartire per i futuri sviluppi della ricerca.

#### LETTERATURA CITATA

- CICCARESE G., PESCE G. L., 1999 – *La Zinzulusa: 200 anni dopo*. In: *Il carsismo dell'area mediterranea*, 1° incontro di studi, Castro Marina 1-2 settembre 1997. *Thalassia Salent.*, 23 suppl.: 79-88.
- PESCE G. L., 2001 – *The Zinzulusa cave: an endangered biodiversity "Hot Spot" of South Italy*. *Nat. Croat.*, Zagreb, 10 (3): 207-212.

#### Laghi e pozzelle, gli habitat effimeri del Salento: il caso di "Laccu Feretru"

P. ERNANDES, E. PRONTERA, L. BECCARISI e V. ZUCCARELLO. Di.S.Te.B.A., Università del Salento.

Il territorio salentino, per la sua natura carsica e per le sue condizioni climatiche, è considerato povero di acque superficiali; tuttavia, esistono alcuni siti di acque interne, molti dei quali ascrivibili alla categoria di habitat delle acque dolci lotiche stagionali. Sebbene siano, in genere, di modeste dimensioni e fortemente influenzate dalla presenza dell'uomo, tali siti ospitano comunità vegetali del tutto peculiari e meritevoli di essere tutelate. Da un'attenta lettura delle carte IGM 1:25.000 si nota la diffusione di alcuni "idroponimi" come lago, palude, pozzo, lama, conca. In molti casi il toponimo "lago" risulta associato ad un habitat considerato prioritario dalla Direttiva Europea 92/43/CEE che prende il nome di "Stagni temporanei mediterranei" (Codice Natura 2000: 3170). Si tratta di un habitat di acque dolci, profonde pochi centimetri, con una vegetazione semiacquatica a terofite e geofite mediterranee afferenti alla classe fitosociologica dell'*Isoeto-Nanojuncetea* distribuita nei territori europeo-mediterranei (BRULLO, MINISSALE, 1998; EUROPEAN COMMISSION DG ENVIRONMENT, 2003).

L'oggetto di questo studio sono delle particolari forme carsiche di dimensioni variabili generalmente con un perimetro subcircolare denominate "laghi" "lacchi" o "pozzelle" secondo il dialetto locale e che, per la loro struttura geologica e topografica, si riem-

piono d'acqua durante la stagione invernale e si prosciugano in estate.

Lo scopo del lavoro è quello di mettere in evidenza l'importanza naturalistica di queste particolari forme carsiche e di descrivere la flora e la vegetazione presenti al loro interno nonché il pattern di distribuzione spaziale; come caso studio rappresentativo è stato preso in considerazione un sito presente nel territorio salentino e precisamente nel comune di Soleto (Lecce): si tratta di una depressione doliniforme che si riempie d'acqua nella stagione invernale e si prosciuga in estate.

Tutto ciò serve ad approfondire le conoscenze relative all'habitat e fornire un utile supporto ai fini di una corretta conservazione.

I campionamenti sono stati effettuati nei mesi di Aprile e Maggio; sono stati utilizzati dei plot aventi dimensioni 30x30 cm, disposti lungo un transetto ad una distanza di 50 cm l'uno dall'altro; i transetti sono orientati secondo il criterio di massima eterogeneità in modo da rilevare tutti i possibili tipi di vegetazione presenti nel sito; ogni plot è composto da 9 subplot di dimensioni 10x10 cm; ad ogni specie individuata è stato assegnato un valore di copertura in maniera visuale per ogni plot. Le nove stime vengono successivamente sommate ed espresse in percentuale secondo la metodologia proposta da GRILLAS *et al.* (2004). Ad ogni rilievo viene associata una misura della profondità dell'acqua e del suolo, nonché la percentuale di rocciosità. I dati raccolti in campo sono stati riportati in una matrice specie-rilievi con all'interno le coperture espresse in percentuale per ogni specie. Le specie sono classificate secondo PIGNATTI (1982) e TUTIN *et al.*, (1968-1980). Lo spettro biologico viene formulato sulla base delle forme biologiche di Raunkiaer, così come riportano in PIGNATTI (1982). I dati della matrice specie-rilievi sono stati sottoposti a classificazione; dai gruppi risultanti sono state definite le "fitokoinè", consorzi di specie che emergono dalla classificazione, in quanto caratterizzano gruppi floristicamente simili.

L'elenco floristico comprende 31 *taxa* sub generici la cui forma dominante è rappresentata dalle terofite scapose; dall'analisi dello spettro corologico emerge che la grande maggioranza di esse ha un areale di distribuzione di tipo eurimediterraneo.

Queste doline sono accomunate dalla presenza, al loro interno, di fitocenosi afferenti all'habitat degli Stagni temporanei mediterranei, con aspetti vegetazionali peculiari, rari e poco conosciuti, legati alla durata del periodo di sommersione del suolo.

Sono state individuate 7 "fitokoinè che vengono di seguito descritte: 1) fitokoinè ad *Eleocharis palustris* (L) R. et S.: essa è caratterizzata dalla dominanza di questa specie a cui si associa *Ranunculus sardous* Crantz. È una cenosi igrofila a carattere anfibio legata a substrati melmosi sommersi per buona parte dell'anno che resiste anche a brevi periodi di prosciugamento del suolo durante l'estate.

2) fitokoinè ad *Eryngium barrelieri* Boiss, specie di Lista Rossa Regionale (CONTI *et al.*, 1997); tale comunità è a ciclo tardo primaverile-estivo e risulta essere legata al progressivo abbassamento del livello idrico.

Un ruolo di particolare rilievo fisionomico è la fitokoinè 3) ad *Agropyron repens* (L.) Beauv., graminacea stolonifera che costituisce il tratto di unione tra gli aspetti igrofili e quelli delle zone marginali, che risentono dell'influenza delle coltivazioni e della vegetazione ruderale. Le fitokoinè 4) ad *Erophyla verna* (L.) Chevall e 5) a *Poa annua* L. riguardano l'aspetto più marginale e debolmente nitrofilo dello stagno. Si tratta di cenosi a carattere effimero costituite da terofite a ciclo primaverile che risentono dell'influenza della vegetazione ruderale circostante. Nonché del disturbo antropico e delle arginature in pietra.

La fitokoinè 6) a *Ranunculus muricatus* L. rappresenta l'aspetto di maggiore xericità considerato il gradiente idrologico, e si ritrova in zone quasi prive di vegetazione probabilmente soggette a tipi di disturbo quali incendi e/o utilizzo di diserbanti.

La fitokoinè 7) è caratterizzata da *Carex divisa* (L.) Hudson var. *chaetophylla* (Steudel) Daveau, che costituisce pratelli sub-igrofili quasi monofitici che tollerano una parziale sommersione ma che si adattano a condizioni di marcata xericità durante la stagione estiva.

Le comunità vegetali igrofile che si rinvergono all'interno dei "laghi" costituiscono aspetti naturalistici peculiari, rari e perciò meritevoli di conservazione.

Questo studio rappresenta il primo caso di analisi di dettaglio dell'habitat denominata doline.

L'approccio fornisce le basi per il monitoraggio stagionale di questi habitat e potrebbe risultare utile ai fini della gestione e conservazione degli stessi.

Nonostante ciò, tali sistemi sono soggetti al disturbo antropico o al pascolamento, che possono causare l'alterazione delle caratteristiche idrologiche, della qualità delle acque e le funzioni ecologiche di questi ambienti già di per sé altamente vulnerabili a causa delle ridotte superfici.

#### LETTERATURA CITATA

- BRULLO S., MINISSALE P., 1998 – *Considerazioni sintassonomiche sulla classe Isoeto-Nanojuncetea*. Itinera Geobot., 11: 263-290.
- CONTI F., MANZI A., PEDROTTI F., 1997 – *Liste rosse regionali delle piante d'Italia*. Società Botanica Italiana e WWF Italia.
- EUROPEAN COMMISSION DG ENVIRONMENT, 2003 – *Manual of European Union Habitats. EUR25*.
- GRILLAS P., GAUTHIER P., YAVERCOVSKI N., PERENNOU C. (Eds.), 2004 – *Mediterranean Temporary Pools*, 1. Station biologique de la Tour du Valat, Arles. 121 pp.
- PIGNATTI S., 1982 – *Flora d'Italia*. Edagricole, Bologna.
- TUTIN T.G., HEYWOOD V.H., BURGESS N.A., MOORE D.M., VALENTINE D.H., WALTERS S.M., WEBB D.A., (Eds.), 1968-1980 – *Flora Europaea, II-V*, Cambridge University Press, Cambridge.

#### Screening sulla capacità delle pseudomonadi fluorescenti rizosferiche e non rizosferiche di produrre siderofori

C. COCOZZA<sup>1</sup>, I. GARUCCIO<sup>2</sup> e T.M. MIANO<sup>1</sup>.  
<sup>1</sup>Dipartimento di Biologia e Chimica Agro-forestale

ed Ambientale, Università di Bari. <sup>2</sup>Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale, Università di Bari "Aldo Moro".

Lo studio dettagliato della rizosfera ha svelato che nella comunità microbica sono riconoscibili microrganismi, soprattutto batteri, deleteri o benefici, a seconda delle attività che essi svolgono: i primi sono individuati dalla sigla DRMO (Deleterious Rhizosphere MicroOrganisms), mentre i benefici sono indicati con la sigla PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) (SCHIPPERS *et al.*, 1987). I DRMO non parassitizzano i tessuti radicali, ma producono metaboliti secondari che hanno l'effetto di alterare la disponibilità di H<sub>2</sub>O, P e K, di modificare la struttura e la permeabilità cellulare, la secrezione di acidi, polisaccaridi e enzimi vegetali. Tra gli altri metaboliti si ricordano alcuni antibiotici dannosi per le cellule vegetali e soprattutto l'H<sub>2</sub>CN, notoriamente deleterio per le catene respiratorie. I PGPR, invece, stimolano con giuste dosi di sostanze ormonali la crescita ottimale delle radici, aumentano la disponibilità di sostanze minerali, svolgono un'azione antagonistica verso i DRMO e i microrganismi patogeni e possono anche indurre resistenza sistemica agli agenti patogeni (GLICK, 1995). Il più delle volte, si tratta di batteri del genere *Pseudomonas* che producono pigmenti giallo-verdi i quali conferiscono alle colonie fluorescenza in luce UV. Essi riescono ad interagire con DRMO e patogeni occupandone la stessa nicchia ecologica e competendo con loro soprattutto per l'assimilazione del ferro, elemento essenziale. Il ferro in un terreno areato ed avente un valore di pH da neutro ad alcalino si trova in gran parte sotto forma di precipitati di ossidi e idrossidi ferrici. La strategia per acquisire il ferro, messa in atto da molti microrganismi, è quella di produrre i siderofori, molecole organiche che, rilasciate nell'ambiente, solubilizzano e trasportano il Fe<sup>3+</sup>. La bibliografia lascia intendere un ruolo assai importante delle pseudomonadi fluorescenti del terreno nei confronti sia della nutrizione, sia della sanità delle piante. Il lavoro ha avuto lo scopo di quantificare ed isolare le pseudomonadi fluorescenti presenti nella rizosfera di piante ortive e nel terreno circostante, e di caratterizzare i ceppi batterici relativamente alla produzione di siderofori, spingendosi alla determinazione dell'identità tassonomica specifica di certi ceppi considerati rappresentativi della collezione. È stata, quindi, esplorata la possibilità che i terreni esaminati possano costituire un'utile sorgente di ceppi batterici del tipo PGPR, e pertanto siano suscettibili di un eventuale successivo impiego in pieno campo. Oltre il 97% dei ceppi isolati è risultato produttore di siderofori, lasciando intendere che tale fenomeno conferisca un vantaggio competitivo negli habitat osservati. Inoltre, con i sistemi di identificazione adottati, solo sei ceppi sono stati individuati univocamente come *P. fluorescens* (Flügge) Migula (tre) e *P. putida* Trevisan. (tre).

#### LETTERATURA CITATA

GLICK, B.R. 1995 – *The enhancement of plant growth by*

*free-living bacteria*. J. Can. Microbiol., 41: 109-117.  
SCHIPPERS B., BAKKER A. W., BAKKER P. A. H. M. 1987 – *Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices*. Annu. Rev. Phytopathol., 25: 339-35.

#### Studio sulle capacità di *Aphanocladium album* di controllare alcune patologie della fillosfera

I. GARUCCIO, A. PAGLIARULI e G. CECI. Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale. Università di Bari, "Aldo Moro".

Il controllo biologico dei patogeni fungini vegetali con microrganismi antagonisti rappresenta una valida alternativa all'uso dei prodotti chimici in agricoltura.

Tra gli antagonisti microbici efficaci contro le malattie fungine della parte aerea delle piante si propone particolarmente idoneo l'*Aphanocladium album* (Preuss) W. Gams per le sue caratteristiche biologiche di rapida crescita con abbondante fruttificazione anche su substrati poveri, di sopravvivenza sul filloplano e per i suoi meccanismi di iperparassitismo.

La sua attività micoparassitica necrotrofica è legata alla produzione di enzimi idrolitici i quali agiscono degradando la parete cellulare di molti funghi fitopatogeni. In particolare la chitinasi agisce sulla chitina (componente della parete cellulare) idrolizzando il legame β1,4 N-acetil-D-glucosammina e liberando una serie di monomeri e dimeri utilizzati da *A. album* come sostanze nutritive (KOC *et al.*, 1981; SCRIVASTANA *et al.*, 1985; KUNZ *et al.*, 1992).

In studi recenti è stata valutata l'attività chitinolitica di alcuni isolati di *A. album* (Mx-93; 411,34; 165,45). (GARUCCIO, CECI, 2007).

Da questa indagine è emerso che tra le popolazioni di *A. album* esiste variabilità di comportamento per l'attività chitinolitica e che l'elevata attività enzimatica osservata nell'isolato Mx-93 di *A. album*, lo propone come un antagonista molto versatile con possibilità di impiego nella lotta biologica ed integrata contro vari patogeni fogliari fungini di piante agrarie ortive.

L'isolato Mx-93 di *A. album* (CICCARESE *et al.*, 1997) è stato pertanto utilizzato per prove di lotta biologica contro l'oidio del pomodoro e dello zucchini [rispettivamente *Oidium lycopersici* Cooke & Masee e *Sphaeroteca fuliginea* (Schltdl.) Pollacci] e contro la cladosporiosi del pomodoro (*Cladosporium fulvum* Cooke). I saggi sull'efficacia di *A. album* sono stati condotti in serra spruzzando sulle piante una sospensione conidica ottenuta dalla omogenizzazione di colonie di *A. album* sviluppatesi in substrato liquido. L'estensione della malattia su piante trattate si è dimostrata dal 25% al 40%, mentre su quelle non trattate è pari al 50% - 60%, mettendo in evidenza che l'antagonista pur non avendo un effetto risolutivo della malattia manifesta significative capacità di contenimento dell'infezione (CICCARESE *et al.*, 2001a, b).

In conclusione l'isolato Mx-93 di *A. album* si propone come limitatore biologico di patogeni fogliari fungini per la sua attività antagonista che non comporta produzione di sostanze che possano destare preoccupazioni di natura tossicologica ed ecologica.

#### LETTERATURA CITATA

CICCARESE F., AMENDUNI M., SCHIAVONE D., AMBRICO A., 1997 – *Aphanocladium album*, a new promising biocontrol agent against *Oidium lycopersici*. In: Proc. 10° Congr. M.P.U., Montpellier (France), June 1997: 559-562.

CICCARESE F., AMBRICO A., CECI G., 2001a – *Indagini preliminari sull'attività chitinolitica di isolati di A. album*. In: Atti VI Conv. Naz. Biodiversità: 11.

CICCARESE F., LONGO O., AMBRICO A., SCHIAVONE D., 2001b – *Aphanocladium album*: un promettente limi-

tatore biologico sull'oidio del pomodoro e dello zucchini. Not. Malattie Piante: 69-71.

GARUCCIO I., CECI G., 2007 – *Indagini sull'attività biofungicida di A. album*. Inform. Bot. Ital., 39 (suppl. 1): 203-204.

KOC N.K., FORRER H.R., KERN H., 1981 – *Studies on the relationship between Puccinia graminis and the hyperparasite Aphanocladium album.*, Phytopath., 101: 131-135.

KUNZ C., SELLARIO O., BERTHEAU Y., 1992 – *Purification and characterization of a chitinase from the hyperparasitic fungus Aphanocladium album.*, Physiol. Mol. Plant Path., 40: 117-131

SRIVASTAVA A.K., KOC N.K., DEFAGO G., BOLLER T.; 1985 – *Secretion of chitinase by Aphanocladium album, a hyperparasite of wheat rust.* Experientia, 41: 1612-1613.