

SOCIETÀ BOTANICA ITALIANA

GRUPPO DI LAVORO PER LA PALINOLOGIA

Simposio di

ACTUOPALINOLOGIA

Perugia
2 giugno 2000

INTRODUZIONE AI LAVORI

L'annuale incontro scientifico del Gruppo di Lavoro per la Palinologia quest'anno si è tenuto a Perugia, presso il Dipartimento di Biologia Vegetale e Biotecnologie Agroambientali ed è stato dedicato a temi di Actuopalinologia, per rispettare una consuetudine che vede l'alternarsi di riunioni dedicate alla Paleopalinologia ed all'Actuopalinologia che rappresentano le due branche verso cui è indirizzata la ricerca scientifica dei componenti il Gruppo.

Il Simposio è stato preceduto, dal 29 maggio al 1 giugno, da un Corso di aggiornamento sulle tecniche di monitoraggio della pioggia pollinica con apparecchi campionatori e con cuscinetti muscinali, nonché sulle tecniche di analisi dei prodotti apistici e sulle prove di germinabilità e vitalità dei pollini. Hanno partecipato 36 biologi provenienti da diverse regioni, alcuni già con una esperienza di base, ma numerosi sono stati giovani ricercatori e dottorandi. Sono state tenute in totale 32 ore tra lezioni teoriche ed esercitazioni pratiche in laboratorio; sono intervenuti, oltre ai palinologi di Perugia per la parte dei pollini aerodiffusi, G. Ricciardelli D'Albore e N. Longhitano per la melissopalinologia, A.M. Mercuri per il monitoraggio con cuscinetti muscinali.

Il Simposio, che si è tenuto il 2 giugno, dopo il saluto agli intervenuti da parte del Preside della Facoltà di Agraria nonché Economo della S.B.I., Bruno Romano, è iniziato con una relazione tenuta da E. Pacini e M. Nepi con la quale è stato descritto il diverso contenuto di acqua e carboidrati di riserva

nei granuli di polline. Tema molto interessante che mette in relazione i differenti tipi di carboidrati nei pollini con la possibilità di regolazione del loro potenziale idrico. Questi meccanismi non sono presenti in tutti i granuli, ma solo in quelli o con basso o con un alto contenuto di acqua. Questi due tipi pollinici differiscono anche per una serie di caratteristiche citomorfologiche quali forma, tipi di aperture, velocità di germinazione e longevità, così che il contenuto in carboidrati e lo stato di idratazione possono avere anche un valore sistematico e/o ecologico.

Il Simposio ha poi affrontato alcuni temi di Melissopalinologia con particolare riguardo alla qualità dei prodotti apistici legati alla provenienza ed ai metodi di analisi con la possibilità di ottenere marchi di origine del miele. Sono seguiti poi interventi sulle applicazioni dello studio della deposizione pollinica in studi paleoambientali, sulle tecniche per la determinazione della vitalità pollinica, sul ruolo che alcuni pollini rivestono nel determinare allergie e sull'incidenza delle condizioni ambientali nel regolare le fasi di differenziazione del polline.

Il Simposio si è concluso con una discussione generale sugli sviluppi dell'Actuopalinologia e sulle possibili applicazioni in diversi settori, come la medicina e l'agricoltura, ma anche la possibilità di utilizzo dei pollini come bioindicatori ambientali.

[a cura di G. FRENGUELLI e E. BRICCHI]

La qualità e l'origine botanico-geografica dei mieli

G. RICCIARDELLI D'ALBORE

ABSTRACT - *The quality and botanical-geographical origin of honeys* - The following most important methods of the honey analysis have been related: 1, the organoleptical analysis like the German and the French methods, such as colour impurity, odour, flavour and crystallization; 2, the microscopical analysis like the I.U.B.S. method, in order to know the quality and the quantity of pollens in the honey sediment; 3, the determination of the geographical origin of a honey, using the pollen analysis of its sediment; 4, the possibility to reach a honey label, marking a geographical area.

Key words: geographical origin, honey analysis

PREMESSA

Il mercato del miele è notevolmente influenzato dalla qualità del prodotto. Alla base di tutta la filiera ci sono gli apicoltori; dalle loro capacità tecnologiche dipende in gran parte come il prodotto miele si presenterà sul mercato.

Per capacità tecnologiche avanzate, si intendono quelle pratiche apistiche che, partendo dall'allevamento razionale delle api, attraverso la scelta delle fioriture che dovranno essere bottinate dalle stesse, la grande pulizia ed attenzione adottata nel manovrare i melari dalla messa in posa alle successive operazioni di smielatura, consentono di ottenere un prodotto di qualità.

Grande importanza hanno anche le tecniche utilizzate nei laboratori di smielatura, che dovranno rispondere ai requisiti di igiene richiesti e dovranno essere dotati delle più moderne attrezzature per una corretta lavorazione del miele.

L'ANALISI ORGANOLETTICA DEL MIELE

Per capire se il prodotto finale è di alta qualità, normalmente viene utilizzata l'analisi organolettica o sensoriale. Questa si effettua in Europa mediante due tecniche, molto simili, ma con alcune differenze, essendo l'una molto oggettiva e l'altra decisamente soggettiva. La prima, la più usata in Germania e da qualche altro Paese del centro Europa, è quella dell'Associazione Apicoltori Tedeschi (DIB-Deutsches Imkerbund); la seconda, più usata in Francia ed Italia, è quella messa a punto da GONNET, VACHE (1985). In entrambe viene esaminato il miele utilizzando i seguenti organi di senso: vista, olfatto, gusto e sensazione tattile (PERSANO ODDO *et al.*,

1995).

Nel metodo tedesco, inoltre, viene controllato rigorosamente anche l'aspetto del recipiente nel quale si trova il miele preso in esame: la presenza di eventuali ossidazioni sul coperchio, se le indicazioni riportate sull'etichetta sono a norma di legge, ed infine se il sigillo di garanzia e la stessa etichetta sono applicate correttamente sul contenitore. Questo ulteriore accertamento prende in considerazione quindi l'aspetto igienico ed estetico del contenitore.

L'analisi sensoriale vera e propria si dovrebbe effettuare in un locale silenzioso e privo di odori estranei ovvero asettico; gli esaminatori, ovviamente, prima della prova sensoriale non possono fumare o assumere sostanze aromatiche (es. caffè) e non devono essere condizionati da sostanze esterne come profumi intensi.

Tra le successive analisi dei mieli, gli assaggiatori sono soliti ingerire un pezzetto di mela acerba o di cetriolo o pane scuro, per eliminare dal palato le caratteristiche organolettiche del miele precedente. Inizialmente, i mieli preparati per l'assaggio, vengono collocati in coppe da vino, coperti e lasciati riposare per alcune ore, ponendo ogni campione accanto al rispettivo vasetto da cui è stata sottratta quella parte di miele.

Il primo aspetto esaminato è quello visivo: si annota il colore, la sua tonalità, la presenza di impurezze, l'omogeneità della massa e/o l'eventuale presenza di venature ed il loro spessore, che sono indice di una cristallizzazione più o meno imperfetta.

Successivamente si passa all'esame olfattivo: si mescola il miele nella coppa con una spatola di legno

(mai di metallo!), si annusa attentamente, annotando le caratteristiche del suo odore, la sua intensità e l'eventuale presenza di odori estranei al miele specificandone il tipo. Prelevata una piccola quantità di miele con la spatola la si porta in bocca, dove dovrà restare per alcuni secondi tra lingua e palato. Questa parte dell'analisi serve anche per valutare l'aspetto tattile del miele. Una volta ingoiato nella prima fase si annoteranno gli aromi sprigionatisi in bocca e la consistenza del miele, il quale può rivelarsi come massa ben pastosa oppure più o meno grossolanamente cristallizzata (spigolosità più o meno accentuata dei cristalli di zucchero); in questa prima fase, quindi, si effettua l'analisi gustativa e tattile insieme; nella seconda fase sarà evidenziato il retrogusto, che verrà annotato descrivendo i particolari aromi riscontrati.

Secondo una tabella ormai codificata (protocollo ormai testato) da tempo, in ciascuna fase dell'analisi si attribuisce un punteggio, la cui sommatoria darà un giudizio finale con varie gradazioni di valore, che andrà dal più alto (1 - eccellente) al più basso (7 - molto scadente).

La pulizia del miele, la presenza di gusto o odore estraneo, la cristallizzazione sabbiosa o pastosa o irregolare, sono caratteristiche prettamente organolettiche dipendenti essenzialmente dalle conoscenze tecnologiche dell'apicoltore e della sua capacità o meno di immettere nel mercato un prodotto pregiato ed esente da difetti.

L'ANALISI MICROSCOPICA DEL MIELE

Di pari passo, accanto all'analisi organolettica, si deve effettuare quella microscopica, perché l'una è di supporto all'altra e viceversa per poter pervenire ad una diagnosi corretta.

L'analisi microscopica consente, mediante l'analisi pollinica del sedimento del miele, di diagnosticare l'origine botanica e geografica. (LOUVEAUX *et al.*, 1978; RICCIARDELLI D'ALBORE, PERSANO ODDO, 1978).

Le api quando visitano i nettari dei fiori, si imbrattano del loro polline; quest'ultimo verrà trasportato inevitabilmente nell'arnia ed in parte finirà nel miele. Dieci - venti grammi di miele vengono disciolti in una doppia quantità di acqua distillata, centrifugando la soluzione una o più volte al fine di ottenere il sedimento del campione considerato, ponendolo successivamente sopra un vetrino per la lettura al microscopio ottico. Una volta determinati i pollini del sedimento in questione, seguendo le regole della Melissopalinoologia (per la quale si suggerisce di fare riferimento ai trattati più recenti, RICCIARDELLI D'ALBORE 1997, 1998), sarà possibile stabilire se un miele è millefiori o uniflorale e su quale o quali piante le api hanno bottinato il nettare.

Come è noto una qualsiasi zona geografica possiede sempre una fitocenosi caratteristica che la distingue da un'altra zona; questo rende possibile, attraverso l'analisi microscopica, determinare anche l'origine geografica (pollini peculiari di una zona). Va precisa-

to a questo punto che un miele uniflorale, per essere tale, deve avere sì il suo contenuto pollinico superiore ad una percentuale ben definita (che cambia ovviamente per ogni tipo di polline), ed inoltre deve possedere un colore ed un aroma peculiari di quel tipo specifico di miele. Ecco quindi spiegata l'importanza del procedere, parallelamente all'analisi organolettica, con quella microscopica. Un esempio per chiarire il concetto: se un miele analizzato al microscopio e venduto dall'apicoltore come miele di colza (*Brassica napus V. oleifera* DC.) ci darà una percentuale di polline di almeno l'80%, potrà essere uniflorale di quella specie botanica sopra citata solo se parallelamente a questo, nell'analisi organolettica, il miele risulterà di colore bianco, con una cristallizzazione sabbiosa ed un odore - gusto di rapa.

La caratterizzazione geografica di un miele è un'ottima possibilità per proteggere con un marchio l'origine controllata di un prodotto, difendendolo da importazioni di mieli più scadenti ma più concorrenziali economicamente, evitando così che si perpetrino le frodi in commercio.

IL MARCHIO DI ORIGINE DEL MIELE A TUTELA DEL PRODOTTO INTERNO

Abbastanza recentemente la CE ha emanato due Regolamenti per la tutela dell'origine di un prodotto alimentare (DOP) e la protezione del medesimo mediante un'indicazione geografica protetta (IGP) (Reg. CE 2081/92a e 2082/92b). In pratica si indica agli apicoltori la strada da percorrere per poter applicare sul loro prodotto un marchio europeo (DOP o IGP) che garantisca la qualità e l'origine del medesimo.

I vantaggi per gli apicoltori sono ovvi dal momento che un prodotto con un marchio di garanzia è destinato ad avere sul mercato del miele una valenza ben superiore rispetto ad un altro che ne sia privo. Oltre a questo aspetto il marchio stesso protegge anche il consumatore da possibili frodi nel commercio del miele come avveniva in passato (miele artificiale, miele con indicazioni errate, prodotto di importazione spacciato per nazionale con notevole danno per gli apicoltori di un Paese, ecc.)

Per costituire un marchio del miele tecnicamente occorre procedere nella seguente maniera, con le seguenti indagini:

- ♦ Sul numero di apicoltori della zona geografica;
- ♦ Sul tipo di apicoltura e locali di smielatura;
- ♦ Sulle quantità di miele prodotto.

Per tre anni di seguito si eseguiranno le analisi del miele di questi apicoltori.

Si perverrà così alla caratterizzazione della qualità e dell'origine botanica dei mieli, nonché di quella geografica.

Il prodotto di una zona sarà cioè caratterizzato da una scheda dei pollini principali in esso contenuto (pollini marcatori e caratterizzanti il miele di una zona geografica).

A questo punto è possibile istituire un marchio o richiederlo alla CE, purché sia accompagnato da un

rigoroso Disciplinare, volto a testare l'onestà degli apicoltori e a controllare periodicamente il prodotto con le specifiche analisi.

In Italia si sta da tempo lavorando su questo tema. Da due anni il MIPA (Ministero delle Politiche Agricole) ha avviato una vasta indagine sui mieli dei Parchi Nazionali italiani, ed anche il sottoscritto è impegnato in questa ricerca. Si ritiene che i lavori saranno conclusi l'anno prossimo. L'Istituto di Apicoltura del quale sono responsabile è disponibile ad effettuare lavori di questo genere anche per molte zone geografiche non italiane, avendo già lavorato in questo senso per molte zone Europee, dell'America Latina, dell'Africa e dell'Oriente.

LETTERATURA CITATA

- CEE 1992a. *Reg. N° 2081/92 del Consiglio del 14 luglio 1992 relativo alla protezione delle indicazioni geografiche e delle denominazioni d'origine dei prodotti agricoli e alimentari* - G.U. CE, 24/07/92, 208: 1-8.
- CEE 1992b. *Reg. N° 2082/92 del Consiglio del 14 luglio 1992 relativo alle attestazioni di specificità dei prodotti agricoli e alimentari* - G.U. CE, 24/07/92, 208: 9-14.
- GONNET M. VACHE G., 1985 - *Le gout du miel*. U.N.A.F. Paris, 146pp.

AUTORE

Giancarlo Ricciardelli D'Albore, Dipartimento di Arboricoltura e Protezione delle Piante, Università di Perugia, Borgo XX Giugno 74, 06121 Perugia

- LOUVEAUX J., MAURIZIO A., VORWOHL G., 1978 - *Methods of Melissopalynology*. Bee World, 59(4): 139-157.
- PERSANO ODDO L., PIANA L., SABATINI A.G., 1995 - *Conoscere il miele - Guida all'analisi sensoriale*. Ed. Avenue Media. Bologna, 398 pp.
- RICCIARDELLI D'ALBORE G., 1997 - *Textbook of Melissopalynology*. IITEA - Apimondia. Bucharest, 308 pp.
- , 1998. - *Mediterranean Melissopalynology*. Univ. Perugia, 466pp.
- RICCIARDELLI D'ALBORE G., PERSANO ODDO L., 1978 - *Flora apistica italiana*. Ed. Ist. Sper. Zoologia agraria. Firenze, 286pp.

RIASSUNTO - Sono stati messi in relazione i seguenti più importanti metodi di analisi dei mieli: 1, l'analisi organolettica secondo i metodi adottati in Germania e Francia basati sul colore, presenza di impurità, sapore e cristallizzazione; 2, le analisi microscopiche secondo il metodo I.U.B.S., per individuare la qualità e quantità dei pollini nel sedimento del miele; 3, la determinazione dell'origine geografica di un miele usando l'analisi pollinica del suo sedimento; 4, la possibilità di ottenere un marchio di origine del miele mediante un'indicazione geografica protetta.

Caratterizzazione geografica dei mieli del Lazio

P. BELLIGOLI

ABSTRACT - *Geographical characterization of honeys from Lazio (Central Italy)* - A research was carried out on honey produced in Lazio region, in order to determine the melissopalynological characteristics useful for identifying the botanical and geographical origin. For each province the most typical pollen associations are indicated. Based on the phytogeographical distribution there are characteristic honey productions that could be enhanced through origin label.

Key words: honey, Lazio, Melissopalynology

INTRODUZIONE

Nell'ambito del Regolamento Comunitario 1221/97 è stato condotto uno studio sulla caratterizzazione dei mieli prodotti nella regione Lazio. Tale studio, affidato all'Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria - Sezione di Apicoltura di Roma, è finalizzato alla valorizzazione e al miglioramento delle conoscenze relative alla produzione dei mieli tipici della regione (PERSANO ODDO, RICCIARDELLI D'ALBORE, 1989; PERSANO ODDO *et al.*, 1999).

Uno degli aspetti qualificanti di tale indagine è quello di effettuare uno studio melissopalynologico allo scopo di verificare la possibilità di caratterizzare i mieli della regione ai fini di una loro eventuale valorizzazione attraverso un marchio DOP o IGP (Denominazione di Origine Protetta o Indicazione Geografica Protetta in base al Reg. CE 2081/92).

L'esame melissopalynologico è infatti l'unico strumento che consente la valutazione dell'origine geografica, oltre che botanica, di un miele. In base allo studio degli elementi figurati presenti nel sedimento, quali granuli pollinici, elementi indicatori di melata, presenza di associazioni di tipi pollinici caratteristiche, presenza di pollini guida, è possibile identificare con una certa precisione la provenienza di un miele. L'analisi melissopalynologica risulta quindi indispensabile nelle iniziative di caratterizzazione geografica, sia in una fase preliminare per individuare gli elementi di tipicità, sia per i controlli successivi, in modo che si faccia un corretto uso del marchio.

Richieste di DOP o IGP sono già in corso in alcune zone italiane (Abruzzo, Marche, Lunigiana) ed europee, e possono costituire un utile strumento per la valorizzazione del miele.

MATERIALI E METODI

Nell'arco dei due anni di studio (1999-2000) sono

stati raccolti, con la collaborazione di circa 200 apicoltori dislocati in diverse zone della regione, 451 campioni suddivisi nelle 5 province come mostrato in Tab. 1.

TABELLA 1

Campioni raccolti per provincia.
Samples collected per province.

Provincia	N. campioni
Roma	217
Latina	97
Frosinone	49
Viterbo	45
Rieti	43
Totale	451

Su tutti i campioni è stata eseguita l'analisi melissopalynologica qualitativa e quantitativa secondo il metodo di LOUVEAUX *et al.* (1978). L'esame qualitativo consiste nel riconoscimento dei diversi tipi pollinici presenti nel sedimento e nel calcolo delle relative percentuali. L'esame quantitativo permette di calcolare il numero assoluto di elementi figurati presenti in 10 g di miele (PK/10g).

RISULTATI E DISCUSSIONE

I risultati ottenuti nei due anni di studio hanno permesso di evidenziare una associazione pollinica tipica della regione Lazio, comune a tutte le province. I tipi pollinici presenti nella quasi totalità dei campioni, anche in quantità piuttosto rilevanti, sono: *Castanea sativa*, *Trifolium repens* gr., *Trifolium pratense* gr., *Rubus*, Cruciferae.

Nelle singole province, oltre alle specie sopra men-

zionate, sono stati individuati dei tipi pollinici caratteristici di ogni zona.

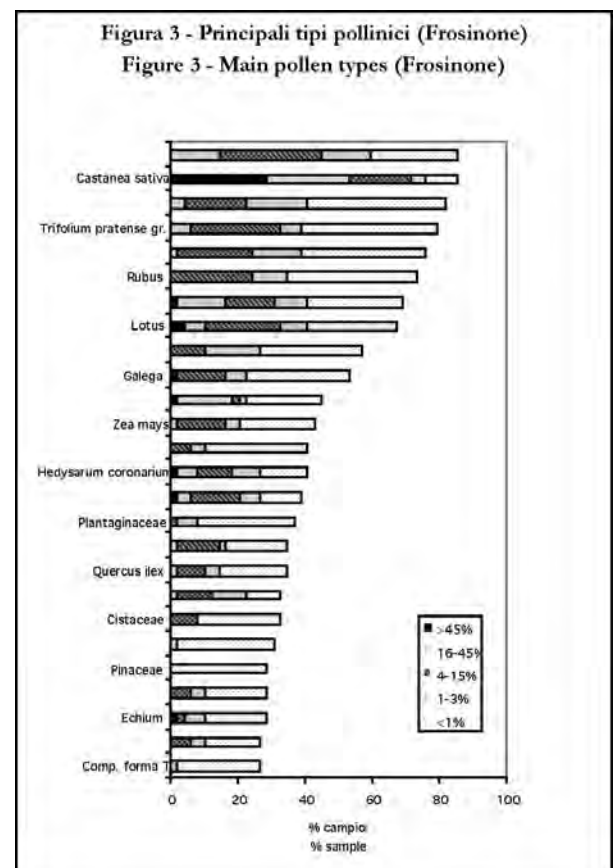
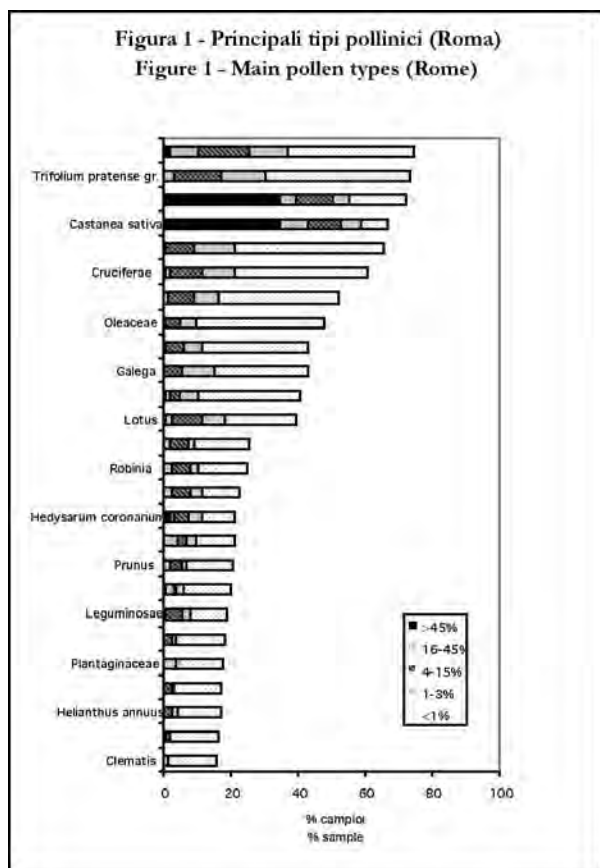
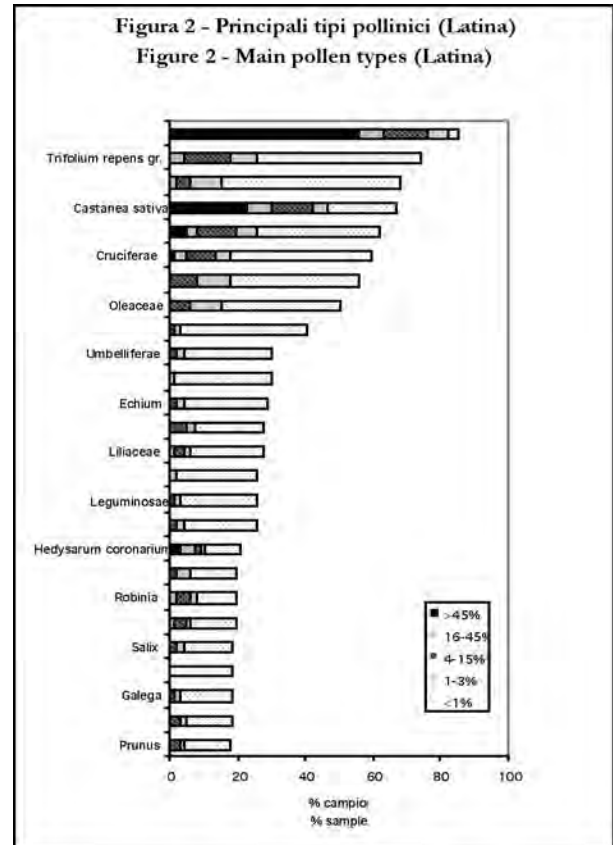
Nella Fig. 1 sono riportati i risultati ottenuti dallo studio della provincia di Roma. Su un totale di 187 campioni raccolti ed analizzati, *Eucalyptus* e *Castanea* sono risultati i tipi pollinici più frequenti; abbastanza comuni anche *Echium*, *Lotus* e *Robinia*. Caratteristica, nelle zone prossime agli insediamenti urbani, la presenza di *Ailanthus*.

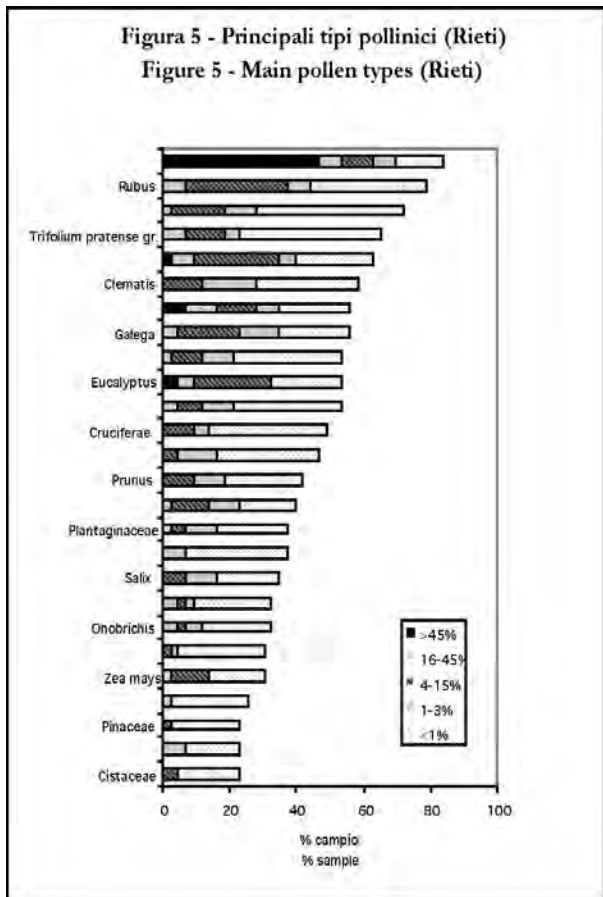
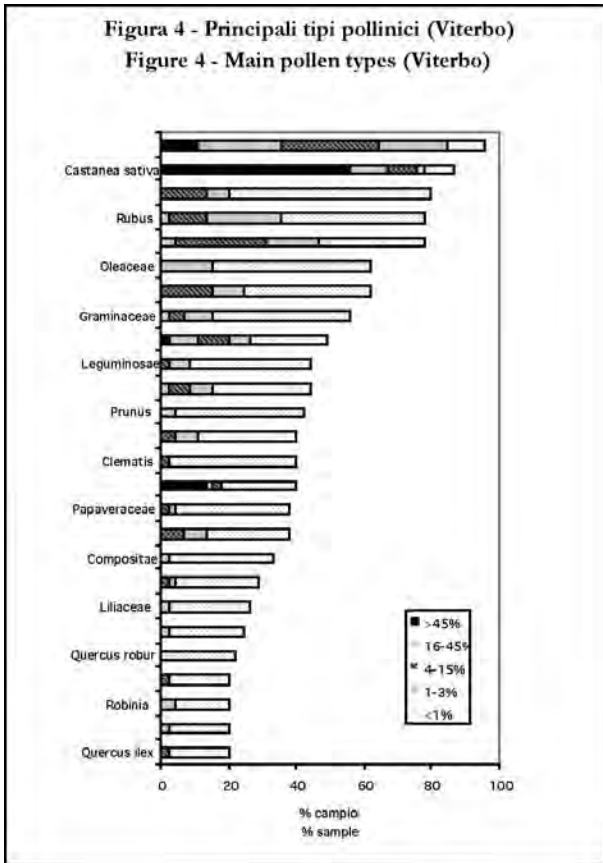
A Latina è da segnalare la costante presenza di *Eucalyptus*, abbondantemente rappresentato in tutti i campioni (97 in totale) e di *Lotus*. Nei soli mieli primaverili, precedenti la fioritura dell'eucalipto, è da segnalare la presenza di *Citrus* (Fig. 2).

Nella provincia di Frosinone (49 campioni) è stata riscontrata una altissima frequenza di *Castanea*, accompagnato comunemente da una discreta percentuale di graminacee (fra cui *Zea mays*), oleacee e leguminose: *Lotus*, *Hedysarum* ed anche *Robinia* che può dare mieli uniflorali (Fig. 3).

Anche nella provincia di Viterbo è particolarmente abbondante *Castanea*, che fornisce miele uniflorale; accanto ad esso nella maggior parte dei campioni si trova *Trifolium pratense* gr. Caratteristica di questa provincia è la presenza di *Echium*, *Rhamnus* e girasole, che può dare miele uniflorale (Fig. 4).

Infine a Rieti, in associazione con castagno e trifoglio, sono particolarmente frequenti i pollini di *Rubus*, graminacee, *Clematis*, oleacee, *Galega* e scrofulariacee (Fig. 5).





Un aspetto da sottolineare riguarda la presenza di elementi indicatori di melata. Nel Lazio, come ormai su tutto il territorio italiano, si è recentemente diffusa *Metcalfa pruinosa* (Say), cicalina parassita di diverse specie vegetali, che dà luogo, nel periodo estivo, a produzione di abbondante melata, attivamente bottinata dalle api. La presenza di melata è particolarmente significativa nelle province di Rieti e Frosinone, dove in circa il 40% dei campioni si è riscontrata una prevalenza di melata (Tab. 2).

TABELLA 2

Campioni a prevalenza di melata per provincia.
Samples rich in honeydew, per province

Provincia	% campioni
Viterbo	9%
Latina	19%
Rieti	44%
Frosinone	37%
Roma	16%

I risultati dello studio condotto indicano che il miele prodotto nella regione Lazio è abbastanza ben identificato.

Dal punto di vista fitogeografico nella regione si possono individuare per grandi linee due tipi di ambiente: uno lungo il versante tirrenico, più o meno pianeggiante, caratterizzato da una fascia vegetazionale in cui si alternano aspetti residui di macchia mediterranea, ampie aree coltivate (a foraggiere, colza, girasole, frutteti), ed eucalipteti. L'altro, più interno, collinare, caratterizzato da una maggiore presenza di boschi (castagno, acacia, querce, faggio) ed essenze arbustive da sottobosco (rovo, clematide, oleacee).

A questi ambienti corrispondono produzioni mellifere ben definite (Tab. 3). Nelle parti pianeggianti e costiere delle province di Viterbo Roma e Latina, le produzioni tipiche sono rappresentate essenzialmente da un millefiori chiaro a prevalenza di leguminose, dalle caratteristiche organolettiche delicate e gradevoli, e da miele uniflorale di eucalipto; più sporadiche le produzioni di miele uniflorale di agrumi (nella provincia di Latina) e girasole (nella provincia di Viterbo).

TABELLA 3

Principali produzioni mellifere per provincia.
Main honey production per province.

Produzione mellifera	Provincia
Millefiori chiaro a prevalenza di leguminose	Roma, Viterbo, Latina
Eucalipto	Latina, Roma
Castagno	Viterbo, Rieti, Frosinone, Roma
Melata	Rieti, Frosinone
Agrumi	Latina
Acacia	Frosinone, Roma
Girasole	Viterbo

Nelle zone più interne, collinari e boschive (province di Viterbo, Rieti, Frosinone e Roma), è tipica la produzione di miele uniflorale di castagno e melata; più sporadici i mieli uniflorali di acacia.

Tali produzioni potrebbero essere eventualmente valorizzate attraverso marchi di origine, quali IGP e DOP.

Ringraziamenti - Desidero ringraziare la Dott.ssa Livia Persano Oddo, Direttore della Sezione di Apicoltura di Roma, per la collaborazione alla revisione del presente lavoro.

LETTERATURA CITATA

- LOUVEAUX J., MAURIZIO A., VORWOHL G., 1978 - *Methods of melissopalynology*. Bee World, 59: 139-157.
 PERSANO ODDO L., BELLIGOLI P., PULCINI P., PIAZZA M. G., MORGIA C., 1999 - *Qualità e origine botanica del miele prodotto nella regione Lazio: risultati di un anno di studio*. Apitalia, 11/99: 43-47.
 PERSANO ODDO L., RICCIARDELLI D'ALBORE G., 1989 -

Nomenclatura melissopalinoologica. Apicoltura, 5: 63-72.

RIASSUNTO - Nell'ambito del Reg. Ce 1221/97 è stato condotto uno studio di caratterizzazione dei mieli prodotti nella regione Lazio, per conoscere e valorizzare tali produzioni. Su un totale di 451 campioni raccolti nelle cinque province è stato effettuato uno studio melissopalinoologico completo allo scopo di identificare gli spettri pollinici propri di ogni provincia. I tipi pollinici più frequenti in tutta la regione Lazio sono *Castanea*, *Trifolium pratense* gr., *Rubus* e Cruciferae. Accanto ad essi, nei mieli della provincia di Roma sono abbondanti *Eucalyptus* e *Castanea*; a Latina *Eucalyptus*; a Frosinone e Viterbo *Castanea*, a Rieti *Rubus*. Una divisione fitogeografia permette di definire delle produzioni mellifere tipiche: nell'ambiente costiero si produce un miele millefiori chiaro a prevalenza di leguminose e miele uniflorale di eucalipto, nell'area più interna, prevalgono mieli uniflorali di castagno e melata. Tali prodotti potrebbero essere utilmente valorizzati attraverso l'impiego di marchi specifici quali IGP o DOP.

AUTORI

Paola Belligoli, Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria - Sezione di Apicoltura, Via L. Rech 36, 00156 Roma

Il miele di *Robinia* italiano

F.V. GRILLENZONI, A.G. SABATINI e N. MARGOTTI

ABSTRACT - *Italian Robinia Honey* - Honey is strictly linked to its area of production and its characteristics originate from the flowers bees have been visiting. "Geographical origin" is the basis of fairly constant and recognizable differences, thus products are not equivalent. Pollen content helps us to trace geographical and botanical origin and also to recognize whether it is an unifloral or multifloral honey. Lately the quality of the product has been pursued, by typification, using botanical and/or geographical origin. That's why quality trademarks have been introduced. These are useful to promote best bee products and to help customers to recognize honeys with peculiar and guaranteed characteristics. This work has been done to bring out the characteristics of Italian *Robinia* honeys, which has many foreign honeys as rivals. 225 Italian *Robinia* honeys has been collected and valued by their physicochemical parameters which were within bounds provided by the law. Then quantitative and qualitative melissopalynological analyses have been done. We could recognize 110 pollens. *Robinia* pollen rate varied between 8 and 89%. Pollen associations which underline geographical origin were found. Pollen characterization allows to distinguish *Robinia* honey coming from different Italian regions and therefore from foreign products. Italian *Robinia* honey is a "niche" product and to emphasize its value we need to adopt a strategy using trademarks as IGP and DOP. These promote and protect products which have characteristics linked to a geographical site. The results from this research have taken to the botanical and geographical characterization of Italian *Robinia* honey. These products could possess the requirements the law demands.

Key words: honey, improvement, pollinic analysis, *Robinia pseudoacacia*

INTRODUZIONE

Il miele è indubbiamente un prodotto legato al territorio di produzione, in quanto le sue caratteristiche di composizione e organolettiche derivano principalmente dal tipo di flora bottinata. L'elemento "origine geografica", quindi, è sicuramente alla base di differenze relativamente costanti e riconoscibili, che rendono i prodotti non equivalenti l'uno all'altro. Il contenuto pollinico permette di riconoscere l'origine geografica, l'origine botanica e anche l'unifloralità o multifloralità del miele (PERSANO ODDO, RICCIARDELLI D'ALBORE, 1989).

L'orientamento generale di questi ultimi anni è di perseguire la qualità attraverso la tipizzazione del prodotto, cioè basata sull'origine geografica e/o botanica. In questo quadro si inserisce la tendenza all'istituzione di marchi di qualità e di origine, che da un lato promuovono i prodotti migliori degli apicoltori e dall'altro aiutano il consumatore ad individuare i mieli con caratteristiche specifiche e maggiormente garantite.

La richiesta di prodotti di qualità è sempre più pressante nei Paesi sviluppati anche per poter competere con le produzioni dei Paesi extracomunitari, che immettono sul mercato prodotti a prezzi concorren-

ziali, ma di qualità nettamente inferiore. È quindi necessario puntare su qualità e tipicità dei mieli italiani per tutelare allo stesso tempo produttori e consumatori.

Proprio in quest'ambito si inserisce questo lavoro di ricerca che ha lo scopo di valorizzare le caratteristiche del miele italiano di robinia, già conosciuto ed apprezzato, ma che trova grande concorrenza nei mieli esteri. In Italia viene prodotto soprattutto nei boschi della zona prealpina del Piemonte e della Lombardia, in misura minore nelle zone pedemontane appenniniche del centro e, con importanza ancora inferiore, in alcune aree del Sud. Al di fuori dell'Italia, produzioni significative, destinate anche all'esportazione, si hanno nei Paesi dell'Est (in particolare Ungheria) e in Cina.

Fondamentale è stabilire cosa si intende per "qualità" di un miele, cosa non facile se si considera che il suo concetto varia in funzione dell'oggetto valutato, del soggetto valutante, del contesto spazio-temporale, della cultura, dello scopo della valutazione, ecc. In generale con il termine qualità si definisce la capacità di un prodotto di rispondere alle aspettative del consumatore. Relativamente al miele, occorre utiliz-

zare il termine qualità in senso allargato; non solo per il prodotto, ma anche per il territorio in cui le api bottinano perché se l'ecosistema è sano anche il miele, ivi prodotto, lo è. Inoltre sono determinanti le scelte nella conduzione dell'apiario, le tecniche di produzione e di lavorazione. Ogni apicoltore deve quindi condurre la propria azienda secondo i principi che ne garantiscono la qualità e di conseguenza la redditività, in questo modo l'apicoltura moderna risulterà gestita da operatori qualificati pronti ad offrire miele di alta qualità.

Nella sempre più intensa attenzione alle attività di valorizzazione del miele, un elemento particolarmente rilevante è quello della tipicità. Il miele infatti è decisamente legato al territorio in cui è prodotto, in quanto gran parte delle proprie caratteristiche derivano dalla flora bottinata dalle api in una particolare zona. Il miele prodotto in una certa area è l'immagine della sua vegetazione, comprensiva dei mutamenti indotti dall'uomo e degli andamenti stagionali, in quanto le caratteristiche organolettiche del miele variano notevolmente a seconda dell'origine, botanica e geografica. L'origine di un miele è verificabile non solo a livello organolettico e di composizione, ma soprattutto attraverso il contenuto pollinico, grazie alla presenza di granuli pollinici derivanti dalle piante presenti nell'ambiente di produzione. Ogni miele è quindi accompagnato da una "carta d'identità", che rappresenta il mezzo d'elezione per la certificazione e il controllo dell'origine in fase di commercializzazione (RICCIARDELLI D'ALBORE, 1998). La possibilità di controllare l'origine geografica con l'analisi pollinica è sicuramente un incentivo alla valorizzazione del miele.

MATERIALI E METODI

La campionatura raccolta dal 1990 al 1999, costituita da 225 mieli di robinia italiani provenienti dalle zone maggiormente vocate (Prealpi lombarde, Appennino toscano, ecc.), è stata inizialmente sottoposta ad analisi fisico-chimiche per una valutazione complessiva del prodotto. Sulla base di precedenti ricerche, di indicazioni provenienti dal materiale bibliografico, nonché da prescrizioni contenute nelle normative nazionali e internazionali sul miele è stata individuata una serie di parametri atti a fornire indicazioni utili per determinare le caratteristiche essenziali di qualità:

- contenuto in acqua (D.M. 20 luglio 1984);
- contenuto in idrossimetilfurfurale (D.M. 20 luglio 1984);
- indice diastatico e di composizione;
- sostanze minerali (ceneri) (D.M. 20 luglio 1984);
- conducibilità (LOUVEAUX *et al.*, 1978);
- acidità e pH;
- sostanze insolubili (D.M. 20 luglio 1984);
- zuccheri (D.M. 20 luglio 1984), determinati come previsto dai Metodi di analisi ufficiali per il miele in quanto si è inteso verificarne la rispondenza ai requisiti di legge;
- colore.

I campioni di miele di robinia italiano sono stati suc-

cessivamente sottoposti ad analisi melissopalino-logica qualitativa e quantitativa (FINI, SABATINI, 1971; LOUVEAUX *et al.*, 1978).

RISULTATI E DISCUSSIONE

I risultati delle analisi fisico-chimiche hanno fornito valori rispondenti ai limiti previsti dalla legge vigente. Alcuni si sono collocati entro ambiti ancora più ristretti. Questa puntualizzazione risulta molto importante per definire un miele di qualità, che prevede valori di umidità inferiori al 18% e di HMF inferiori a 10 mg/kg (Tab.1).

TABELLA 1

*Risultati delle analisi chimico-fisiche sui campioni.
Physicochemical results of samples.*

ROBINIA	U.d.M.	Media	Ds
Acqua	%	16,6	0,71
HMF	mg/kg	4,4	4,2
Diastasi	ud/g	8,7	2,4
Colore	mm Pfund	12	2,3
Conducibilità	mS cm ⁻¹	0,19	0,18
pH		4,1	0,2
Acidità libera	meq/kg	9,5	1,8
Zuccheri riduttori	%	71,3	2,2
Saccarosio	%	3	2
Sostanze insolubili	%	0,03	0,02
Ceneri	%	0,04	0,07

Dal punto di vista melissopalino-logico la prima osservazione riguarda il PK, cioè il numero totale di granuli pollinici per 10 g di miele; tale valore è di circa 5.000 per i mieli di robinia delle Prealpi, di 10.000 - 15.000 per i mieli di robinia provenienti dalle altre zone italiane, mentre è notevolmente più alto nei mieli esteri (attorno a 20.000).

All'esame microscopico sono stati individuati 110 tipi pollinici, quindi un numero molto elevato. I tipi pollinici sono stati raggruppati in 4 classi a seconda della presenza in ogni campione:

- ♦ < 3%,
- ♦ 3 - 15%,
- ♦ 15 - 45%,
- ♦ > 45%.

Nella Fig. 1 sono riportati 39 tipi pollinici individuati e presenti in più del 20% dei campioni.

I pollini presenti in meno del 20% della campionatura sono stati separati a seconda che facessero parte di specie nettariifere (Fig. 2) o non nettariifere (Fig. 3).

La percentuale del polline di *Robinia* è risultata molto variabile, da 8 a 89%. È stata però calcolata su tutti i pollini presenti ed è quindi possibile che sia stata influenzata dall'eventuale presenza di pollini inquinanti (come *Castanea* e *Hedysarum*) e pollini di piante non nettariifere (tipici dei mieli provenienti dalla zona delle Prealpi).

Per quanto ha riguardato i pollini di accompagna-

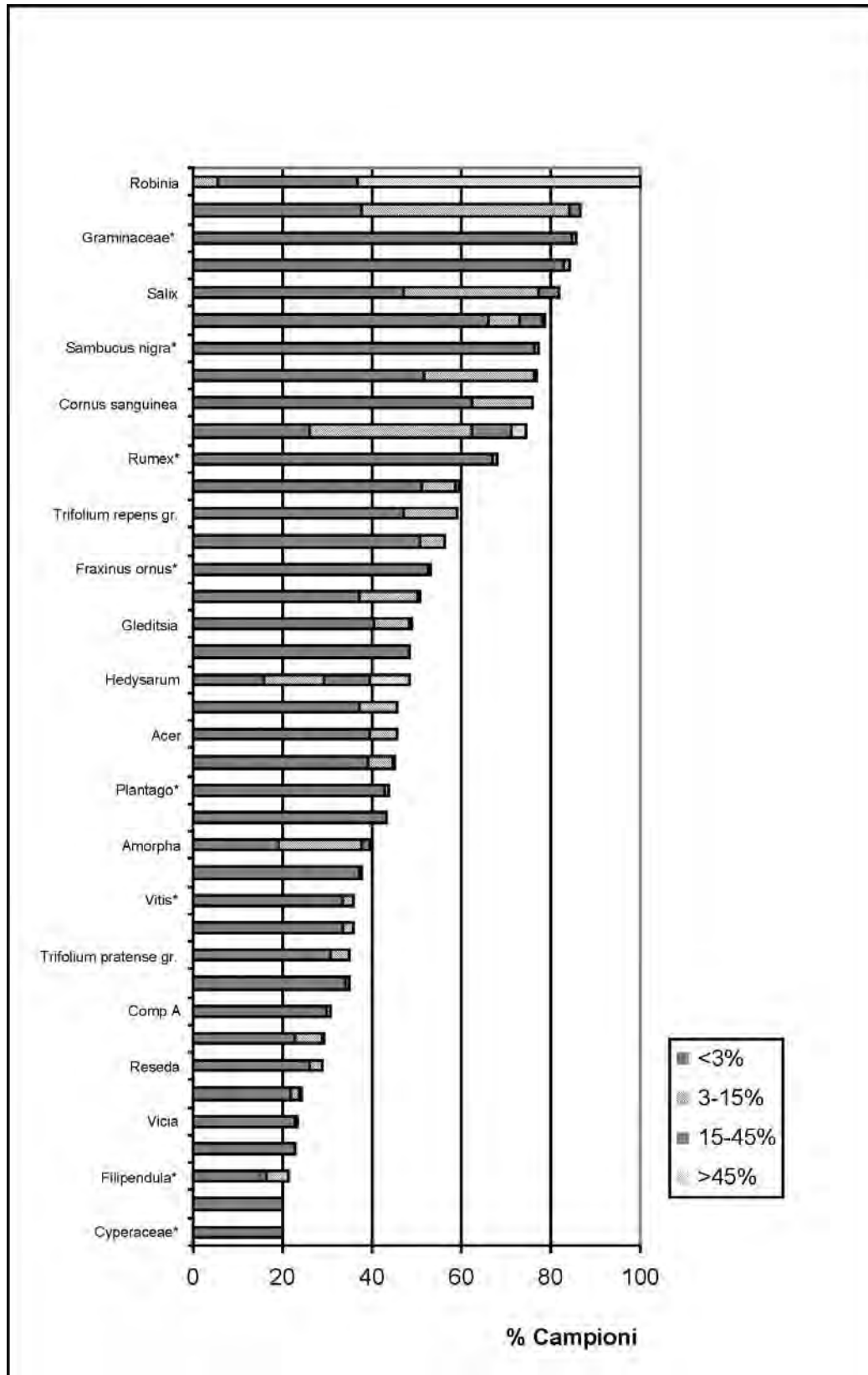


Fig. 1

Tipi pollinici riscontrati in oltre il 20% dei campioni di miele esaminati (i pollini non nettariiferi sono indicati con asterisco).

Types of pollen found in a rate of more than 20% in the examined honey samples (asterisks indicate non-nectariferous pollens).

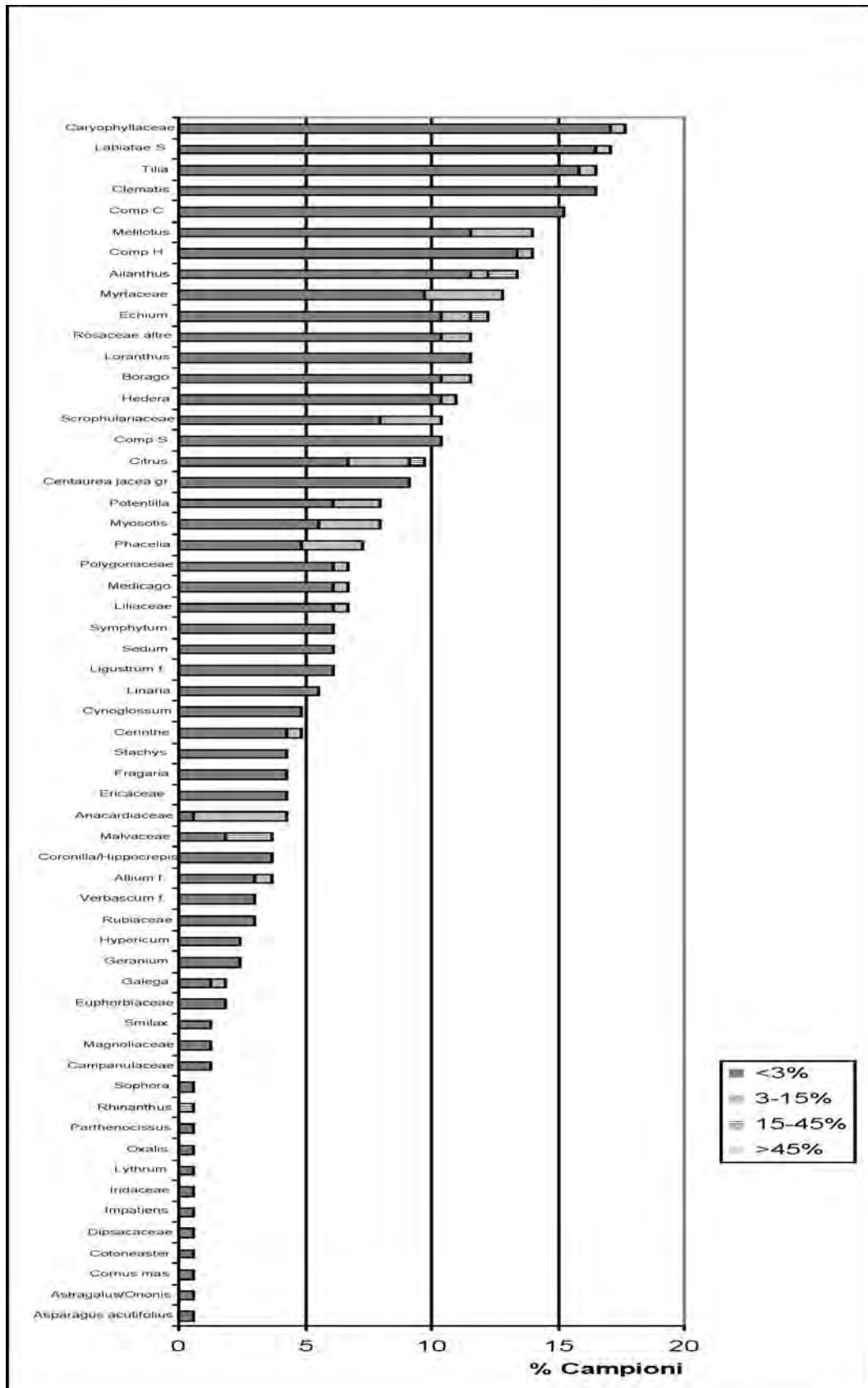


Fig. 2

Tipi pollinici nettariiferi riscontrati in meno del 20% dei campioni esaminati.
Types of nectariferous pollen found in a rate of less than 20% in the examined honey samples.

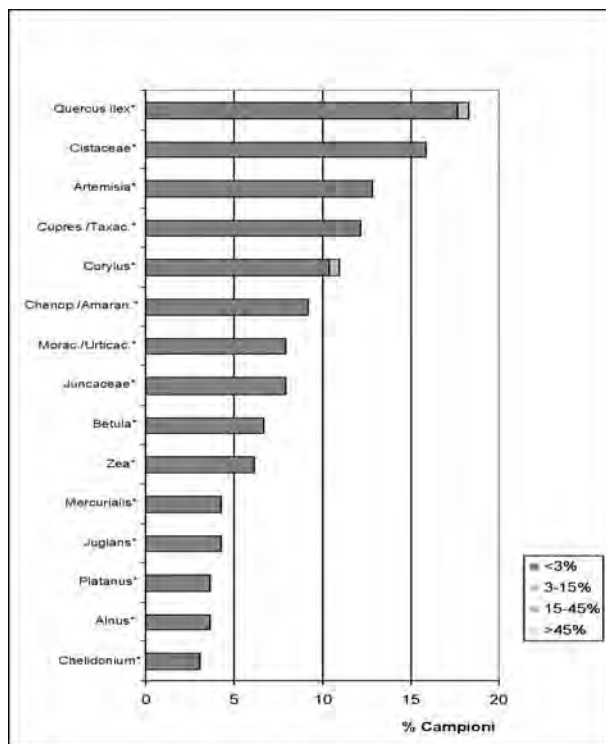


Fig. 3

Tipi pollinici non nettariiferi riscontrati in meno del 20% dei campioni di miele esaminati.

Types of non-nectariferous pollen found in a rate of less than 20% in the examined honey samples.

mento, alcune forme sono state riscontrate in quasi tutti i campioni, anche se in percentuali variabili, come ad esempio: *Castanea*, *Cornus sanguinea*, Graminaceae, *Papaver*, *Pyrus*, *Rubus f.*, *Rumex*, *Salix*, *Sambucus nigra*.

Sono state evidenziate alcune associazioni che possono essere considerate indicative dell'origine geografica. I mieli di robinia del Nord Italia, in particolare delle provincie di Como e Varese, sono risultati caratterizzati dalla presenza di specie non nettariifere, quali *Chamaerops*, *Rumex*, *Quercus robur*, *Fraxinus ornus*, Gramineae, *Plantago*. Inoltre in diversi campioni prodotti negli ultimi anni è stata riscontrata la presenza di *Erica carnea*. Nella provincia di Udine invece, il polline di *Robinia* era costantemente associato a *Filipendula*; sono stati inoltre ritrovati i pollini di *Salix*, *Castanea*, Cruciferae, *Rubus f.*, *Fraxinus ornus*, *Sambucus nigra*, Compositae T e Graminaceae. I mieli di robinia del centro Italia, provenienti soprattutto dalla Toscana, hanno presentato, oltre ad una percentuale di *Robinia* inferiore, *Hedysarum* ed *Erica arborea* in particolare, ma anche *Quercus ilex*, *Fraxinus ornus*, Leguminosae; è stato inoltre ritrovato il polline di *Castanea*, ma solo come inquinante.

La caratterizzazione pollinica permette di discriminare i mieli di robinia prodotti nelle diverse regioni italiane e quindi, a maggior ragione, di poterli distinguere dalle produzioni estere, cosa sicuramente più

importante dal punto di vista commerciale. I mieli di robinia ungheresi presentano uno spettro pollinico caratterizzato da Cruciferae, *Phacelia*, *Loranthus* e *Symphytum*; questi ultimi due si trovano anche nelle regioni collinari dell'Emilia-Romagna, ma accompagnati da *Hedysarum*, che invece è assente in Ungheria. Anche i mieli cinesi appaiono complessivamente abbastanza differenziati: presentano un particolare fondo contenente lieviti e abbondanza di pollini di Cruciferae. L'associazione indicativa degli spettri pollinici dei mieli cinesi è rappresentata da: *Astragalus sinicus*, *Fagopyrum esculentum*, Scrophulariaceae e *Rhamnus* (MAURIZIO, LOUVEAUX, 1965; RICCIARDELLI D'ALBORE, 1997; conoscenze degli Autori).

L'apicoltura italiana è in grado di offrire un miele di qualità ma contemporaneamente cresce anche la sensibilità del consumatore nel saper riconoscere i prodotti migliori.

Il miele di robinia italiano è considerato un prodotto di "nicchia"; per poterlo tutelare occorre promuovere una intensa strategia di valorizzazione su diversi fronti: la presenza di marchi come IGP (Indicazione Geografica Protetta) e DOP (Denominazione di Origine Protetta) per i prodotti agricoli, previsti dalle normative CEE (Regolamenti 2081 e 2082 del 1992), potrebbe offrire buone opportunità di promozione e tutela di quei prodotti le cui caratteristiche siano dovute a un'area geograficamente determinata.

Nella normativa inerente le DOP e le IGP esistono però elementi che ne condizionano negativamente l'applicazione:

- la caratteristica distintiva del prodotto connessa ad una determinata zona non coincide con la suddivisione geografica della stessa;
- il valore economico del mercato regionale del miele non è tale da giustificare le operazioni di tutela e gestione della denominazione.

Tali vincoli escludono gran parte dei mieli di produzione nazionale da questo percorso, perché non potranno mai configurarsi come prodotti con una valenza economica tale da giustificare una politica di tutela e denominazione; nel caso del miele di robinia, l'insieme dei risultati ottenuti costituisce una significativa caratterizzazione botanica e geografica dei mieli italiani di *Robinia pseudoacacia*, che potrebbero quindi possedere i requisiti richiesti dalla normativa vigente.

LETTERATURA CITATA

- D.M. 20/07/84 – *Metodi ufficiali di analisi per il controllo delle caratteristiche di composizione del miele*. G.U. 24/07/1984, 282: 8555-8559.
- FINI M.A., SABATINI A.G., 1971 – *Caratterizzazione dei mieli italiani I: mieli di Robinia pseudoacacia*. Quaderni di merceologia, 10(II): 115-132.
- LOUVEAUX J., MAURIZIO A., VORWHOL G., 1978 – *Methods of melissopalynology*. Bee World, 59(4): 139-157.
- MAURIZIO A., LOUVEAUX J., 1965 – *Pollen de plantes mellifères d'Europe*. Union Groupements Apicoles, Paris.
- PERSANO ODDO L., RICCIARDELLI D'ALBORE G., 1989 –

Nomenclatura melissopalinologica. Apicoltura, 5: 63-72.

RICCIARDELLI D'ALBORE G., 1997 – *Textbook of melissopalynology*. Apimondia Publishing House, Bucharest.
—, 1998 – *Mediterranean Melissopalynology*. Univ. Perugia, Fac. Agraria.

RIASSUNTO - Il miele è indubbiamente un prodotto legato al territorio di produzione, in quanto le sue caratteristiche di composizione e organolettiche derivano principalmente dal tipo di flora bottinata. L'elemento "origine geografica", quindi, è alla base di differenze relativamente costanti e riconoscibili, che rendono i prodotti non equivalenti l'uno all'altro. Il contenuto pollinico permette di riconoscere l'origine geografica, l'origine botanica e anche l'unifloralità o multifloralità del miele. L'orientamento generale di questi ultimi anni è di perseguire la qualità attraverso la tipizzazione del prodotto, cioè basata sull'origine geografica e/o botanica. In questo quadro si inserisce la tendenza all'istituzione di marchi di qualità e di origine, che promuovono i prodotti migliori degli apicoltori e aiutano il consumatore ad individuare i mieli con caratteristiche specifiche e garantite. Proprio in quest'ambito si inserisce questo lavoro di ricerca che ha lo scopo di valorizzare le caratteristiche del miele italiano di robinia, che trova grande concorrenza nei mieli esteri. La campionatu-

ra raccolta, costituita da 225 mieli di robinia italiani, è stata inizialmente sottoposta ad analisi fisico-chimiche per una valutazione complessiva del prodotto. I risultati hanno dato valori rispondenti ai limiti previsti dalla legge vigente. I campioni sono stati successivamente sottoposti ad analisi melissopalinologica qualitativa e quantitativa. Sono stati individuati 110 tipi pollinici. La percentuale del polline di *Robinia* è risultata variabile tra 8 e 89%. Sono state evidenziate alcune associazioni che possono essere considerate indicative dell'origine geografica. La caratterizzazione pollinica permette di discriminare i mieli di robinia prodotti nella diverse regioni italiane e quindi, a maggior ragione, di poterli distinguere dalle produzioni estere. Il miele di robinia italiano è considerato un prodotto di "nicchia", per poterlo tutelare occorre promuovere una intensa strategia di valorizzazione su diversi fronti: la presenza di marchi come IGP (Indicazione Geografica Protetta) e DOP (Denominazione di Origine Protetta) potrebbe offrire buone opportunità di promozione e tutela di quei prodotti le cui caratteristiche siano dovute a un'area geograficamente determinata. Nel caso studiato, l'insieme dei risultati ottenuti costituisce una significativa caratterizzazione botanica e geografica dei mieli italiani di *Robinia pseudoacacia*, che potrebbero quindi possedere i requisiti richiesti dalla normativa vigente.

AUTORI

F.V. Grillenzoni, A.G. Sabatini, N. Margotti, Istituto Nazionale di Apicoltura, Via di Saliceto, 80, 40128 Bologna

Screening sull'origine botanica e sulla composizione chimica di cinque frazioni diversamente colorate di polline raccolto dalle api

L. MENGHINI, R. PAGIOTTI, N. POCESCHI e A. MENGHINI

ABSTRACT - *Screening on the botanical origin and chemical composition of five diversely coloured fractions of bee-collected pollen* - Commercial samples of bee-collected pollen have been divided into five groups on the basis of the different colours. The different groups have been analyzed separately, attempting to detect their content in primary (soluble proteins, sugars) and secondary (antocyanins, flavonoids, carotenoids) metabolites. Interesting quantities of flavonoids (until 10 mg/g of pollen) and antocyanins were found.

Key words: antocyanins, carotenoids, chemical composition, flavonoids, metabolites, pollen

INTRODUZIONE

Il polline costituisce un materiale d'origine vegetale di un certo interesse sia dal punto di vista nutrizionale che terapeutico. Poco si sa però sulla sua composizione reale e sulle conseguente possibili applicazioni. Con lo scopo di approfondire la tematica biologico-analitica e nell'ottica di trovare una ragione funzionale alla attività salutare, abbiamo iniziato uno screening su campioni di polline millefiori.

Le api raccolgono polline per nutrire la covata. Lo prelevano direttamente dai fiori, riducono la consistenza polverulenta aggiungendo nettare e il secreto delle ghiandole salivari. Dopo averlo reso più pastoso e malleabile, con una serie di rapidissimi movimenti delle zampe, confezionano le cosiddette "pallottole" che, poste nelle "cestelle" situate nelle zampe posteriori, trasportano in alveare. Il loro colore varia in funzione della specie botanica raccolta, ma anche delle eventuali modificazioni avvenute durante le suddette operazioni.

Per raccogliere il polline l'apicoltore sottrae alle api una parte di quello destinato alla famiglia, usando le così dette "trappole a polline". Costringe cioè le api a passare attraverso le maglie di una griglia posta all'ingresso dell'alveare, in modo che le pallottole si staccano dalle zampe e cadono in un cassetto sottostante. Le trappole trattengono solo una parte di polline, all'incirca il 20%, per non privare di apporto proteico il regime alimentare delle giovani larve.

In letteratura il valore nutrizionale del polline è dato per alto, essendo ricco di proteine (fino al 20%), amminoacidi essenziali, zuccheri (fino al 30%), vitamine, sostanze minerali, enzimi, sostanze ad attività antibio-

tica e ormonale. Contiene anche pigmenti di varia natura che gli conferiscono il colore caratteristico. In generale però risultano poco studiati i prodotti del metabolismo secondario, che invece sono presenti e potrebbero giustificare l'attività terapeutica del prodotto. Per quanto riguarda i flavonoidi, ad esempio, sono stati messi in evidenza in pollini di diversa origine geografica (TOMAS BARBERAN et al., 1993), di biancospino (DAUGUET et al., 1993) di tife (GAO et al., 1998). Attraverso il polline i flavonoidi sono presenti anche nel miele (FERRERES et al., 1992). I rapporti tra flavonoidi e fenoli sono stati utilizzati per caratterizzare i pollini (CAMPOS et al., 1997).

L'uso sempre più diffuso del polline in prodotti salutari destinati alla cura di alcune patologie ricorrenti e diffuse, ad esempio del trattamento delle infiammazioni prostatiche, ci ha indotti a prendere in esame la composizione del polline millefiori che sul mercato viene venduto a tale scopo e ad analizzare i contenuti di alcune classi di metaboliti primari e secondari. Ciò anche con lo scopo di trovare, al di là di una diretta correlazione con l'attività terapeutica, un'eventuale chiave di identificazione chemiotassonomica tra pollini appartenenti a specie diverse.

MATERIALI E METODI

I campioni di polline da analizzare sono stati prelevati da una partita messa in commercio in confezioni sottovuoto spinto da un chilogrammo con l'indicazione, in etichetta, di "Polline millefiori". Dal punto di vista della colorazione i campioni si presentavano molto eterogenei. Come prima operazione

abbiamo effettuato, perciò, la separazione manuale delle pallottole distinguendole in cinque tipi sulla base dei cinque colori più rappresentati (giallo, marrone, arancio, grigio, nero).

Al MO è stata poi eseguita l'analisi morfologica e biometrica al fine di individuare la famiglia e, quando possibile, il genere e/o la specie di appartenenza. I granuli sono stati colorati con fucsina basica glicerinata, un colorante specifico che evidenzia la sporopollenina, il costituente della parete pollinica: questa, con tutte le sue sculturazioni, assume un colore fucsina brillante e i granuli di polline possono così essere osservati e misurati agevolmente.

Ciascuna frazione poi è stata sottoposta, separatamente, ad una serie di analisi con le metodiche cromatografiche normalmente usate per la ricerca dei prodotti del metabolismo primario e secondario (TLC, HPLC).

Abbiamo analizzato i campioni per i seguenti metaboliti: zuccheri solubili totali con il metodo cosiddetto dell'antrone (SUNDERWRITER *et al.*, 1964), proteine solubili totali con il metodo colorimetrico di LOWRY *et al.* (1951), flavonoidi totali con il metodo di SINGLETON *et al.* (1971), antociani con il metodo di RIBEREAU GAYON *et al.* (1965) che sfrutta il potere spettrofotometrico per confronto di assorbimento con una soluzione a concentrazione nota di malvina, carotenoidi totali il cui contenuto è stato determinato analizzando l'estratto acetone mediante HPLC e facendo il confronto con una soluzione standard di β -carotene a concentrazione nota (POCCESCHI *et al.*, 1990).

RISULTATI E DISCUSSIONE

Identificazione botanica

A prima vista i campioni di polline esaminati si presentavano molto eterogenei per la colorazione nonché per la grandezza e la consistenza delle "pallottole". È stato possibile separare le seguenti cinque classi di colore, secondo le possibilità cromatiche offerte dal campione stesso: nero (scuro), marrone, arancio, giallo (brillante), grigio-verde.

I cinque tipi sono stati anche "solubilizzati" in acqua per avere una prima idea della loro consistenza. Ne sono risultati tempi diversi di solubilizzazione: erano più brevi per i campioni di consistenza più farinosa (aggregati di color giallo brillante), più lunghi per quelli più compatti e disidratati (aggregati marroni e grigio-verdi).

L'esame microscopico ha poi dimostrato che ad ogni colore corrisponde in linea di massima un gruppo sistematico ben distinto. I pollini di colore diverso appartengono cioè a famiglie o specie diverse. Il dato non è assoluto: in ogni pallottola sono presenti granuli di specie diverse, ma erano preponderanti solo quelli di una specie.

Più esattamente è stato possibile stabilire le seguenti corrispondenze tra colore dei pollini e famiglia botanica (tra parentesi il genere o la specie predominanti):

Nero: Boraginaceae, *Echium sp.*;

Marrone: Fagaceae, *Quercus ilex*;

Arancio: Leguminosae, *Colutea sp.*;

Giallo: Fagaceae, *Quercus pubescens*;

Grigio-verde: Myrtaceae, *Eucalyptus sp.* o *Myrtus sp.*

La frazione quantitativamente più rappresentativa è risultata la gialla dovuta per lo più alla roverella con una percentuale del 47,3%. La frazione di leguminose è più bassa (27%) e più bassa ancora quella di leccio (13,5%) e di mirtacee (8,8%). La meno abbondante di tutte è quella di color nero (Boraginaceae), che ha una percentuale del 3,4% (Fig. 1).

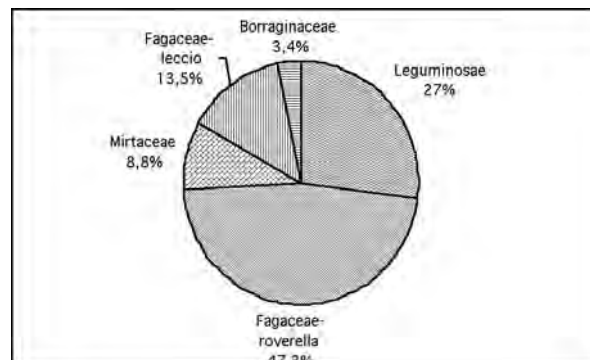


Fig. 1

Ripartizione percentuale del peso totale di pollini sulla base dei diversi colori.

The percentage contribution of the different pollens to the total weight divided on the color basis.

Esame fitochimico

La ricerca è stata rivolta a dosare una serie di metaboliti primari e secondari, con lo scopo di mettere in evidenza le qualità nutrizionali e salutari del polline millefiori.

I risultati finora ottenuti (valori medi) sono sinteticamente riportati qui appresso.

Zuccheri solubili (Fig. 2)

La frazione con il più alto contenuto di zuccheri solubili è risultata essere quella gialla (roverella) con un contenuto di 250 mg/g di zuccheri. A scalare, con valori di poco inferiori e comunque sempre superiori a 200 mg/g, si pongono, rispettivamente, la frazione marrone (leccio), quella arancio (leguminose) e quella grigia (mirtacee). La frazione nera (Boraginaceae) con 182 mg/g è stata quella con il più basso valore di zuccheri solubili.

Proteine totali (Fig. 3)

Il contenuto più alto in proteine solubili è stato riscontrato nella frazione grigia (Myrtaceae) con un valore di 172 mg/g, mentre quello più basso appartiene alla frazione gialla (Fagaceae-roverella) con valore di 102 mg/g di polline. Le altre frazioni hanno fatto registrare valori da 165 mg/g a 144 mg/g, rispettivamente per quella nera delle boraginacee e quella arancio delle leguminose.

Flavonoidi totali (Fig. 4)

Piuttosto omogenei i valori relativi alla quantità di

flavonoidi totali, che oscilla in un range compreso tra 10,1 mg/g per la frazione grigia delle mirtacee e 6,45 mg/g di quella arancio delle leguminose, con un valore medio, per tutto il miscuglio di polline, intorno a 8 mg/g.

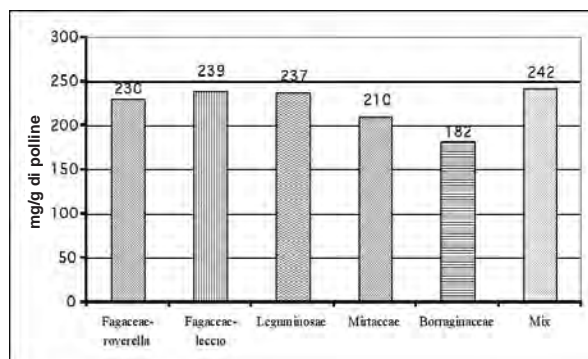


Fig. 2

Contenuto totale di zuccheri in ciascuna frazione di polline.

Total soluble sugar content in pollen from different botanical family.

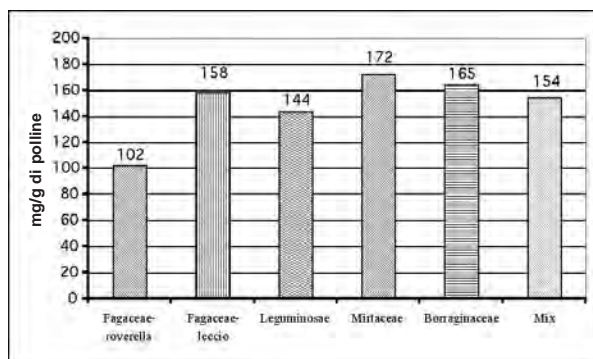


Fig. 3

Contenuto di proteine totali in ciascuna frazione di polline.

Total soluble protein content in pollen from different botanical family.

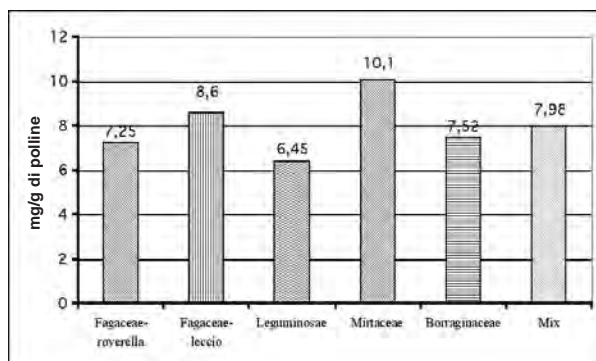


Fig. 4

Contenuto di flavonoidi in ciascuna frazione di polline.
Flavonoid content in pollen from different botanical family.

Antociani totali (Fig. 5)

Ugualmente omogenei i valori relativi al contenuto in antociani, almeno per quattro delle cinque frazioni di polline. Dalla Fig. 5 si osserva che la frazione gialla (Fagaceae-roverella) con 2,48 mg/g di polline è stata quella più ricca di antociani, seguita da quella delle leguminose (2,28 mg/g), da quella delle mirtacee (2,12 mg/g) e da quella del leccio (1,89 mg/g). Decisamente più basso (1,07 mg/g di polline) il contenuto della frazione delle borraginacee.

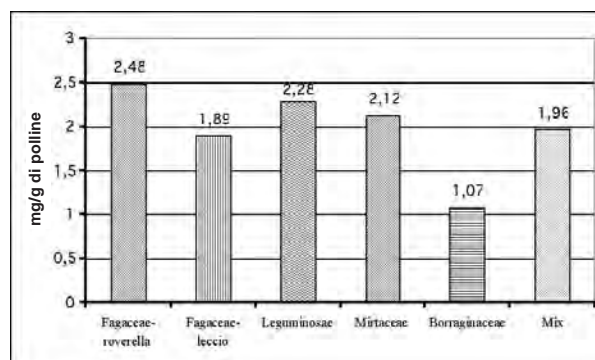


Fig. 5

Contenuto di antociani in ciascuna frazione di polline.
Antocyan content in pollen from different botanical family.

Carotenoidi totali (Fig. 6)

La quantità di carotenoidi, calcolata su quattro delle cinque frazioni, varia moltissimo passando da 4,6 µg/g di quella della roverella a 12 µg/g in quella del leccio, a 17 µg/g nel gruppo delle leguminose e a 21,4 µg/g nelle mirtacee. Non è stato possibile calcolare questo dato per la frazione delle borraginacee, che, come si è visto, era la meno abbondante nel miscuglio del campione.

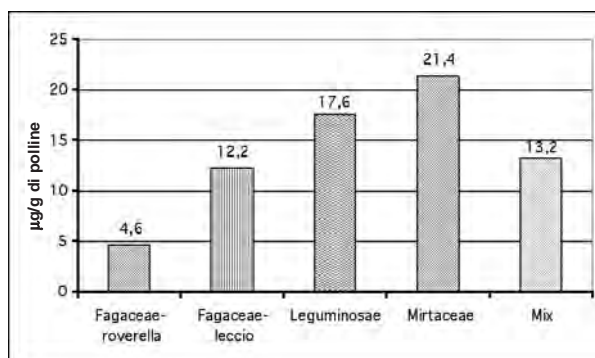


Fig. 6

Contenuto di carotenoidi in ciascuna frazione di polline.
Carotenoid content in pollen from different botanical family.

CONCLUSIONI

La composizione percentuale ricavata della partita di polline "Millefiori" da noi esaminata permette, in una certa misura, di fornire informazioni utili, anche se non certe, per definire la provenienza del campione, sicuramente legato ad un ambiente mediterraneo o submediterraneo stante la presenza di specie tipiche di queste fasce.

Per quanto riguarda l'aspetto analitico sono emerse differenze minime di contenuto tra le diverse frazioni di polline solo per quanto concerne gli zuccheri. Ciò conferma quanto già noto in letteratura, e cioè che nei pollini essi rappresentano la componente maggiore. Tuttavia tale dato, insieme a quello delle proteine, è risultato più basso rispetto a quello che spesso si trova in altri prodotti d'origine vegetale, e ciò in linea di massima farebbe escludere un alto valore nutrizionale da parte del polline.

Va tenuto conto tuttavia che spesso dal punto di vista nutrizionale sono gli aspetti qualitativi, e non quantitativi, che determinano il valore di un prodotto. Il che significa che prima di dare un'affermazione categorica sarà utile procedere ad uno screening mirato a verificare, ad esempio, la presenza e i rapporti percentuali dei vari tipi di zuccheri e di amminoacidi.

Per quanto riguarda invece i metaboliti secondari, possiamo affermare che il polline, pur mostrando contenuti anche molto differenti da una frazione all'altra, ne contiene quantità anche consistenti. Sebbene talvolta le differenze siano risultate molto marcate, come nel caso dei carotenoidi, in cui il rapporto tra la frazione grigia (polline di mirtacee) e la frazione gialla (polline di roverella) è di circa 5:1, la presenza di composti la cui attività biologica è ormai unanimemente riconosciuta, conferirebbe al polline raccolto dalle api le riconosciute proprietà terapeutiche. La ricerca dettagliata di componenti specifici potrebbe rendere qualificante il suo uso, e giustificare l'attività verso certe patologie infiammatorie quali ad esempio le prostatiti, per la cura delle quali è tuttora indicato.

Ringraziamenti - Gli autori ringraziano Emma Bricchi e Orietta Iannotti per aver contribuito alla

determinazione botanica del polline ed Enrico Piermatti per l'assistenza tecnica.

LETTERATURA CITATA

- CAMPOS M., MARKHAM K.R., MITCHELL K. A., DA CUNHA A. P., 1997 - *An approach to the characterization of bee pollens via their flavonoid/phenolic profiles*, *Phytochem. Analysis*, 8: 181-185.
- DAUGUET J. C., BERT M., DOLLEY J., BEKAERT A., LEWIN G., 1993 - *8-Methoxykaempferol 3-neohesperidoside and other flavonoids from bee pollen of Crataegus monogyna*. *Phytochemistry*, 33: 1503-1505.
- FERRERES F., ORTIZ A., SILVA C., GARCIA VIGUERA C., TOMAS BARBERAN F. A., TOMAS LORENTE F., 1992 - *Flavonoids of "La Alcarria" honey. A study of their botanical origin*. *Zeitschr. Lebensmittel Untersuch. und Forsch.*, 194: 139-143.
- GAO G. Y., LIAO M. C., FENG Y. X., 1998 - *Determination of flavonoids and quality evaluation of the Chinese traditional drug "Puhuang"*. *Acta Pharm. Sinica*, 33: 300-303.
- LOWRY O. H., ROSEBROUGH J.N., FARR A.L., RANDALL R.J., 1951 - *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275.
- POCCESCHI N., MENGHINI A., ROMANO B., VENANZI G., FORNACIARI M., 1990 - *Contenuto di pigmenti e amminoacidi liberi nelle foglie di Angelica arcangelica*. *L. Ann. Fac. Agr. Univ. Perugia*, XLIV: 261-266.
- RIBERAU-GAYON P. et STONESTREET E., 1965 - *Chimie Analit.*, 48: 188.
- SINGLETON V.L., SULLIVAN A. R., KRAMER C., 1971 - *Am. J. Enol. Vitic.*, 22: 161.
- SUNDERWIRTER S. G., OLSON C. G., JOHNSON G., 1964 - *Paper chromatographic-anthrone determination of sugars*. *J. Chromatogr.*, 16: 176-180.
- TOMAS BARBERAN F. A., FERRERES F., GARCIA VIGUERA C., TOMAS LORENTE F., 1993 - *Flavonoids in honey of different geographical origin*. *Zeitschr. Lebensmittel Untersuch. und Forsch.*, 196: 38-44.

RIASSUNTO - Il polline raccolto dalle api è stato differenziato in cinque frazioni sulla base del diverso colore delle pallottole, e attribuito a cinque diverse famiglie botaniche. Sulle stesse si è proceduto poi a determinare le quantità di zuccheri e di proteine solubili, di flavonoidi, antociani e carotenoidi, con lo scopo di trovare una correlazione diretta tra composizione del polline e la particolare attività terapeutica dello stesso. Tutte le frazioni sono risultate ricche di flavonoidi e degli altri metaboliti.

AUTORI

Luigi Menghini, Rita Pagiotti, Novello Poceschi, Alessandro Menghini, Dipartimento di Biologia Vegetale e Biotecnologie Agroambientali, Università di Perugia, Borgo XX Giugno 74, 06121 Perugia

Identificazione di granuli pollinici di *Poaceae* spesso presenti nelle pallottole raccolte dalle api

W. DE LEONARDIS, C. DE SANTIS, G. FICHERA, N. LONGHITANO, A. ZIZZA e R. CONIGLIONE

ABSTRACT - *Identification of Poaceae pollen grains often present in the pollen loads collected by bees* – On the basis of the biometric parameters that are easily identifiable and measurable under the optical microscope (polare asse, equatoriale asse) a palynological identification key was elaborated for 52 spontaneous, wild and cultivated *Poaceae*, whose pollens are often present in the pollen loads collected by bees. Twelve palynological morphotipos (of which six monospecific) were found that do not confirm the systematic placing proposed by various authors. Relatively to the pollen grains belonging to the *Poaceae*, the monospecific morphotipos that we have examined represent, however, a useful means to study the botanic origin of pollen loads of a given territory. The pollen grains of *Zea mays* L., those ones of *Triticum durum* Desf. and *T. aestivum* L. tetraploid and exaploid cultivars have larger size than the spontaneous and wild species.

Key words: melissopalynology, pollen loads

INTRODUZIONE

Le *Poaceae* sono piante anemofile non nettarifere di limitato interesse apistico (RICCIARDELLI D'ALBORE, PERSANO ODDO, 1978; ZIZZA *et al.*, 1985; DE LEONARDIS *et al.*, 1986; SIMONETTI *et al.*, 1989; RICCIARDELLI D'ALBORE, 1998). I granuli pollinici di questa famiglia sono però presenti in modo rilevante nelle pallottole raccolte dalle api, pallottole che, addizionate a saliva e nettare, forniscono la principale fonte di proteine, sali minerali e vitamine per la nutrizione delle colonie.

Sia l'identificazione dei granuli pollinici nei mieli che la struttura, la forma, la grandezza ed il colore delle pallottole di polline possono rappresentare un utile mezzo di conoscenza delle sorgenti florali dei mieli (PERCIVAL, 1947; LOUVEAUX, 1958a, b; FERRAZZI, 1977; RICCIARDELLI D'ALBORE, PIASTRELLI, 1977; HODGES, 1984; SERRA *et al.*, 1986; SERRA, 1988; DE LEONARDIS *et al.*, 1989; HIDALGO, BOOTELLO, 1990; DE LEONARDIS, ZIZZA, 1994).

In uno studio effettuato da FORLANI *et al.* (1998) sulla composizione e variabilità in polline delle pallottole si evidenzia che queste sono generalmente costituite da pollini rappresentativi di Compositae, Cruciferae, Rosaceae, Salicaceae, Ulmaceae, Chenopodiaceae, Plantaginaceae, *Poaceae*, etc. Ad un periodo di minima raccolta (maggio-giugno) con pallottole ricche di polline anemofilo ad alto valore nutritivo (*Papaver rhoeas* tipo, Cruciferae, Fabaceae, etc.) si alternano due periodi di massima raccolta

(aprile e luglio-agosto) con pallottole ricche di polline anemofilo con minor valore nutritivo (*Artemisia* sp., *Plantago lanceolata* tipo, *Hordeum* gruppo). A proposito del tipo pollinico "*Hordeum* gruppo", FORLANI *et al.* (l.c.) scrivono: "...."che in esso entrino pollini di orzo, parte dei pollini di sorgo e probabilmente alcune Gramineae spontanee".

E' sulla base di questa osservazione che nel presente studio è stata affrontata l'identificazione dei granuli pollinici di *Poaceae* spontanee, inselvatichite e coltivate.

MATERIALI E METODI

Il materiale pollinico prelevato dalle antere è stato acetolizzato secondo la tecnica di ERDTMAN (1960) e conservato in acqua glicerinata (1:1). Le osservazioni al microscopio ottico sono state effettuate utilizzando un microscopio Zeiss con obbiettivi 100x e 40x e con oculari 10x.

La terminologia palinologica e la nomenclatura tassonomica seguono i lavori di ERDTMAN (1969), DE LEONARDIS *et al.* (1986) e FIORI (1969), TUTIN (1980), PIGNATTI (1982) rispettivamente.

La biometria è riportata nella Tab. 1. Tutti i campioni sono conservati nell'erbario del Dipartimento di Botanica di Catania (CAT).

Per evitare ambiguità di interpretazione durante le misurazioni gli autori hanno misurato l'asse polare nella direzione di maggiore lunghezza, indipendente-

mente dalla posizione del poro, mentre l'asse equatoriale è stato misurato secondo l'asse perpendicolare all'asse polare e passante nel punto medio di quest'ultimo.

Abbreviazioni adottate nella Tab. 1: P = asse polare; E = asse equatoriale.

RISULTATI E DISCUSSIONE

I granuli pollinici delle 52 entità esaminate sono caratterizzate da monadi radiosimmetriche (più raramente bilaterali per spostamento del poro), costantemente monoporati. Il poro è circondato da un annulus di spessore e larghezza variabile ed è fornito di opercolo che generalmente si distacca durante il processo acetolitico.

Soprattutto in base alla lunghezza dell'asse polare, ed in misura minore per quella dell'asse equatoriale, è stata elaborata una chiave di identificazione che individua 12 morfotipi, di cui 6 comprensivi di più taxa e 6 monospecifici.

In base alla forma dei granuli PLÁ-DALMAU (1961) suddivide le Poaceae in 2 gruppi: granuli prolati o prolato sferoidali e granuli sferoidali. FERNÁNDEZ (1987) include i pollini delle 90 specie esaminate nel tipo *Festuca arundinacea* caratterizzato da diametro del granulo 16-47 µm, diametro poro 2-4 µm, spessore esina 1-1.5 µm con sexina più spessa della nexina.

BEUG (1961), FAEGRI, IVERSEN (1964), LEROI-GOURHAN (1970), ANDERSEN (1978), DE LEONAR-

DIS *et al.* (1983, 1992) ritengono che caratteri estremamente interessanti per una distinzione infragenerale ed infraspecie siano le dimensioni del poro e dell'annulus, mentre la dimensione del granulo, l'indice esina e l'ornamentazione assumerebbero secondaria importanza.

Se confrontiamo la Tab.1 e la chiave di identificazione i valori dell'asse polare possono risultare diacritici anche per specie appartenenti allo stesso genere come *Poa infirma* (tipo¹) e *Poa compressa* (tipo²), *Dactylis glomerata* (tipo²) e *Dactylis hispanica* (tipo³).

Spesso però si riscontrano specie appartenenti allo stesso genere con valori sovrapponibili dell'asse polare per cui è necessario introdurre ulteriori parametri biometrici. In questo modo possiamo separare *Avena barbata* da *A. fatua* e *A. sterilis* per la lunghezza dell'asse equatoriale.

L'accorpamento delle specie nei diversi tipi palinologici mostra, per citare qualche esempio, come nel tipo palinologico *Lamarckia aurea* (*Agrostis stolonifera*, *Holcus lanatus*, *Poa infirma*) le prime due specie sono state collocate da TUTIN (1980) nella tribù Aveneae e la terza nella tribù Poeae, diversamente da FIORI (1969) che inquadra *A. stolonifera* nella tribù Agrostideae, *H. lanatus* nella tribù Aveneae e *P. infirma* nella tribù Festuceae.

Nel tipo palinologico *Festuca circummediterranea* (consideriamo per semplicità solamente *D. villosum* e *Ampelodesmos mauritanicus*) *D. villosum* fu piazzato nelle tribù Triticeae e Hordeae rispettivamente da

TABELLA 1

Elenco delle 52 entità appartenenti alle Poaceae e misure degli assi, polare ed equatoriale, espresse in mm.
List of the 52 Poaceae entities and measures of the polar and equatorial axes expressed in mm.

Taxa	P	E	Taxa	P	E
<i>Aegilops geniculata</i>	42(40)40	40(38)38	<i>Lolium multiflorum</i>	40(38)38	36(35)34
<i>Agropyron junceum</i>	45(43)40	42(39)37	<i>Lolium perenne</i>	40(38)37	34(31)30
<i>Agrostis stolonifera</i>	25(23)21	25(22)19	<i>Lophochloa cristata</i>	25(24)24	25(24)24
<i>Ampelodesmos mauritanicus</i>	36(34)32	34(31)29	<i>Lygeum spartum</i>	30(28)27	67(59)54
<i>Andropogon distachyus</i>	12(11)10	10(9) 8	<i>Melica ciliata</i>	32(30)30	31(28)27
<i>Anthoxanthum odoratum</i>	34(31)30	31(27)23	<i>Melica magnolii</i>	33(32)31	31(30)29
<i>Avena barbata</i>	51(49)49	40(38)36	<i>Oryzopsis miliacea</i>	40(39)39	40(38)37
<i>Avena fatua</i>	57(56)55	51(49)48	<i>Pennisetum setaceum</i>	40(37)37	37(36)34
<i>Avena sterilis</i>	55(50)47	47(40)40	<i>Phalaris brachystachys</i>	36(34)34	34(33)33
<i>Brachypodium distachyum</i>	33(32)32	32(31)31	<i>Phalaris bulbosa</i>	37(35)35	32(30)28
<i>Briza maxima</i>	32(30)30	31(29)27	<i>Phalaris minor</i>	36(35)35	36(34)34
<i>Bromus hordeaceus</i>	36(35)33	35(34)33	<i>Phalaris paradoxa</i>	36(34)34	34(32)32
<i>Bromus sterilis</i>	40(38)38	39(37)37	<i>Phleum echinatum</i>	34(31)30	32(29)28
<i>Bromus tectorum</i>	45(44)42	42(41)40	<i>Poa compressa</i>	30(28)27	28(26)25
<i>Cymbopogon hirtus</i>	45(41)40	43(39)37	<i>Poa infirma</i>	25(24)24	24(22)20
<i>Cynodon dactylon</i>	18(17)17	18(16)16	<i>Poa trivialis</i>	25(24)22	25(21)20
<i>Cynosurus echinatus</i>	29(27)27	27(25)24	<i>Secale strictum</i>	32(30)30	42(40)38
<i>Dactylis glomerata</i>	30(29)28	28(26)25	<i>Setaria verticillata</i>	27(26)26	26(25)25
<i>Dactylis hispanica</i>	35(32)30	33(30)29	<i>Sorghum halepense</i>	45(39)35	42(35)37
<i>Dasyphyrum villosum</i>	35(32)31	43(39)31	<i>Stipa capensis</i>	30(29)28	29(27)25
<i>Festuca circummediterranea</i>	35(32)31	32(28)22	<i>Trisetaria aurea</i>	25(22)22	22(20)19
<i>Gastridium ventricosum</i>	35(33)33	34(32)31	<i>Triticum aestivum</i> cv. "Adria"	64(59)52	53(49)45
<i>Holcus lanatus</i>	25(23)22	24(21)21	<i>Triticum aestivum</i> cv. "Manital"	64(61)42	61(53)50
<i>Hordeum murinum</i>	35(34)33	34(33)32	<i>Triticum durum</i> cv. "Aldura"	66(54)44	63(50)39
<i>Lagurus ovatus</i>	30(29)28	32(29)28	<i>Triticum durum</i> cv. "Valriccardo"	60(53)48	52(48)45
<i>Lamarckia aurea</i>	25(22)21	27(21)20	<i>Zea mays</i>	100(92)87	95(86)77

1 Asse polare 10-12 mm	<i>Andropogon distachyus</i> tipo
1 Asse polare 17-18 mm	<i>Cynodon dactylon</i> tipo
1 Asse polare 19-25 mm	<i>Lamarckia aurea</i> tipo ¹
1 Asse polare 25-27 mm	<i>Setaria verticillata</i> tipo
1 Asse polare 27-30 mm	<i>Poa compressa</i> tipo ²
1 Asse polare 30-37 mm	<i>Festuca circummediterranea</i> tipo ³
1 Asse polare 37-45 mm	2
1 Asse polare 42-66 mm.....	3
1 Asse polare 87-100 mm	<i>Zea mays</i> tipo
2 Asse equatoriale 30-34 mm	<i>Lolium perenne</i> tipo
2 Asse equatoriale 34-37 mm	<i>Lolium multiflorum</i> tipo ⁴
2 Asse equatoriale 37-42 mm	<i>Aegilops geniculata</i> tipo ⁵
3 Asse equatoriale 36-40 mm.....	<i>Avena barbata</i> tipo
3 Asse equatoriale 39-63 mm.....	<i>Avena fatua</i> tipo ⁶

Lamarckia aurea tipo¹: *Agrostis stolonifera*, *Holcus lanatus*, *L. aurea*, *Lophochloa cristata*, *Poa infirma*, *Poa trivialis*;

Poa compressa tipo²: *Cynosurus echinatus*, *Dactylis glomerata*, *Lagurus ovatus*, *Lygeum spartum*, *P. compressa*, *Stipa capensis*;

Festuca circummediterranea tipo³: *Ampelodesmos mauritanicus*, *Brachypodium distachyum*, *Briza maxima*, *Bromus hordaceus*, *Dactylis hispanica*, *Dasyphyrum villosum*, *F. circummediterranea*, *Hordeum murinum*, *Melica ciliata*, *Melica magnolii*, *Phalaris paradoxa*, *Secale strictum*;

Lolium multiflorum tipo⁴: *L. multiflorum*, *Pennisetum setaceum*;

Aegilops geniculata tipo⁵: *A. geniculata*, *Agropyron junceum*, *Bromus tectorum*, *Bromus sterilis*, *Cymbopogon hirtus*, *Oryzopsis miliacea*, *Sorghum halepense*;

Avena fatua tipo⁶: *A. fatua*, *A. sterilis*, *Triticum durum* cvs. "Aldura", "Valriccardo", *T. aestivum* cvs. "Adria", "Manital".

TUTIN (1980) e da FIORI (1969), mentre *A. mauritanicus* fu ascritto nelle tribù Ampelodesmeae da TUTIN (1980) e Arundineae da FIORI (1969).

Da questi esempi si evidenzia come specie appartenenti a tribù diverse siano inserite nello stesso tipo palinologico o viceversa, per cui i dati biometrico-palinologici non confermano, nella generalità dei casi, gli inquadramenti sistematici proposti. Comunque, l'utilizzazione di due parametri biometrici facilmente misurabili (asse polare, asse equatoriale) permette di costruire una chiave di identificazione con 12 morfotipi di cui 6 monospecifici che contribuiscono ad approfondire l'origine botanica delle pallottole raccolte dalle api relativamente ai granuli pollinici appartenenti alle Poaceae.

Ringraziamenti - Questo studio è stato supportato dal M.U.R.S.T. (60%).

LETTERATURA CITATA

- ANDERSEN S.T., 1978 - *On the size of Corylus avellana L. pollen mounted in silicone oil*. Grana, 17: 5-13.
 BEUG H.J., 1961 - *Leitfaden der Pollenbestimmung für Mitteleuropa und angrenzende Gebiete. Lief. I*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
 DE LEONARDIS W., LONGHITANO N., PICCIONE V., 1983 - *Caratterizzazione palinologica delle cultivars Patrizio 6 e Capeiti 8 (Triticeae)*. Sementi Elette, 5: 3-7.
 DE LEONARDIS W., LONGHITANO N., ZIZZA A., 1989 - *Relazione tra ambiente floristico e origine botanica dei mieli iblei (Sicilia sud-orientale)*. Apicoltura, 5: 73-118.
 DE LEONARDIS W., PALMIERI MATARESE R., SCALIA C., 1992 - *Studio palinologico di cultivar di Triticum durum Desf. e T. aestivum L.* Arch. Bot. Ital., 68(1/2):

44-54.

- DE LEONARDIS W., PICCIONE V., ZIZZA A., 1986 - *Flora melissopalnologica d'Italia. Chiavi di identificazione*. Boll. Acc. Gioenia Sci. Nat., 19(329): 309-474.
 DE LEONARDIS W., ZIZZA A., 1994 - *Flora di interesse apistico dell'isola di Salina (Arcipelago Eoliano). Prospettive e Potenzialità*. Apicoltura, 9: 73-101.
 ERDTMAN G., 1960 - *The acetolysis method*. Svenk. Bot. Tidskr., 54: 561-564.
 —, 1969 - *Handbook of Palynology*. Munksgaard.
 FAEGRI K., IVERSEN J., 1964 - *Textbook of pollen analysis*. Hafner, NY.
 FERNÁNDEZ I., 1987 - *Poaceae (Gramineae)*. In: B. VALDÉS, M.J. DÍEZ, I. FERNÁNDEZ (eds.), *Atlas polinico de Andalucía occidental*: 373-376. Sevilla.
 FERRAZZI P., 1977 - *Analisi melissopalnologica dei mieli della Liguria occidentale*. Apicoltore mod., 68: 74-79.
 FIORI A., 1969 - *Nuova Flora Analitica d'Italia. Graminaceae. Vol. I*: 58-164. Edagricole, Bologna.
 FORLANI L., MERCURI A.M., FOLLI P., TORRI P., TOSI B., ACCORSI C.A., 1998 - *Qualche osservazione pollinica sulla stagione di raccolta di polline d'api 1995 a Fiesso di Castenaso, 42 m s.l.m. 44°30' N 11°29' E (Bologna-Emilia Romagna-Nord Italia)*. In: Giornata di Studi in Ricordo di Daria Bertolani Marchetti, Formigine (MO), 18/5/1996. Aedes Muratoriana: 329-338. Modena.
 HIDALGO M.I., BOOTELLO M.L., 1990 - *About some physical characteristics of the pollen loads collected by Apis mellifera L.* Apicoltura, 6: 179-191.
 HODGES D., 1984 - *The pollen loads of the honey bee*. Ed. International Bee Research Association, London.
 LEROI-GOURHAN A., 1970 - *Pollen grains of Gramineae and Cerealia from Shanidar and Zawi Chemi*. In: P.J. UCKO, G.W. DIMBLEDY (eds), *Domestication and exploitation of plants and animals*: 143-148.

- Duckworth, London.
- LOUVEAUX J., 1958a – *Recherches sur l'origine dans le miel du pollen de plantes entomophiles dépourvues de nectaires*. Ann. Abeille, 1(II): 89-92.
- , 1958b – *Recherches sur la récolte du pollen par les abeilles (Apis mellifera L.)*. Ann. Abeille, 1(III): 113-188.
- PERCIVAL M., 1947 – *Pollen collection by Apis mellifera L.* New Phytol., 46: 142-173.
- PIGNATTI S., 1982 – *Flora d'Italia*. Vol. III: 451-621. Edagricole, Bologna.
- PLÁ DALMAU J.M., 1961 – *Polen*. Talleres Gráficos. D.C.P. Gerona.
- RICCIARDELLI D'ALBORE G., 1998 – *Mediterranean melissopalynology*. Ist. Entomol. Agr., Perugia
- RICCIARDELLI D'ALBORE G., PERSANO ODDO L., 1978 – *Flora Apistica Italiana*. Istit. Sper. Zool. Agr., Firenze.
- RICCIARDELLI D'ALBORE G., PIASTRELLI G., 1977 – *Origine botanica dei mieli delle Marche*. Apicoltore mod., 68: 138-143.
- SERRA J., 1988 – *Origen botánico del polen apícola producido en España*. Anales Asoc. Palinol. Len. Esp., 4: 73-78.
- SERRA J., GONELL J., GÓMEZ A., 1986 – *El polen de abeja producido en España*. Vida Apícola, 19: 35-38.
- SIMONETTI G., FRILLI F., BARBATTINI R., IOB M., 1989 – *Flora di interesse apistico. Uno studio di botanica applicata in Friuli-Venezia Giulia*. Apicoltura, 5 (appendice).
- TUTIN T.G., 1980 - Gramineae (Poaceae). In: T.G. TUTIN et al. (eds), *Flora Europaea* vol. 5: 118-267. Cambridge.
- ZIZZA A., DE LEONARDIS W., LONGHITANO N., PICCIONE V., 1985 – *Schede melissopalynologiche della Flora Apistica Siciliana. Specie coltivate (II parte)*. Boll. Acc. Gioenia Sci. Nat., 19(327): 237-298.
- RIASSUNTO - Sulla base di parametri biometrici ben identificabili e misurabili al microscopio ottico (asse polare, asse equatoriale) è stata elaborata una chiave di identificazione palinologica di 52 Poaceae spontanee, inselvatichite e coltivate, i cui pollini sono spesso presenti nelle pallottole raccolte dalle api. Sono stati evidenziati 12 morfotipi palinologici (di cui 6 monospecifici) che non confermano l'inquadramento sistematico proposto da diversi studiosi. Relativamente ai granuli pollinici appartenenti alle Poaceae, i sei morfotipi monospecifici da noi osservati rappresentano comunque un utile mezzo di indagine sull'origine botanica delle pallottole di polline di un determinato territorio. I granuli pollinici di *Zea mays* L., quelli delle cultivars tetraploidi ed esaploidi di *Triticum durum* Desf. e di *T. aestivum* L., presentano dimensioni maggiori delle specie spontanee ed inselvatichite.

AUTORI

Walter De Leonardis, Carmelinda De Santis, Girolamo Fichera, Nunzio Longhitano, Antonina Zizza, Rossella Coniglione, Dipartimento di Botanica, Università di Catania, Via A. Longo 19, 95125 Catania

Immagine pollinica attuale di prati appenninici

P. AZZOLINI e C. MONTANARI

ABSTRACT - *Contemporary pollen spectra from mown meadows in the Apennines (NW-Italy)* - The recent pollen deposition was studied in mown meadows on the eastern Ligurian Apennines. 29 pollen spectra were obtained from moss polsters, with particular care concerning the identification of the herbaceous taxa. The local pollen contribution allows the mown meadows to be characterised in comparison with similar plant communities (pastures, heathlands), while the extralocal and regional component give a general environmental outline (background component). For each taxon, the pollen representation (R/P, according to HEIM, 1970; MONTANARI, 1986) was calculated. Moreover, the quality and quantity of pollen from cultivated plants both from local sources and from the surroundings were evaluated, especially concerning the *Cerealia* type. A comparison of our data with those obtained by other Authors (e.g. HJELLE, 1997, 1998) on similar subjects even with different methods, shows a good consistency.

Key words: Ligurian Apennines, mown meadows, recent pollen spectra

INTRODUZIONE

Lo studio della deposizione pollinica attuale trova applicazione in diversi campi, e principalmente nell'ambito di studi paleoambientali. In questo caso, lo scopo principale è quello di ottenere degli spettri pollinici di ambiti vegetazionali ben conosciuti e definiti anche quantitativamente, per la creazione di modelli (analoghi attuali) da confrontare con spettri più o meno antichi e l'individuazione di taxa utilizzabili come bioindicatori (specie indicatrici). Il confronto diretto tra un contesto floristico e vegetazionale noto e la sua "immagine pollinica" permette di definire correlazioni, su basi statistiche, a livello di singola specie e di intere fitocenosi.

Si presentano qui alcuni dati riguardanti un'indagine sui prati da fieno, un tipo di vegetazione a stretto determinismo antropico, per valutare la possibilità di una loro caratterizzazione pollinica. A questo scopo, l'attenzione è stata focalizzata sulla componente pollinica locale, prodotta da specie entomogame o a dispersione modesta. Si è cercato, quindi, di spingere l'identificazione a livello di maggior dettaglio possibile in modo da individuare un ristretto numero di tipi pollinici che, potendo essere ricondotti facilmente ad una o poche specie tipiche di questo ambiente, siano utili a fini diagnostici. Inoltre, gli spettri pollinici dei prati da fieno sono stati confrontati con quelli di tipi analoghi di vegetazione antropogenica, erbacea o arbustiva (radure, lande basse, praterie pascolate), per valutare se e quanto se ne discostino. La componente extralocale e regionale, costituita da

pollini di specie anemogame soprattutto arboree, fornisce un quadro ambientale nel quale collocare questo tipo di coltivazione.

MATERIALI E METODI

La ricerca è stata condotta in due vallate dell'Appennino Ligure orientale (Val d'Aveto-Genova e Val di Vara - La Spezia), campionando 26 prati da fieno situati ad un'altitudine compresa tra 325 e 920 m s.l.m. (altri 3 campioni, raccolti al margine di prati, sono serviti a valutare le modificazioni degli spettri al contatto con ambienti diversi). Per le caratteristiche floristiche ed ecologiche di queste fitocenosi e di quelle del territorio circostante, si rimanda a studi specifici (MONTANARI *et al.*, 1988; GENTILE, 1982). Per ogni sito è stato redatto un rilevamento fitosociologico della vegetazione e si è proceduto al campionamento della deposizione pollinica tramite la raccolta al suolo di una decina di cuscinetti di muschio, trattati in seguito come campione unico. L'estrazione del contenuto pollinico dei cuscinetti è avvenuta con i metodi standard (bollitura in NaOH, lavaggi, concentrazione e acetolisi). Mediamente, sono stati identificati 1367 granuli per campione (min. 669, max. 3198). Sono stati elencati 135 taxa erbacei, 43 arborei, 19 arbustivi. Per il calcolo percentuale sono state utilizzate due somme polliniche diverse: 1) comprensiva di tutti i granuli pollinici identificati (AP + NAP); 2) solo i granuli pollinici di piante erbacee. Quest'ultima somma è

stata usata per calcolare la percentuale di presenza dei taxa erbacei, al fine di evitare che l'immagine pollinica dei prati fosse eccessivamente influenzata dalla presenza del polline di piante arboree o arbustive proveniente dai dintorni. È stata calcolata anche la concentrazione pollinica, come frequenza pollinica assoluta (FPA), cioè il numero di granuli pollinici per grammo di campione secco.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Come ci si può aspettare in ambienti di prateria, negli spettri prevale di solito il polline di piante erbacee, con una presenza media del 75,63% (min. 36,91%, max. 94,28%). Le specie arboree ed arbustive, tuttavia, sono rappresentate pollinicamente in modo considerevole, fornendo un'immagine del paesaggio vegetale circostante (apporto extralocale e regionale).

Il tasso di afforestamento medio mostra valori concordi con il tipo di struttura vegetazionale (AP/T = 0,23). Solo due campioni presentano tassi particolarmente elevati, indicanti formazioni intermedie tra quelle erbacee e le forestali, e di questi uno è stato raccolto in posizione marginale.

Riguardo alla *componente locale*, esiste una notevole corrispondenza tra vegetazione e spettri pollinici: la famiglia delle Poaceae, dominante nei prati da fieno, è anche quella il cui polline è più abbondante negli spettri (media 55,45%, min 15,38%, max 89,77%). Dal punto di vista qualitativo, i granuli pollinici di Poaceae spontanee (< 40 μ m) prevalgono su quelli del tipo cereale (> 40 μ m). Le Poaceae rappresentano da sole mediamente il 72,03% del polline di piante erbacee. Gli altri taxa erbacei locali hanno una presenza più scarsa e sporadica, sia perché le loro fonti polliniche sono meno abbondanti in questa vegetazione (es. Compositae, Rubiaceae, Umbelliferae) sia perché si tratta per lo più di piante entomogame che producono e disperdono poco polline (es. Labiatae, Dipsacaceae, Leguminosae). Le percentuali e la concentrazione nei campioni sono discontinue e, a fronte di un numero considerevole di campioni in cui i valori sono bassi, ce ne sono pochi con valori elevati; i granuli pollinici di alcune di queste famiglie (Poaceae, Compositae lig., Dipsacaceae) vengono frequentemente ritrovati ammassati in piccoli gruppi.

Rappresentazione pollinica

Un confronto quantitativo tra vegetazione e spettri pollinici è fornito dal quoziente R/P (HEJM, 1970; MONTANARI, 1986) che è il rapporto tra la copertura di un taxon nella vegetazione e la percentuale del suo polline negli spettri. Assumendo che il valore di rappresentazione di un determinato taxon rimanga invariato nel tempo e nello spazio, nell'interpretazione di paleospettri sarebbe possibile risalire dalla percentuale pollinica a quella di copertura del taxon corrispondente. Nel caso specifico, per la copertura vegetazionale (R) si è utilizzato il valore centrale della classe di abbondanza-dominanza attribuita nel rilievo fitosociologico e per il valore pollinico (P) la per-

centuale del polline rispetto alle sole piante erbacee. Così facendo, la famiglia delle Poaceae presenta in quasi tutti i campioni una percentuale di ricoprimento maggiore del 100%, per cui non può essere mai soprarappresentata. Per ovviare al problema, il rapporto R/P è stato calcolato anche rapportando a 100 le percentuali di ricoprimento desunte dal rilievo (R2). Il rapporto R/P, calcolato in entrambi i modi (R1 e R2), è stato espresso anche in termini relativi, riferendolo a quello di un taxon con valore di rappresentazione prossimo a uno, per tenere conto del fatto che il valore di rappresentazione di una specie dipende sempre dalla presenza delle altre (R_{rel} value, ANDERSEN, 1970; MONTANARI, 1989). Quale taxon di riferimento sono state utilizzate le Poaceae: benché questa famiglia non presenti valori pollinici e vegetazionali modesti, come sarebbe preferibile, è l'unica sicuramente sempre presente negli spettri pollinici di prati da fieno e pascoli e per questo è stata scelta anche in altre occasioni (HJELLE, 1998).

Labiatae, Compositae, Caryophyllaceae, Scrophulariaceae, Leguminosae e Dipsacaceae appaiono fortemente sottorappresentate ($R_2/P > 3$); sono tutte famiglie entomogame che, avendo un'impollinazione specializzata, producono poco polline rispetto alle anemogame e lo diffondono in misura minore nell'ambiente. Alcune di queste (Leguminosae, Scrophulariaceae, Labiatae) sono rappresentate da specie i cui fiori hanno antere più o meno nascoste; altre (Dipsacaceae) hanno granuli di grosse dimensioni e scarsa produzione pollinica. Le Compositae liguliflorae appaiono maggiormente sottorappresentate rispetto alle tubuliflorae. Anche *Rumex* è fortemente sottorappresentato, benché si tratti di un genere anemofilo che produce molto polline; è possibile che all'interno dei prati la sua dispersione pollinica sia meno efficace. *Galium* e *Plantago* mostrano una debole sottorappresentazione (Fig. 1); mentre

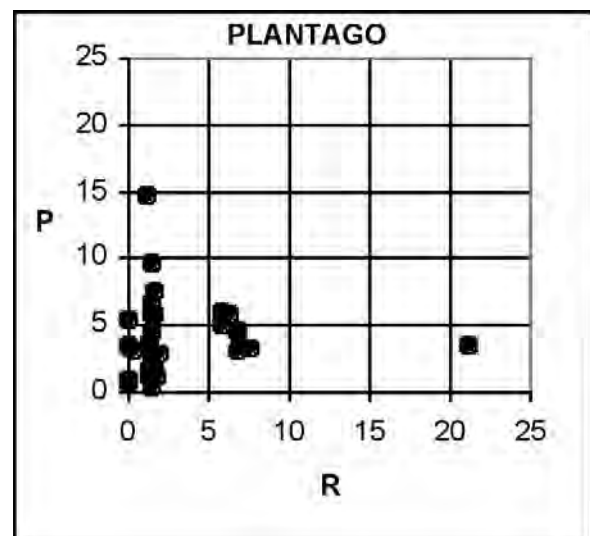


Fig. 1

Diagramma di dispersione di *Plantago* (R2).
Representation diagram of *Plantago* (R2).

Plantago è un genere con specie anemogame, i *Galium* sono entomogami, ma i loro granuli pollinici sono piccoli e facilmente dispersi anche dal vento. Un ultimo gruppo di taxa, costituito da Poaceae, Umbelliferae, Rosaceae e Ranunculaceae passa da situazioni di debole sottorappresentazione a soprarappresentazione più o meno accentuata (Fig. 2). È significativo il fatto che si tratti non solo di famiglie anemogame (Poaceae), ma anche di entomogame caratterizzate da fiori con numerose antere esposte (Umbelliferae, Rosaceae, Ranunculaceae).

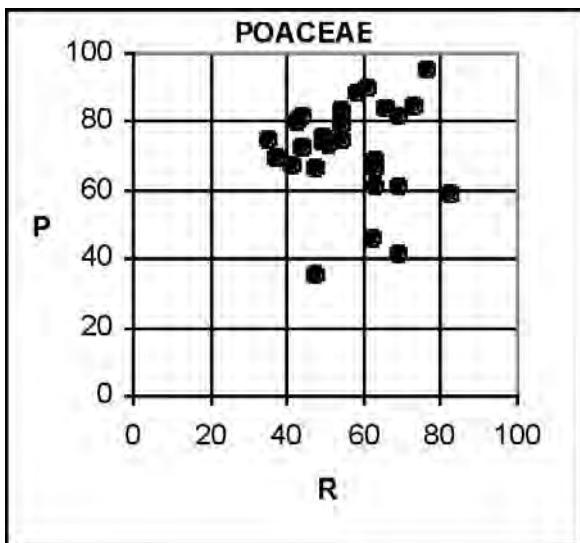


Fig. 2
Diagramma di dispersione di Poaceae (R2).
Representation diagram of Poaceae (R2).

Il rapporto R/P permette di confrontare vegetazione e spettro pollinico solo quando è presente sia il polline nello spettro che il taxon corrispondente nella vegetazione. Gli indici di *associazione* (A), *ipo-* (U) e *iperrappresentazione* (O) (DAVIS, 1984; GUIDO *et al.*, 1999) consentono di ovviare a questo problema, permettendo di valutare in che misura la presenza del polline nello spettro è associata a quella della specie di origine nella vegetazione. In generale, i tipi pollinici identificati sono ben associati alla rispettiva fonte pollinica.

Le Poaceae presentano un indice di associazione pari a uno, cioè polline e sorgente pollinica sono sempre presenti contemporaneamente. Valori elevatissimi di associazione ($A > 0.90$) sono raggiunti anche da *Galium*, Compositae e Leguminosae. Valori più bassi caratterizzano, invece, Ranunculaceae ($A = 0.45$) e Dipsacaceae ($A = 0.34$). L'analisi degli indici di ipo- e iperrappresentazione permette di capire la causa della scarsa associazione. Nel caso delle Ranunculaceae il polline è spesso presente anche laddove i rappresentanti della famiglia non lo sono (indice di iporappresentazione pari a zero), cosa che indica una notevole dispersione pollinica. Si avvicinano a questa situazione le Rosaceae e *Plantago* che,

oltre ad essere ben associate, hanno un indice di iporappresentazione $U = 0$.

Le Dipsacaceae, al contrario, sono poco associate al loro polline perché, anche laddove sono presenti *Knautia* o *Scabiosa*, il polline non compare nello spettro pollinico. Questa situazione indica una scarsa produzione o diffusione pollinica (indice di iperrappresentazione $O @ 0$). Leguminosae, Compositae liguliflorae e *Galium* tendono a questa situazione, anche se presentano una buona associazione pianta - polline.

Alcuni taxa erbacei presenti negli spettri pollinici non compaiono nella vegetazione. Talvolta queste incongruenze si possono spiegare con la presenza locale delle fonti polliniche nell'arco di tempo in cui i cuscinetti hanno agito come trappole per il polline ma non al momento del rilevamento. Piante assenti dai prati campionati, che possono far parte di altri aspetti di vegetazione erbacea dei dintorni (es. comunità nitrofile di calpestio e ruderali) sono *Artemisia*, Chenopodiaceae, Urticaceae, *Papaver*, *Fragaria*, Cruciferae, Primulaceae e *Gentiana*. Il loro polline si può attribuire, perciò, alla componente extralocale.

Un caso particolare è costituito dal polline di Poaceae tipo cereali ($> 40 \mu\text{m}$). Essendo i cereali estranei alla flora dei prati da fieno, la loro presenza può essere spiegata in diversi modi. Ad esempio, è possibile che si tratti di un apporto di tipo extralocale, proveniente da coltivazioni situate nelle vicinanze dei prati al momento del campionamento, o negli anni precedenti. Laddove questa possibilità si può escludere, esiste quella di un apporto extralocale (ma anche regionale o extraregionale) dovuto allo spargimento di polline che si verifica lungo le strade quando i cereali vengono trasportati da una località all'altra (VUORELA, 1973). Una spiegazione del tutto diversa può venire dal fatto che alcune specie di Poaceae spontanee hanno un granulo pollinico del tipo cereale. La distinzione tra polline di Poaceae spontanee e cereali, infatti, si basa principalmente sulle dimensioni del granulo, del poro e dell'annulus, ma anche sullo spessore dell'esina, sulla forma del granulo e la sua microscultura (BEUG, 1961). Specie del genere *Bromus* o *Agropyron* possiedono un granulo pollinico del tipo cereale, ma sono spontanee. Al contrario, i tipi *Avena* e *Hordeum* comprendono non solo specie coltivate, ma anche specie spontanee comuni negli ambienti antropizzati o nei prati aridi, come *Hordeum murinum* o *Avena fatua*. Un'ultima ipotesi spiega la presenza di granuli pollinici del tipo cereale con la pratica della concimazione che spesso viene effettuata utilizzando il letame. A parte la possibilità che il polline vi sia contenuto, il letame viene solitamente mescolato con la paglia, che è ricchissima di polline. Il polline dei cereali, infatti, si libera soprattutto al momento della mietitura e della trebbiatura (VUORELA, 1973).

Nella vegetazione studiata sono presenti anche molte specie non rappresentate pollinicamente negli spettri. Si tratta di piante entomogame, appartenenti alle famiglie delle Malvaceae, Polygalaceae, Orchidaceae, Iridaceae, Linaceae e Convolvulaceae. La completa

assenza del loro polline si può spiegare con la scarsa produzione e diffusione dovuta all'impollinazione specializzata, con le grosse dimensioni dei granuli che ne limitano ulteriormente la dispersione (es. *Malva moschata*) e con una modesta presenza nella vegetazione.

Caratterizzazione di spettri pollinici di prati da fieno

Si è tentato di individuare alcune caratteristiche degli spettri pollinici di prati che facilitino il riconoscimento di situazioni vegetazionali simili nei paleospettri. A tal fine, gli spettri pollinici di prati da fieno sono stati confrontati con quelli di tre radure, sei lande basse (brughiere) e otto praterie dell'Appennino Ligure. Dal confronto, emerge come il tasso di afforestamento (AP/T) rifletta bene le differenze di struttura vegetazionale: radure e lande basse presentano valori che le segnalano quali formazioni intermedie tra quelle erbacee e le forestali (rispettivamente AP/T = 0,60 e 0,53). Le praterie da pascolo hanno un tasso di afforestamento medio più basso (0,48) ma comunque elevato per una formazione erbacea: ciò può essere dovuto alla minore incidenza della componente locale, di cui si discuterà più avanti. I prati da fieno mostrano tassi decisamente bassi (0,23). Le praterie esaminate per il confronto erano o sono ancora utilizzate per il pascolo di animali domestici. Questo tipo di sfruttamento antropico può avere degli effetti sulla pioggia pollinica locale: il fatto che il bestiame si cibi di piante erbacee, infatti, dovrebbe influenzare negativamente la presenza del loro polline negli spettri. Nei prati, al contrario, la pratica dello sfalcio dovrebbe favorire la dispersione di polline da parte delle piante erbacee che vengono tagliate. Effettivamente, le percentuali polliniche di piante erbacee sono dimezzate nei pascoli che presentano una media del 36,58% contro il 75,63% dei prati da fieno. In base a questi dati, sembrerebbe esserci una correlazione tra diverse pratiche agricole e abbondanza di polline di piante erbacee negli spettri. Osservando le percentuali medie di ciascun taxon ed il loro campo di variazione in ogni tipo di vegetazione, i tipi pollinici che maggiormente caratterizzano gli spettri dei prati da fieno sono Poaceae (sia del tipo cereale che spontanee) *Plantago*, Ranunculaceae, Compositae liguliflorae, Umbelliferae, Scrophulariaceae, *Rumex*, Leguminosae, Cyperaceae e Dipsacaceae. I dati concordano pienamente con quelli riportati da BEHRE (1986) sulla diversa abbondanza di polline di piante erbacee in vari tipi di vegetazione antropogenica, tra cui pascoli e prati pingui su terreni più o meno ricchi di azoto. In base al confronto con gli altri tipi di vegetazione possono essere fissati dei valori - soglia per questi taxa (Fig. 3 e 4): ad esempio, le Poaceae, al di sopra di una percentuale di presenza del 40,70%, sembrano caratterizzare proprio gli spettri pollinici di prati da fieno. Lo stesso vale per le Leguminosae, al di sopra dell'1%. Comunque, bisogna tenere conto della straordinaria variabilità di presenza che caratterizza il polline delle specie entomogame. Un'altra strada per arrivare a caratterizzare spettri

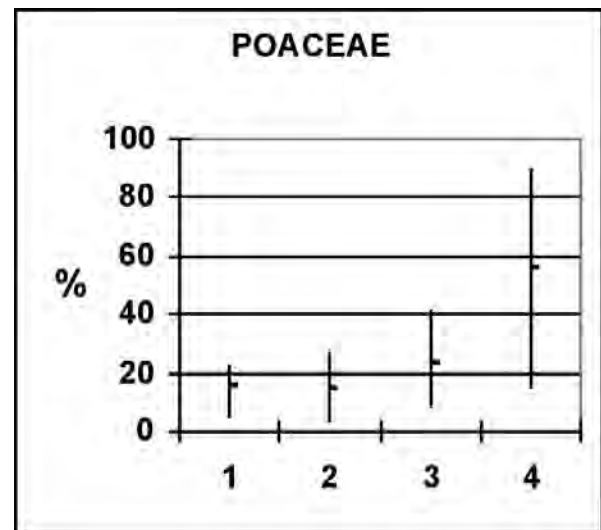


Fig. 3

Valori percentuali medi, minimi e massimi di Poaceae in diversi tipi di vegetazione: 1=radure, 2=lande basse, 3=praterie da pascolo, 4= prati da fieno.

Mean, lowest and highest percentage of Poaceae in different types of vegetation: 1=clearings, 2=heatlands, 3=pasture lands, 4=mown meadows.

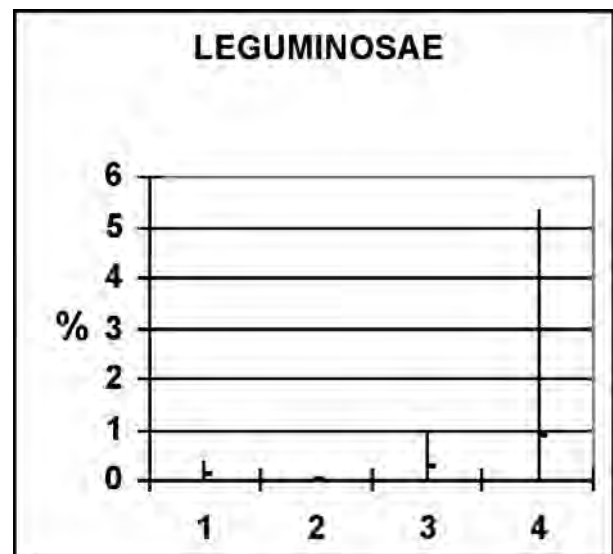


Fig. 4

Valori percentuali medi, minimi e massimi di Leguminosae in diversi tipi di vegetazione: 1=radure, 2=lande basse, 3=praterie da pascolo, 4= prati da fieno.

Mean, lowest and highest percentage of Leguminosae in different types of vegetation: 1=clearings, 2=heatlands, 3=pasture lands, 4=mown meadows.

pollinici di ambienti vegetali diversi è quella di individuare specie con particolari esigenze ecologiche. Nei nostri prati, possiedono queste caratteristiche *Plantago lanceolata*, *Rumex t. acetosa*, *Anthriscus*, *Lotus*, *Trifolium pratense* e *Knautia* che sembrano quindi buoni indicatori.

E' stato possibile rilevare qualche piccola differenza tra i prati da fieno della Val d'Aveto e quelli della Val di Vara; ad esempio, se in tutti gli spettri pollinici di prati sono presenti le Caryophyllaceae, in quelli della Val di Vara appare il tipo *Dianthus*, assente in Val d'Aveto. Lo stesso vale per le Umbelliferae, rappresentate in Val di Vara anche dal tipo *Daucus*.

Lo studio della *componente extralocale e regionale* della pioggia pollinica permette di delineare l'ambiente in cui si sviluppano prati da fieno e pascoli. L'immagine pollinica delle due valli è simile ma differenziata: in Val d'Aveto la diffusione dei boschi di ontano, di cerro e delle boscaglie di nocciolo è ben evidente negli spettri dei prati mentre le faggete, prime per estensione, sono scarsamente rappresentate a livello pollinico (valori medi: FPA = 261 e 0,14 %) a causa della bassa produzione e dispersione pollinica del faggio (MONTANARI, 1989). In Val di Vara, emerge la diffusione del bosco meso-termofilo di castagno, frassino, carpino nero; si osserva anche abbondanza di polline di pino, dovuta alla presenza di rimboschimenti a *Pinus nigra*, *P. strobus*, *P. radiata*, *P. pinaster* (MONTANARI *et al.*, 1988).

La maggior parte del polline di piante arbustive ed arboree presente negli spettri è di origine extralocale, regionale e in qualche caso, extraregionale (es. *Quercus ilex*, *Olea*, *Myrtus*).

Nella Fig. 5 sono riportati i valori percentuali della componente locale (NAP locale) e di quella extralocale e regionale, distinta per piante arboree, arbustive ed erbacee. Per ogni componente, inoltre, sono state calcolate le medie e le deviazioni standard. I risultati sono stati confrontati con quelli pubblicati da MONTANARI, GUIDO (1991) in uno studio sulla deposizione pollinica nei boschi della Liguria, riscontrando un'ottima corrispondenza: nei prati da fieno e pascoli, infatti, il polline di piante arboree di origine extralocale e regionale ha una presenza media del 22,86% (min. 5,57%, max. 57,81%, $s = 12,40$) contro il 25,55% osservato in vari tipi di formazioni boschive (min. 10,12%, max. 58,58%, $s = 11,58$). Questo dimostrerebbe che la presenza di polline extralocale e regionale (AP) nelle formazioni erbacee è simile a quella riscontrabile in formazioni forestali e costituisce un sottofondo (*background*) comune ad intere unità territoriali. Il polline extralocale di piante arbustive ed erbacee, invece, nelle formazioni erbacee considerate ha una media del 2,71% (min. 0,13%, max. 13,21%, $s = 2,84$), mentre nei boschi della Liguria presenta una media del 6,92% (min. 0,41%, max. 18,64%, $s = 4,51$).

CONCLUSIONI

La ricerca svolta fornisce risultati incoraggianti, dimostrando che gli spettri pollinici di prati da fieno presentano caratteristiche che li distinguono da quelli di altri tipi di vegetazione erbacea od arbustiva. Soprattutto l'identificazione di tipi pollinici diversi nell'ambito delle principali famiglie di piante erbacee permette di individuare degli indicatori di prati da fieno, di cogliere delle differenze tra prati e pascoli e

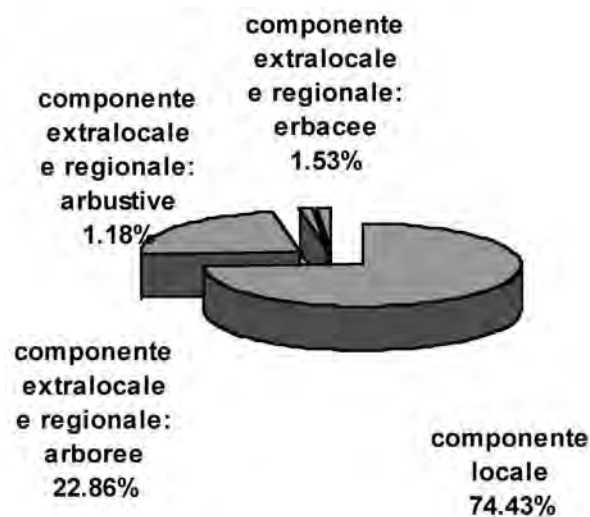


Fig. 5

Incidenza percentuale media della componente locale ed extralocale/regionale sulla pioggia pollinica rilevata nei prati da fieno.

Local and extralocal/regional component of the pollen rain: mean percentage in mown meadows.

tra tipi diversi di prati.

Il polline proveniente da piante estranee ai prati ed ai pascoli permette di delineare il contesto ambientale nel quale queste formazioni vegetali si trovano, mettendo in evidenza da una parte la sostanziale somiglianza paesaggistica delle due valli, dall'altra differenze relative, per esempio, alla maggiore diffusione dell'ontano o del nocciolo in Val d'Aveto o del bosco meso-termofilo in Val di Vara. Il fatto che la quantità di polline extralocale e regionale di arboree nei prati e pascoli sia risultata praticamente pari a quella che si deposita nell'ambito dei boschi indica che, volendo studiare l'immagine pollinica complessiva di un'unità territoriale, il risultato non cambia campionando in aree aperte o boscate. Infine, anche se la valutazione della copertura vegetazionale basata sugli indici fitosociologici è molto approssimativa, tuttavia il confronto con i risultati ottenuti da HJELLE (1997, 1998) con una metodologia più precisa ma meno pratica e veloce, mostra una buona concordanza.

LETTERATURA CITATA

- ANDERSEN S. T., 1970 - *The relative Pollen Productivity and Pollen Representation of North European Trees and Correction Factors for Tree Pollen Spectra*. Geol. Survey Denmark, sec. 2(96): 99 pp.
- BEHRE K. E., 1981 - *The interpretation of anthropogenic indicators in pollen diagrams*. Pollen Spores, 23: 225-245.
- BEUG H. J., 1961 - *Leitfaden der Pollenbestimmung für Mitteleuropa und angrenzende Gebiete*. Gustav Fischer, Stuttgart, 63 pp.
- DAVIS O. K., 1984 - *Pollen frequencies reflect vegetation patterns in a Great Basin (U.S.A) mountain range*. Rev. Paleobot. Palynol., 40: 295-315.
- GENTILE S., 1982 - *Note illustrative della carta della vegetazione dell'alta Val d'Aveto (Appennino Ligure)*. C.N.R. AQ/1/228.

- GUIDO, M.A., MONTANARI, C., MENOZZI, B., 1999 - *Deposizione pollinica attuale in relazione alla copertura vegetale nell'alta Val di Vara*. Mem. Acc. Lunigianese di Scienze, 67,68,69: 295-311.
- HEIM J., 1970 - *Les relations entre les spectres polliniques récents et la végétation actuelle en Europe occidentale*. Soc. Roy. Bot. Belg., Mem. 4: 1-181.
- HJELLE K. L., 1997 - *Relationships between pollen and plants in human - influenced vegetation types using presence - absence data in western Norway*. Rev. Paleobot. Palynol., 99: 1-16.
- , 1998 - *Herb pollen representation in surface moss samples from mown meadows and pastures in western Norway*. Veg. Hist. Archaeobot., 7: 79-96.
- MONTANARI C., 1986 - *Relazioni tra spettri pollinici e vegetazione attuale*. Boll. Acc. Gioenia Sc. Nat., 19 (328): 211-236.
- , 1989 - *Recent pollen spectra in two small mountain basins of the Ligurian Apennines (northern Italy)*. Grana, 28: 305-315.
- MONTANARI C., GUIDO M. A., 1991 - *Pollen assemblages in surface samples and vegetation relationships in the woods of Liguria (Northern - Italy). Preliminary results*. Arch. Bot. Ital., 67: 54-75.
- MONTANARI C., GUIDO M.A., MORENO D., 1988 - *Note illustrative della carta della vegetazione dell'alta Val di Vara (Appennino Ligure Orientale)*. Atti Ist. Bot. Lab. Critt. Univ. Pavia, Suppl., ser. 7, 6: 1-56. (1987).
- VUORELA I., 1973 - *Relative pollen rain around cultivated fields*. Acta Bot. Fenn. 102: 1-27.
- RIASSUNTO – E' stata studiata la deposizione pollinica attuale nell'ambito di praterie da fieno nell'Appennino ligure orientale. 29 spettri pollinici sono stati ottenuti da cuscineti di muschio, con particolare attenzione alla identificazione di taxa erbacei. La componente pollinica locale permette di caratterizzare i prati da fieno rispetto ad ambienti simili (pascoli, brughiere), mentre quella di origine estranea (extralocale e regionale) fornisce un quadro ambientale generale. E' stata esaminata la rappresentazione pollinica (R/P) per ciascun taxon presente contemporaneamente negli spettri e nella vegetazione locale. Inoltre, è stata valutata la qualità e la quantità di polline di piante coltivate, sia di origine locale che dei dintorni, tra cui il polline tipo cereali. Il confronto dei risultati con quelli di ricerche analoghe svolte con metodi anche diversi (HJELLE, 1997,1998) mostra una buona concordanza dei risultati.

AUTORI

*P. Azzolini, Carlo Montanari**, Dipartimento per lo studio del Territorio e delle sue Risorse, Università di Genova, Corso Dogali, 1 M, 16136 Genova (* riferimento per corrispondenza)

Tecniche per la determinazione della vitalità del polline

O. IANNOTTI

ABSTRACT - *Techniques for the determination of the pollen viability* - The study of the pollen viability is subordinated to knowledge of the cellular organization of the pollen grain. This knowledge is necessary to determine the life of a grain that depends on its biochemical components. The pollen viability is influenced by chemical and physical factors of the atmosphere like: temperature, relative humidity, light, CO₂, NO_x, SO_x, O₃ etc. The pollen viability can be tested through different methods. For this study two types of test were considered: 1. Enzymatic test (test 2,3,5 tryphenil-tetrazolium-chloride); 2. Test of germination *in vitro*. Three species: *Quercus ilex* L., *Olea europaea* L. and *Pinus pinaster* Aiton were examined. They are found in the park of S. Margherita, a city area of Perugia (Italy). The percentage of pollen viability turns out higher using test TTC rather than the germination test. This result demonstrates that it is difficult to compare the two tests since they are based on various physiological activities for which I can say that test TTC expresses a value of the potentiality that has the pollen to germinate. The choice of the test depends on the research purpose that is on the kind of deducible information from the study of the pollen viability.

Key words: *Olea europaea* L., *Pinus pinaster* Aiton, pollen, pollen germination, pollen viability, *Quercus ilex* L.

INTRODUZIONE

Lo studio della vitalità del polline è una disciplina che sottende la conoscenza della organizzazione cellulare di un granulo pollinico. Questa è necessaria per poter stabilire la durata in vita del granulo in relazione ai suoi componenti.

La vitalità del polline dipende, infatti, sia da fattori intrinseci che estrinseci. I fattori intrinseci, come dice la parola stessa, riguardano la fisiologia e la biochimica del polline, mentre i fattori estrinseci dipendono da parametri: *fisici* come la temperatura, l'umidità relativa (la vitalità è generalmente più bassa e la sua durata inferiore, ad alte temperature e bassa umidità relativa); *chimici* come la presenza di inquinanti in aria che interferisce sulla capacità riproduttiva del polline (è stato dimostrato che la vitalità pollinica è inversamente proporzionale alla concentrazione di contaminanti, soprattutto se derivati da traffico veicolare). Tale sensibilità deriva dalla caratteristica di alta igroscopicità del polline al momento del rilascio dall'antera che favorisce gli scambi con l'ambiente esterno. L'idratazione del granulo pollinico permette l'utilizzo delle riserve citoplasmatiche grazie all'attivazione degli enzimi idrolitici.

L'amido, come sostanza di riserva, deve essere ridotto a forme direttamente utilizzabili dal granulo pollinico attraverso l'attività enzimatica (PACINI, 1999). La forma zuccherina più facilmente utilizzabile dal granulo di polline è il saccarosio che viene per questo inserito tra i componenti del terreno di coltura per la

germinazione *in vitro* del polline.

La vitalità pollinica è specie-specifica e decresce con il tempo. La rapidità ed il modo in cui decresce dipendono dalla specie vegetale e dal livello di sensibilità della stessa rispetto ai cambiamenti ambientali. In generale esistono specie vegetali tolleranti ed altre sensibili all'inquinamento atmosferico e si può dimostrare questa loro caratteristica attraverso lo studio della vitalità pollinica. Tranne rare eccezioni, la percentuale di vitalità pollinica decresce all'aumentare dell'inquinamento atmosferico. Una eccezione è rappresentata dal genere *Parietaria*; infatti, il suo polline ha dimostrato una maggiore vitalità in ambiente urbano ad alta intensità di traffico veicolare (MELATI *et al.*, 1997; FRANCHI *et al.*, 1984). *Cynodon dactylon* e *Quercus ilex* sembrano essere indifferenti al sito in cui si trovano mentre è risultata molto sensibile la specie *Tilia cordata* (IANNOTTI *et al.*, 2000).

Da quanto in letteratura e da quanto osservato è possibile quindi proporre la vitalità pollinica come parametro per la valutazione dell'adattamento di una specie vegetale ad un particolare ambiente (CONTOIS, PERFETTO, 1996; CONTOIS, 1998).

La vitalità pollinica può essere misurata attraverso diverse metodiche che evidenziano alcune caratteristiche del polline.

Le tecniche più conosciute sono di tipo citoistologico, che prevedono una colorazione differenziale secondo lo stato di sviluppo del polline. Secondo la

metodica di ALEXANDER (1969), il granulo pollinico con citoplasma rosa e parete verde indica che il polline non è abortito, se invece il citoplasma resta incolore è abortito. Il limite di questo test sta nel fatto che non siamo in grado di conoscere, con la sola colorazione del citoplasma, gli eventuali danni alle funzioni vitali del granulo e quindi non possiamo sapere, a priori, se quel granulo germinerà. Inoltre è stato osservato che granuli di polline uccisi al calore si coloravano ugualmente per cui questo test può essere utile al fine di conoscere solo lo stato di differenziamento pollinico e non la vitalità.

Un'altra tecnica, piuttosto rapida, è la fluorocromatica (FCR), che viene utilizzata quando si devono testare molti campioni. Questo test richiede due essenziali proprietà del polline: 1. Il doppio strato lipidico della membrana citoplasmatica deve essere continuo e cioè capace di trattenere la fluoresceina rilasciata; 2. La presenza e l'attività di una esterasi capace di scindere il legame estere fluorogenico della fluoresceina diacetato (HESLOP-HARRISON, 1970; SHIVANNA, HESLOP-HARRISON, 1981; HESLOP-HARRISON, 1986).

Al microscopio ottico i granuli vitali appaiono fluorescenti, come tante piccole "lampadine accese" (la fluoresceina rilasciata viene trattenuta, all'interno del granulo, dalla membrana plasmatica) quelli non vitali perdono la luminosità, sono "spenti" (la membrana non è integra oppure l'enzima esterasi non è attivo).

Il metodo fluorocromatico non è indicato per testare la vitalità pollinica al momento della deiscenza delle antere poiché in questa fase il polline si prepara a lasciare un ambiente confortevole, l'antera, per traslocare, nelle Angiospermae, sullo stigma fiorale, nelle Gymnospermae, sul micropilo compatibile affrontando l'ambiente esterno.

Il polline viene trasportato, dai diversi vettori, in forma disidratata; la disidratazione agisce sulla membrana citoplasmatica impedendo la continuità lamellare del doppio strato lipidico necessaria per far funzionare il test FCR.

Pertanto si suggerisce il test fluorocromatico sullo stigma fiorale, laddove il granulo pollinico compatibile trova un ambiente umido ed idoneo per reidratarsi e per ripristinare la continuità lamellare della membrana.

Alcuni autori hanno, infatti, dimostrato una significativa correlazione tra il test di germinabilità in vitro ed il test FCR per studi di vitalità pollinica con lo scopo di risalire alla compatibilità polline-stigma (HERRERO, HORMAZA, 1996).

I due metodi, sopra descritti, sono semplici e richiedono poco tempo per la preparazione e la lettura, utili per un lavoro di routine ma non indicati per tutti i tipi di studi poiché i granuli che si osservano e si contano al microscopio ottico possono essere dei falsi positivi cioè polline sterile che è differenziato e che ha le caratteristiche richieste dal test FCR. In questo caso la stima della vitalità pollinica assume un valore potenziale e non reale.

Altri test più complessi risultano dalla letteratura, più

attendibili per le applicazioni in aerobiologia.

Tra questi il test enzimatico secondo il metodo SARVELLA (1964) rivisitato da COMTOIS (1994) che prevede l'utilizzo di una soluzione composta da una parte di acqua e saccarosio e da una parte di un sale di tetrazolio, 2, 3, 5, tryphenil-tetrazolium-choride (TTC). Un altro è il test di germinazione in vitro; questo risulta necessario per gli studi in cui si vuole conoscere, in previsione, la produttività di una specie agronomica (IANNOTI, MINCIGRUCCI, in stampa; MULUGETA *et al.*, 1994). In generale, comunque, non vi è la certezza del test migliore in assoluto ma si può arrivare a stabilire il più adatto per un determinato studio.

MATERIALI E METODI

Il polline di *Quercus ilex* L., *Olea europaea* L. e *Pinus pinaster* Aiton è stato raccolto da piante situate nel Parco urbano di Santa Margherita a Perugia.

In Tab. 1 è riportato il numero delle piante monitorate per ciascuna specie e la data della raccolta del polline.

TABELLA 1
Campionamento del polline.
Pollen sampling.

Specie	Piante	Data della raccolta
<i>Quercus ilex</i> L.	1	13/05/99
	2	13/05/99
	3	14/05/99
	4	14/05/99
	5	18/05/99
<i>Olea europaea</i> L.	1	01/06/99
	2	03/06/99
	3	03/06/99
	4	03/06/99
<i>Pinus pinaster</i> Aiton	1	14/05/99
	2	14/05/99
	3	14/05/99

Il campionamento è stato effettuato nel periodo di antesi di ciascuna specie prelevando il polline dalle antere deiscenti mediante scuotimento delle stesse dentro apposite bustine di carta pergamina. Sono stati scelti i rami della chioma rivolti a diversi punti (nord, sud, est, ovest) per evitare l'effetto esposizione ed ottenere così campioni omogenei.

Il polline raccolto è stato, in parte, utilizzato per i due test scelti: TTC e germinazione in vitro ed in parte conservato. Il test TTC prevede che il polline sia conservato a temperatura ambiente, lontano dall'umidità e dalle fonti di calore. Il test della germinazione in vitro consente la conservazione del polline a temperatura -20°C fino ad un anno.

Test TTC enzimatico

Per ciascuna pianta vengono preparati tre campioni e per ciascun campione vengono allestiti tre vetrini ponendo una piccola quantità di polline sul vetrino portaoggetto alla quale viene aggiunta e mescolata la

soluzione TTC, due-tre gocce. La soluzione TTC viene conservata in frigorifero a temperatura di circa 4°C, fino a tre mesi.

Dopo aver coperto il vetrino campione con un coprioggetto si lascia a temperatura ambiente per 24 ore, lontano da fonti di calore ed umidità.

Questa operazione si ripete ogni giorno sino a quando la vitalità pollinica del campione esaminato raggiunge valori molto bassi, circa 2-3%, per cui il polline si dichiara non più vitale.

Per questa ricerca, l'osservazione al microscopio ottico è stata condotta con oculare x12,5 ed obiettivo x25 su campioni di 250 granuli pollinici, procedendo, nella lettura, per campi continui.

I valori in percentuale della vitalità pollinica corrispondenti ai diversi giorni sono stati riportati in tabelle e poi in grafici per vedere l'andamento della vitalità pollinica nel tempo.

Test di germinazione in vitro

Elemento essenziale per il test è il terreno colturale costituito da acqua deionizzata, agar e saccarosio (CELA RENZONI *et al.*, 1986).

Attraverso questo test è stato possibile studiare la richiesta di saccarosio necessaria al polline di ciascuna specie per germinare in vitro aggiungendo, all'acqua deionizzata e agar, una percentuale nota di saccarosio variabile da 1-50%.

I terreni sono stati preparati in beute per autoclavaggio e poi trasferiti in apposite piastre Petri del diametro di 4 cm, riportando in ciascuna di essa la concentrazione di saccarosio relativa alla beuta di preparazione. Dopo la solidificazione del terreno, in ambiente sterile, è stato possibile spolverare sul terreno il polline campionato.

Per ciascun campione sono state preparate tre repliche per ciascuna delle concentrazioni di saccarosio considerate e tre repliche per ciascuno dei controlli. Il primo controllo consisteva in un terreno costituito di sola acqua deionizzata, il secondo di acqua deionizzata ed un grammo di agar ed infine il terzo di acqua deionizzata e 1% di saccarosio.

Dopo 24 ore dalla semina è stata effettuata la prima lettura dei preparati al microscopio ottico e così nei giorni successivi sino a quando il polline non iniziava a geminare. Il polline si definisce germinato se il suo tubetto pollinico raggiunge o supera la lunghezza del diametro del corpo del granulo.

A ciascuna specie corrisponde un tempo di germinazione ed una concentrazione di saccarosio ottimale per l'emissione del tubetto pollinico.

L'importanza della lunghezza del tubetto pollinico è dovuta alla funzione che ricopre nella fecondazione della cellula uovo; esso è il vettore dei nuclei spermatici, per cui la sua assenza indica incapacità di riproduzione della pianta.

Attraverso l'osservazione e la conta al microscopio ottico con oculare x12,5 ed obiettivo x25 è stato possibile completare la tabella relativa ai dati di vitalità pollinica rispetto al tempo. Dopo aver raccolto una serie storica di dati è stato possibile effettuare l'elaborazione attraverso un programma statistico SAS

(SAS/STAT, 1990) secondo diverse procedure: PROC. GLM e PROC. CORE.

RISULTATI

In Tab. 2 sono riportati i valori medi di vitalità pollinica massima registrati, applicando i due metodi, sui campioni di polline esaminati.

TABELLA 2

*Vitalità pollinica secondo i due metodi.
Pollen viability according to two different methods.*

Specie	%Vitalità pollinica max. (TTC)	%Germinabilità pollinica max.
<i>Quercus ilex</i> L.	88.77 (B) ± 3.21	33.00 (B) ± 1.46
<i>Olea europaea</i> L.	60.68 (A) ± 8.66	23.76 (A) ± 2.46
<i>Pinus pinaster</i> Aiton	88.39 (B) ± 3.54	63.24 (C) ± 1.49

Ogni campione è costituito da 250 granuli pollinici.

I valori in colonna, seguiti dalle lettere in parentesi, sono statisticamente differenti, con $p < 0.0001$.

Già da una prima osservazione si nota che i valori, riportati nella colonna relativa al TTC test (test enzimatico) sono più alti rispetto a quelli registrati dal test di germinazione in vitro.

L'interpretazione di questi dati può essere svolta in modo diverso: il test enzimatico sovrastima il parametro oppure il test di germinazione in vitro lo sottostima. In realtà, non esistono elementi significativi per poter stabilire che un test è migliore dell'altro poiché ognuno di essi si basa su attività fisiologiche diverse quindi non paragonabili in modo così ovvio. Dalla procedura di correlazione è risultato che la variabilità espressa dai due test è circa la stessa per le dodici piante: la deviazione standard per il test TTC è 14,46 mentre per il test di germinazione è 17,46. Questo indica che la variabilità espressa dai due test non può essere un elemento significativo per discriminarli.

I valori medi di vitalità pollinica di *Quercus ilex* registrati dai due test sono correlati significativamente ($p < 0,05$) con coefficiente di correlazione $R = 0,60$, quelli di *Olea europaea* sono correlati significativamente ($p < 0,0001$) con coefficiente di correlazione $R = 0,86$ mentre quelli di *Pinus pinaster* non sono correlati.

Dalla procedura GLM (Tab. 3) si evidenzia, per il test enzimatico, una differenza significativa tra *Quercus ilex* e *Olea europaea* ($p < 0,0001$) mentre *Pinus pinaster* si comporta in modo analogo alla specie *Quercus ilex*.

Per quanto riguarda il test di germinazione si osserva che le tre specie si differenziano in vitalità pollinica in modo altamente significativo ($p < 0,0001$).

Il modello GLM si adatta allo studio con un coefficiente $R^2 = 0,85$ per il test TTC e $R^2 = 0,75$ per il test di germinazione in vitro.

DISCUSSIONE

I risultati permettono di osservare che non esiste un

TABELLA 3

Procedura GLM.
GLM Procedure.

Variabile dipendente: test TTC
Pr > F 0.0001; R² = 0.85; Coeff. di variazione: 7.2

Variabile dipendente: test di GERMINAZIONE
Pr > F 0.0001; R² = 0.75; Coeff. di variazione: 22.3
N° di osservazioni = 108

metodo unico che assume valore assoluto per la misura della vitalità pollinica. E' necessario, in primo luogo, sapere quale sia lo scopo dello studio della vitalità per poter applicare il metodo più appropriato al caso.

Se la ricerca ha come obiettivo la stima quantitativa del futuro raccolto, in campo agronomico, è meglio indicato uno studio di vitalità pollinica attraverso il test di germinazione in vitro perché fornisce un'informazione più completa a riguardo. Se invece l'interesse della ricerca fosse concentrato sulla stima del danno arrecato al polline a causa della presenza di inquinanti in atmosfera, il test TTC fornisce informazioni più dettagliate sullo "stato di salute" e sull'"attività respiratoria" del granulo pollinico.

Inoltre il test enzimatico permette di costruire per ciascun campione, e quindi per ogni specie vegetale esaminata, la tabella della durata della vitalità pollinica nel tempo. Attraverso questo test si può infatti stimare quanto dura in vita un campione pollinico che viene conservato a temperatura ambiente, simulando la naturale situazione del polline dopo il rilascio dalle antere.

Tale osservazione risulterebbe troppo complessa e laboriosa con il test di germinazione in vitro.

Da questo scaturisce l'importanza del protocollo sperimentale da seguire per affrontare al meglio la ricerca.

Lo studio della vitalità pollinica è propedeutico per diversi studi e discipline che riguardano aspetti diversi delle problematiche del mondo vegetale:

- Relazione che intercorre tra allergenicità e vitalità pollinica (localizzazione dei siti antigenici).
- Relazione che intercorre tra vitalità pollinica e contaminanti aerodiffusi per studi di interferenza sulla allergenicità (studio dell'eventuale amplificazione dell'effetto) e per studi di monitoraggio aerobiologico per stimare la qualità dell'aria.
- Relazione che intercorre tra vitalità pollinica e adattamento di una pianta ad un particolare ambiente (esempio: urbano) utilizzabile nella pianificazione territoriale del verde.
- Relazione che intercorre tra vitalità pollinica e produttività nelle piante di interesse agrario.

Ringraziamenti – Ricerca finanziata dal Prof. Gianfranco Mincigrucci durante il corso di Dottorato di Ricerca in "Botanica Applicata", Dipartimento di Biologia vegetale e Biotecnologie agroambientali dell'Università degli Studi di Perugia.

LETTERATURA CITATA

- ALEXANDER M.P., 1969 – *Differential staining of aborted and nonaborted pollen*. Stain Technol., 44: 117-122.
- CELA RENZONI G., VIEGI L., STEFANI A., 1986 – *Effects of different media components on the germination of Pinus pinaster and Pinus pinea pollen*. In: CRESTI M., DALLAI R. (eds.), *Biology of reproduction and cell motility in plants and in animals*: 163-168. Siena.
- COMTOIS P., 1994 – *Airborne pollen dispersal and survival on Mount Sutton (Canada)*. Aerobiologia, 10: 31-37.
- , 1998 – *Time and space determinants in Aerobiology*. Abs. 6th International Congress on Aerobiology, 31 August-5 September, Perugia: 18.
- COMTOIS P., PERFETTO A., 1996 – *Airborne pollen viability: meteorological and air pollution determinants*. Atti VII Congresso Nazionale Associazione Italiana Aerobiologia, 16-19 ottobre, Firenze: 97.
- FRANCHI G.G., PACINI E., ROTTOLI P., 1984 – *Pollen grain viability in Parietaria judaica L. during the long blooming period and correlation with meteorological conditions and allergic diseases*. Giorn. Bot. Ital., 118: 163-178.
- HERRERO M., HORMAZA J.I., 1996 – *Pistil strategies controlling pollen tube growth*. Sex Plant Reproduction, 9: 343-347.
- HESLOP-HARRISON J., HESLOP-HARRISON Y., 1970 – *Evaluation of pollen viability by enzymatically induced fluorescence: intracellular hydrolysis of fluorescein diacetate*. Stain Technol., 45: 115-120.
- HESLOP-HARRISON J., HESLOP-HARRISON J-S, HESLOP-HARRISON J., 1986 – *Germination of Corylus avellana L. (Hazel) pollen: hydration and the function of the oncus*. Acta Bot. Neerl., 35(3): 265-284.
- IANNOTTI O., MINCIGRUCCI G., – *Effects of sucrose on germination of Cedrus pollen*. Aerobiologia (in stampa).
- IANNOTTI O., MINCIGRUCCI G., BRICCHI E., FRENGUELLI G., 2000 – *Pollen viability as a bioindicator of air quality*. Aerobiologia, 16(3).
- MELATI M.R., ALAIMO M.G., BRUNO A., PALMERI E., TODARO C., 1997 – *Riscontro di piombo in piante erbacee con piccoli pollini (Parietaria)*. Notiziario Allergologico, 16: 91.
- MULUGETA D., MAXWELL B.D., FAY P.K., DYER W.E., 1994 – *Kochia (Kochia scoparia) pollen dispersion, viability and germination*. Weed Sci., 42(4): 548-552.
- PACINI E., 1999 – *Impollinazione: aspetti biologici, ecologici ed agronomici*. Atti stage didattico di Biologia Riproduttiva, Portici (NA), 25-27 marzo 1999.
- SARVELLA P., 1964 – *Vital-stain testing of pollen viability in cotton*. J. Heredity, 55: 154-158.
- SHIVANNA K.R., HESLOP-HARRISON J., 1981 – *Membrane state and pollen viability*. Ann. Bot. Company, 47: 759-770.

RIASSUNTO - Lo studio della vitalità pollinica è subordinato alla conoscenza dell'organizzazione cellulare del granulo pollinico. Questa conoscenza è necessaria a determinare la vita di un granulo che dipende dai suoi componenti biochimici. La vitalità pollinica è influenzata da fattori chimici e fisici dell'ambiente come: temperatura, umidità relativa, luce, CO₂, NO_x, SO_x, O₃ etc. La vitalità pollinica può essere testata attraverso differenti metodi. Per questo studio sono stati presi in considerazione due tipi di test: 1. Test enzimatico (test 2,3,5 tryphenil-tetrazolium-chloride); 2. Test di germinazione in vitro. Sono state esaminate tre specie vegetali: *Quercus ilex* L., *Olea europaea* L. e *Pinus pinaster* Aiton che si trovano nel parco di Santa Margherita, un'area urbana di Perugia (Italia). La

percentuale di vitalità pollinica risulta più alta usando il test TTC piuttosto che il test di germinazione. Questo risultato dimostra che è difficile paragonare i due test poiché si basano su attività fisiologiche diverse. Pertanto, possiamo dire che il test TTC esprime un valore della poten-

zialità che ha il polline di germinare. La scelta del test dipende dallo scopo della ricerca cioè dal genere di informazioni che intendiamo ricavare dallo studio della vitalità pollinica.

AUTORI

Orietta Iannotti, Dipartimento di Biologia vegetale e Biotecnologie agroambientali, Università di Perugia, Borgo XX Giugno 74, 06100 Perugia

Il polline di *Cupressus sempervirens* come fonte di allergia

F. GRECO e O. DE PITÀ

ABSTRACT- *Cupressus sempervirens pollen as a source of allergy* - Perhaps it is ineffectual to remind that Allergology is one of many scientific fields assisted by Aerobiology. This discipline can give Allergologists useful quantitative and qualitative data concerning pollen concentrations, not only about those taxa (like grasses, pellitory, etc) which since long time have been already known as carriers of allergic sintomatology. In fact, its principal purpose is to bring new knowledges about airborne allergens which in past time were stimated of little value in allergology fields. So it happened for example to Cupressaceae pollen, that was considered in the recent past as one of the so-called "minor pollens".

Key words: Aerobiology, allergy, *Cupressus sempervirens*, pollen

INTRODUZIONE

L'ambiente è ormai diventato un argomento di grande attualità, ma poter conoscere in modo dettagliato ed esauriente i mutamenti a cui esso va incontro nel corso degli anni, è senza dubbio una impresa ardua, ma necessaria per comprendere in quale maniera tutto ciò possa influire sulla salute umana. A questo proposito un contributo non indifferente è apportato dall'Aerobiologia, disciplina scientifica che si occupa del trasporto in atmosfera di particelle di origine biologica prendendo in considerazione le loro fonti di emissione, la loro diffusione, e rivolgendo la propria attenzione in modo particolare all'impatto che queste particelle pullulanti nell'atmosfera hanno sull'uomo sia in ambienti indoor che outdoor.

Accade frequentemente che nella stagione invernale si verifichino non solo fastidiose, ma anche dannose manifestazioni a carico dell'apparato respiratorio che spesso simulano una tipica malattia da raffreddamento di origine virale, refrattaria a qualsiasi terapia. Questi casi dovrebbero, a nostro avviso, indirizzare il medico a condurre anche indagini di tipo allergologico, sfatando così il luogo comune che di pollinosi si soffre soltanto nel periodo "primaverile". Infatti da alcuni anni, grazie al progredire degli studi immunologici ed al contributo che l'Aerobiologia apporta in campo allergologico, si è potuto stabilire che molti fra i casi che presentano sintomi quali riniti e oculoriniti sono da attribuire ad agenti etiologici tipici del periodo invernale quali sono appunto i pollini appartenenti alla famiglia di Cupressaceae (PANZANI *et al.*, 1986; BARLETTA *et al.*, 1996; MARI *et al.*, 1996).

E' opinione comune inoltre, che la stagione invernale rappresenti un periodo in cui il mondo vegetale si

trova in una fase di stasi completa, molti invece sono i taxa arborei che iniziano la loro fioritura nel periodo invernale e fra questi si riscontrano Corylaceae, Betulaceae e Cupressaceae/Taxaceae, anche se in atmosfera si registrano, sebbene in esigue quantità, anche pollini di taxa erbacei quali sono quelli di Urticaceae.

MATERIALI E METODI

La nostra indagine, da un punto di vista Aerobiologico, è stata condotta adoperando per la cattura delle particelle aerodiffuse un Volumetric Pollen Particles Sampler VPPS 2000 (Lanzoni). I preparati aerosporologici relativi ai mesi di gennaio-aprile dell'anno in corso, sono stati analizzati utilizzando le metodiche standards proposte dall'Associazione Italiana di Aerobiologia (AIA).

Le conte polliniche scaturite dall'analisi microscopica dei reperti sono state poi opportunamente convertite ed espresse sotto forma di granuli/m³ tenendo conto di opportuni parametri.

Dal punto di vista clinico i pazienti sono stati sottoposti sia ad un'accurata anamnesi allergologica che allo Skin Prick Test specifico per il polline di *C. sempervirens* (ARIANO *et al.*, 1997).

Nel solo mese di marzo si sono riscontrate positività nel 10,83% dei casi; quindi, per avere ulteriore conferma di ciò, sono state dosate le IgE specifiche con metodica fluoroenzimmatica che hanno convalidato questo tipo di diagnosi.

I pazienti, come nostra prassi, sono stati seguiti nel corso della loro allergopatia, relazionando i sintomi

con i calendari pollinici. Questa metodica ha consentito di evitare la cronicizzazione di questa pollinosi tramite l'attuazione di trattamenti preventivi nei soggetti che erano già in cura da anni per la stessa sindrome allergica.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Il Monitoraggio Aerobiologico condotto presso il nostro Istituto dal 1989 a tutt'oggi, tramite l'analisi microscopica dei preparati aerosporologici, ha permesso di identificare in maniera specifica e dettagliata l'aerospora della zona Nord-Ovest di Roma e ci consente quindi di poter affermare che la maggior quantità di polline censito in atmosfera nel periodo invernale è da attribuire alle specie arboree precedentemente menzionate, ma che in maniera preponderante essa è rappresentata dal polline appartenente alla famiglia di Cupressaceae/Taxaceae, la cui concentrazione relativa ai mesi che comprendono un arco di tempo che si estende da gennaio ad aprile 2000, ammonta a 15844 granuli per metro cubo di aria contro 683 di Betulaceae, 1075 di Corylaceae e 3717 di Urticaceae censiti in atmosfera nello stesso periodo.

Come si evince dalla Fig. 1, è stato evidenziato un notevole incremento di pollinazione dovuto a Cupressaceae/Taxaceae che si verifica in marzo, mese in cui avviene il rilascio in atmosfera di una considerevole quantità di granuli pollinici attribuibili a *C. sempervirens*, le cui concentrazioni superano di gran lunga quelle di *Juniperus* e *Thuja*, generi di conifere appartenenti alla stessa famiglia.

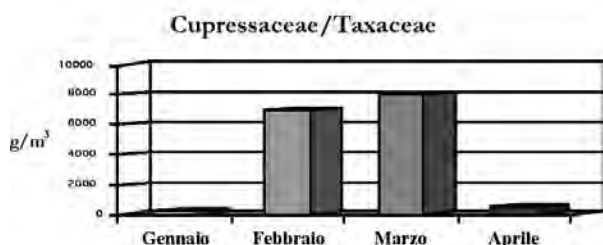


Fig. 1

Istogramma relativo alla concentrazione dei pollini (granuli/m³ d'aria) di Cupressaceae/Taxaceae censiti in atmosfera nel periodo Gennaio-Aprile 2000.

Histogram of pollens concentration (grains/m³) of Cupressaceae/Taxaceae detected in the atmosphere in the period January-April 2000.

I dati Aerobiologici quindi correlano con quelli clinici quando questi vengono accuratamente valutati, così come buona corrispondenza si riscontra con i dati di laboratorio.

A tal fine, la casistica che emerge dal nostro studio evidenzia la netta corrispondenza fra presenza in atmosfera di elevate concentrazioni di polline di Cupressaceae/Taxaceae e la severità delle sindromi allergiche riscontrate nei pazienti pervenuti nel nostro Centro Allergologico (Fig. 2).

Reattività a *Cupressus sempervirens*

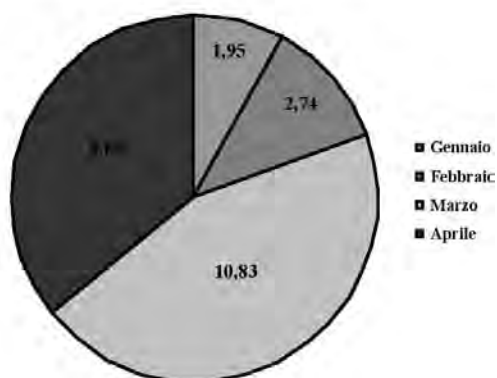


Fig. 2

Percentuale dei pazienti allergopatici positivi a *C. sempervirens*.

Percent of positive allergic patients to *C. sempervirens*.

Rispetto agli anni precedenti, abbiamo riscontrato un incremento di quest'allergopatia dovuta probabilmente all'introduzione a scopo ornamentale di queste entità arboree nella zona oggetto della nostra indagine.

Tutto ciò, a nostro avviso, mette in luce l'efficacia di poter utilizzare i calendari pollinici nella diagnostica allergologica, non solo per poter conoscere con esattezza quali siano le particelle pullulanti in atmosfera in un determinato periodo e che potrebbero essere gli agenti etiologici di sindromi allergiche non ancora ben note o sottovalutate, ma anche per formulare una precisa diagnosi ed applicare all'evenienza una corretta terapia.

I calendari pollinici scaturiti da questo tipo d'indagine offrono un valido aiuto anche al paziente allergopatico che, informato da personale competente, gestisce in maniera appropriata sia la sua attività lavorativa che il suo tempo libero, migliorando così il suo stile di vita.

LETTERATURA CITATA

- ARIANO R., PANZANI R.C., AUGERI G., 1997 - *Double-blind placebo controlled specific immunotherapy with mixed Cupressaceae / Taxodiaceae pollens in respiratory allergy to Cupressus sempervirens*. Allergol. Immunopathol., 25(1): 23-29.
- BARLETTA B., AFFERNI C., TINGHINO R., MARI A., DI FELICE G., PINI C., 1996 - *Cross-reactivity between Cupressus arizonica and Cupressus sempervirens pollen extracts*. J. Allergy Clin. Immunol., 98: 797-804.
- MARI A., DI FELICE G., AFFERNI C., BARLETTA B., TINGHINO R., SALLUSTO F., 1996 - *Assessment of skin prick test and serum specific IgE detection in the diagnosis of Cupressaceae pollinosis*. J. Allergy Clin. Immunol., 98: 21-31.
- PANZANI R., CENTANNI G., BRUNEL M., 1986 - *Increase of respiratory allergy to the pollens of cypresses in the south of France*. Ann. Allergy, 56(6): 460-463.

RIASSUNTO - Forse è superfluo ricordare che l'Aller-

gologia è uno dei tanti campi scientifici che si avvale dell'ausilio dell'Aerobiologia, ma è utile ribadire che questa disciplina si prefigge lo scopo di poter fornire agli Allergologi dati sia qualitativi che quantitativi riguardanti le concentrazioni polliniche, non solo di quei taxa (quali Gramineae, *Parietaria*, ecc) che ormai da tempo sono riconosciuti imputabili di sintomatologie allergiche. Il suo

intento principale, infatti, è quello di poter apportare nuove conoscenze sugli allergeni aerotrasportati che fino a non molto tempo fa erano considerati di minore importanza allergologica. Così è accaduto ad esempio per il polline di Cupressaceae, sino ad un recente passato addirittura annoverato tra la lista dei cosiddetti "pollini minori".

AUTORI

Francesca Greco, Ornella De Pità, Laboratorio Immunologia ed Allergologia, Dipartimento di Immunodermatologia, Istituto Dermatologico dell'Immacolata (IDI), I.R.C.C.S, Via dei Monti di Creta 104, 00167 Roma

Microsporogenesi e crescita degli amenti come marcatori della dormienza in *Ostrya carpinifolia* Scop.

E. TEDESCHINI e G. FRENGUELLI

ABSTRACT - *Microsporogenesis and catkin growth as marker for the Ostrya carpinifolia dormancy* - The pollination is the result of a sequence of changes inside the anthers, which determine the formation of pollen grains. In *Ostrya carpinifolia* the male inflorescences, which are pendent catkins, are initiated, and partially developed, in the year before flowering. During the summer all floral organs have been initiated, but their differentiation has not been completed and the flowering occurs in the following spring, with the onset of warm temperatures after a dormancy period. Thus, the beginning of pollination in *Ostrya carpinifolia* depends on the temperature trends during dormancy and just before the flowering periods. The present study investigates the chilling completion date and the subsequent heat accumulation necessary for flowering, by monitoring the development stages of the pollen grains and the catkins elongation.

Key words: chill unit, dormancy period, heat requirement, *Ostrya carpinifolia*, pollination

INTRODUZIONE

Ostrya carpinifolia Scop., carpino nero, fa parte della famiglia Corylaceae, ordine Fagales, genere *Ostrya*. A questo genere appartengono circa 10 specie di cui solo il carpino nero partecipa alla flora europea. Crescendo bene in zone con scarsa piovosità e temperature elevate, condivide le esigenze climatiche e ambientali di *Olea europaea* L., *Quercus coccifera* L., *Q. ilex* L. e *Q. pubescens* Wild, con i quali compone l'orizzonte delle sclerofille (BERNETTI, 1994). L'areale di distribuzione di *Ostrya carpinifolia* è nettamente meridionale e non supera il 47° di latitudine Nord. In Europa, comprende la regione dei Balcani da cui si estende fino all'Anatolia, al Peloponneso, l'Austria e l'Italia. In Italia si hanno due zone di massima presenza: la prima è prealpina orientale e si estende dal Carso triestino lungo le Alpi fino al lago di Como, e la seconda dalla Liguria si estende in tutta la penisola, isole comprese, anche se in stazioni isolate. Da segnalare che *Ostrya* manca in Val Padana e in gran parte del Piemonte (PIGNATTI, 1988).

Il carpino nero si trova a partire da zone con altitudine vicina a quella del mare per arrivare fino a 1000-1200 m s.l.m., anche se questa quota è esclusiva delle esposizioni più calde. Di conseguenza, il bioclimate del carpino nero è caratterizzato da un optimum di temperatura media annua tra 8° e 13°C anche se resiste per brevi periodi a temperature fino a -40°C (PIUSSI, 1994).

Soffre molto in annate eccezionalmente siccitose

vista la superficialità dell'apparato radicale poco adatto ad eludere deficit idrici. Cresce su suoli favorevolmente esposti, asciutti, più o meno profondi, mediamente fertili e ricchi in calcare. Nei riguardi della luce ha comportamento intermedio: è più esigente del carpino bianco, ma in gioventù richiede e sopporta molto bene un'adeguata copertura, che gli garantisce un certo grado di umidità (GELLINI, GROSSONI, 1997). Date queste peculiarità climatico-edafiche, troviamo piante di carpino nero soprattutto in boschi cedui di roverella e di cerro, in cedui submontani di faggi e in ex castagneti da frutto, generalmente su suoli marnoso-arenarici. Esistono poi popolamenti a prevalenza di carpino nero detti Ostrieti, di derivazione antropogena, strutturalmente identificati come *Orno-ostrieti*, in associazione con orniello e *Seslerio-querco-ostrieti*, in associazione con roverella e cerro (POLUNIN, WALTERS, 1992).

Ostrya carpinifolia è una specie monoica con fiori riuniti in amenti, quelli maschili ibernanti e visibili fino dall'autunno, sono cilindrici, lunghi 6-16 cm a maturità, penduli e raggruppati in 2-3, hanno 6-14 stami con antere pelose all'apice. Gli amenti femminili, più brevi e tozzi (3-5 cm), sono terminali, prima eretti poi penduli e compaiono in primavera insieme alle foglie. La fioritura avviene in aprile-maggio e la fruttificazione tra settembre e ottobre.

Ostrya carpinifolia differenzia le infiorescenze maschili durante l'estate, 7-8 mesi prima della polli-

nazione e trascorre i mesi invernali in uno stato di "dormienza forzata" caratterizzato da un notevole rallentamento di tutte le attività vegetative e riproduttive della pianta, che limita così al minimo il contenuto di acqua all'interno delle cellule, per evitare i danni provocati dal congelamento (FAUST, 1989). È noto in letteratura che molte piante richiedono esposizioni a periodi di freddo più o meno lunghi per uscire dalla dormienza (LANG *et al.*, 1985; FAUST, 1989), ma si è visto che sebbene il freddo sia indispensabile per interrompere questa fase, da solo non è sufficiente ad indurre la ripresa delle attività vegetative e deve essere seguito temporalmente da periodi successivi di caldo relativo (WAREING, PHILLIPS, 1978; MURRAY *et al.*, 1989; HANNINEN, 1995; SUMMER *et al.*, 1999).

È importante individuare quando la pianta finisce il periodo di dormienza ed inizia ad accumulare il "caldo": solo così è possibile conoscere le rispettive esigenze termiche e quindi prevedere il momento in cui la pianta inizierà la pollinazione. Per seguire il ritmo di crescita della pianta durante la dormienza e la pre-antesi, abbiamo rivolto lo studio alla crescita delle infiorescenze maschili, dal momento della loro emissione fino alla pollinazione. In aggiunta a questa indagine, abbiamo effettuato un'analisi cito-istologica per cercare di individuare i momenti in cui *Ostrya carpinifolia* compie le varie fasi della microsporogenesi e se queste sono correlabili con lo sviluppo della pianta.

MATERIALI E METODI

Le piante oggetto della ricerca sono situate nell'Orto Botanico dell'Università di Perugia. Si tratta di esemplari di *Ostrya carpinifolia* Scop., di 28-30 anni, che crescono su terreno leggermente acclive, di tipo franco-argilloso con esposizione meridionale ad una quota di circa 400 m s.l.m.

Il periodo di studio considerato va dall'autunno 1998 alla primavera 2000.

Sulle piante prescelte sono state osservate le infiorescenze maschili, dal momento della loro emissione fino alla pollinazione, misurandone la lunghezza con un calibro di precisione. Inizialmente le misure erano eseguite con cadenza quindicinale, successivamente, all'approssimarsi del processo meiotico, bisettimanale. Su ciascuna pianta sono stati individuati e segnati 100 amenti diversamente esposti e localizzati a diverse altezze. Seguendo la cadenza delle misurazioni, venivano prelevati dalle piante alcuni campioni di infiorescenze da sottoporre alle indagini citologiche per verificare lo stato della microsporogenesi.

Alcuni frammenti di amenti erano sottoposti a fissazione (SCANNERINI, 1968) per poi essere inclusi in resina epossidica. Una volta incluso, il materiale è stato sezionato con ultramicrotomo Reichert OM U2 equipaggiato con lame di vetro per ottenere delle sezioni semifini dello spessore di 1-2 mm per l'osservazione, previa colorazione, al microscopio ottico.

Le sezioni semifini, sono state colorate con una soluzione di blu di toluidina preparata fresca sciogliendo 100 mg di blu di toluidina in 100 ml di soluzione

acquosa al 2,5 % di Na_2CO_3 a pH 11,1. (MC COY, KNOX, 1988) L'andamento della pollinazione è stato seguito tramite un catturatore di polline a testata settimanale che effettua il campionamento volumetrico dell'aria. Il riconoscimento e quantificazione dei pollini è stato effettuato secondo il metodo descritto da FRENGUELLI *et al.* (1981). L'andamento della temperatura è stato seguito facendo uso di un termoigrografo che forniva dati orari, posto nelle immediate vicinanze delle piante campionate. Le temperature orarie hanno permesso di calcolare, secondo il metodo di RICHARDSON *et al.* (1974), le "unità di freddo" o "chill units" (C.U.), dove 1 C.U. è uguale a 1 ora di esposizione a temperature comprese tra 2,5° e 9,1°C, e necessarie per superare la dormienza. Inoltre, le temperature orarie sono state trasformate, come proposto da FAUST (1989), in "ore di caldo" o "Growing Degree Hours" (G..D.H.), dove 1 G.D.H. è uguale a 1 ora di esposizione a temperatura maggiore di 4,5°C, e indispensabili per ottenere la successiva fioritura.

RISULTATI

Crescita degli amenti e microsporogenesi

Il monitoraggio della crescita degli amenti ha evidenziato quattro momenti o fasi di allungamento, riproducibili nei due anni, caratterizzati da diverse velocità di distensione.

Nella fase 1, che ha avuto una durata di circa tre mesi, la velocità di crescita degli amenti è limitatissima (Tab. 1) e nelle antere è presente il tessuto arche-sporiale indifferenziato.

TABELLA 1

Fasi e velocità di crescita degli amenti in Ostrya carpinifolia.

Stages and rate of catkin growth in Ostrya carpinifolia.

	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4
98-99				
Durata, gg	103	21	20	7
Allung., mm	4,6	6,5	18,2	47
Velocità				
all. amenti, mm/g	$4,0 \times 10^{-2}$	$3,1 \times 10^{-1}$	$9,1 \times 10^{-1}$	6,7
99-00				
Durata, gg	84	21	26	14
Allung., mm	5,3	16,6	3,7	47,2
Velocità				
all. amenti, mm/g	$6,0 \times 10^{-2}$	$8,0 \times 10^{-1}$	$1,4 \times 10^{-1}$	3,6

Il periodo finale di questa fase è individuato, in entrambi gli anni, da un graduale allungamento delle infiorescenze e dall'entrata in pre-meiosi delle antere con il differenziamento del tessuto arche-sporiale (Fig. 1).

La fase 2, caratterizzata da un significativo incremen-

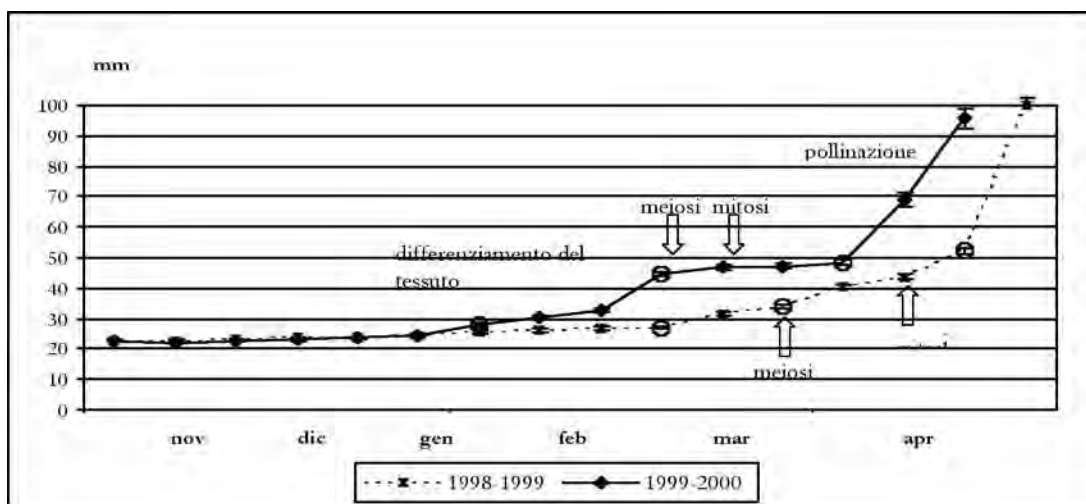


Fig. 1

Accrescimento degli amenti: O indica la fine delle 4 fasi di crescita.

Variation in the catkin growth: O indicates the end of the 4 growth stages.

to della velocità di crescita degli amenti (Tab. 1), termina nel momento in cui le cellule madri del polline completano la meiosi e sono visibili le tetradi di microspore (9 marzo 1999; 17 febbraio 2000). In questa fase le cellule del tappeto sono intatte, con citoplasma denso e si osservano le divisioni mitotiche.

La fase 3 inizia con il rilascio delle microspore che, vacuolizzandosi intensamente, aumentano di dimensione e sono pronte per affrontare la prima divisione mitotica aploide: la microspora diviene così granulo di polline. Al termine della fase 3 il tappeto, avendo completato la sua funzione, è quasi totalmente degenerato.

In questa fase gli amenti hanno seguito a distendersi con velocità paragonabili a quelle della fase precedente (Tab. 1). Da notare, comunque, che nella stagione 1998-99 i valori sono stati sensibilmente più elevati, equilibrando così la minore distensione registrata nella fase 2. La conseguenza di ciò è che all'inizio della pollinazione gli amenti raggiungono, in entrambe le annate, lunghezze pressoché identiche (Fig. 1).

Nella fase 4, che possiamo identificare con la fase fenologica della fioritura, il polline oramai maturo è pronto per essere liberato in atmosfera e le infiorescenze si distendono velocemente raggiungendo dimensioni 5 volte superiori rispetto al periodo di dormienza.

Le quattro fasi descritte si sono succedute, nei due anni di prova, in maniera conforme, ma sfasate nei tempi: la stagione 1999-2000 appare essere anticipata rispetto alla precedente, tanto è vero che la dormienza si conclude 20 giorni prima e la pollinazione comincia con due settimane di anticipo.

Andamento della temperatura

Dall'inizio di novembre e fino alla fine dello stesso

mese, la temperatura è progressivamente diminuita in maniera costante e conforme nei due anni, mentre da dicembre a tutto gennaio, nelle due annate, l'andamento è stato nettamente diverso (Fig. 2).

Il 1998-99, infatti, è stato caratterizzato da un'alternanza di decadi fredde seguite da altre relativamente calde mentre nell'inverno 1999-2000 le temperature sono progressivamente e costantemente diminuite fino alla fine di gennaio (Fig. 2). Anche il rialzo termico di fine inverno è stato molto più rapido e costante nella stagione 1999-2000 determinando maggior celerità nella ripresa vegetativa e un anticipo sull'inizio della pollinazione.

Quando sono state calcolate le unità di freddo (C.U.) accumulate durante le prime due fasi, si sono registrati nelle due stagioni, rispettivamente, 1857,3 e 1660,7 C.U. (Tab. 2).

Considerando quindi la fine della fase 2 come il momento in cui è superato il periodo di stasi vegetativa, indicato dal completamento della meiosi, è stato successivamente calcolato l'accumulo di caldo necessario per la fioritura.

Quantificando durante la fase 3 l'esigenza termica necessaria per avviare la deiscenza delle antere, le piante hanno accumulato 2263 G.D.H. nel primo anno e 2306 G.D.H. nel secondo. In entrambe le stagioni, quindi, le richieste termiche sembrano molto simili, con differenze di circa 200 unità di freddo e di 40 ore di caldo solamente.

Pollinazione

I calendari pollinici dei due anni (Fig. 3) mostrano un andamento simile, ma con differenze sia temporali sia quantitative. La liberazione del polline nel 2000 è cominciata, infatti, con due settimane di anticipo rispetto all'anno precedente (Fig. 3 freccia), ed è stata caratterizzata da concentrazioni di polline in atmosfera molto limitate e da un prolungato

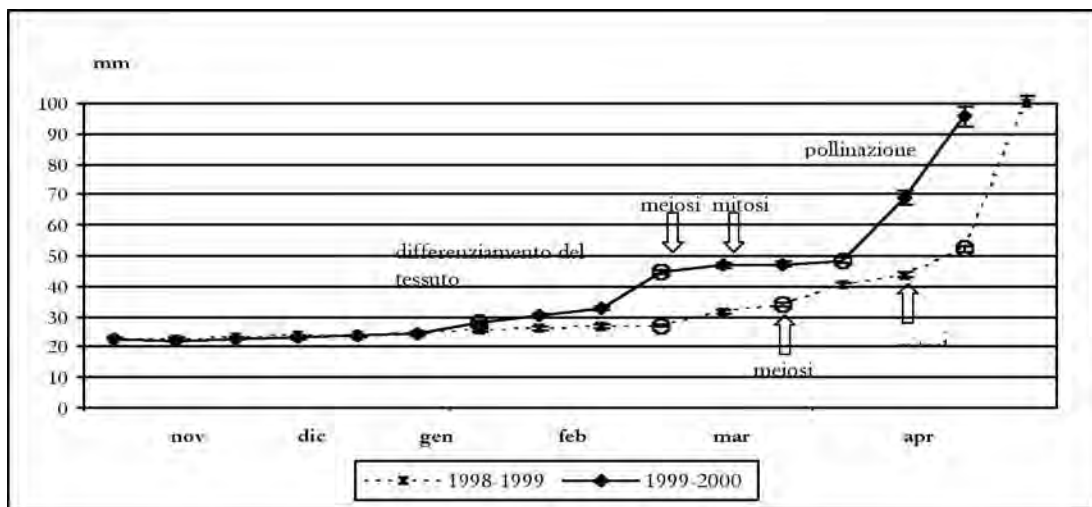


Fig. 2

Andamento delle temperature medie decadiche durante le 2 stagioni studiate.
Mean temperature trend over ten-day period during the 2 studied seasons.

periodo finale, facendo registrare un picco massimo di circa 60 pollini/m³, contro gli oltre 200 pollini/m³ dell'anno precedente (Fig. 3).

DISCUSSIONE

Questo studio ha permesso di individuare per *Ostrya carpinifolia* due marcatori del compimento del periodo di dormienza autunno-invernale: un marcatore morfologico, identificato nella ripresa della crescita delle infiorescenze maschili dopo una fase di rallentamento invernale, in accordo con il comportamento di altri generi amentiferi sistematicamente affini quali *Corylus*, *Alnus* e *Betula* (FRENGUELLI *et al.*, 1997 a, b) ma, diversamente da questi, si è potuto individuare anche un marcatore citologico quale la meiosi delle cellule madri del polline, analogamente a quanto indicato per alcune Rosaceae da frutto come il pesco (YOUNG, HOUSER, 1980) ed il ciliegio (FELKER, ROBITAILLE, 1985).

TABELLA 2

Fasi fenologiche ed esigenze termiche di *Ostrya carpinifolia*.
Phenological stages and thermal requirements of *Ostrya carpinifolia*.

	Dormienza Fase 1 + Fase 2	Maturazione Fase 3	Fioritura Fase 4
98-99			
Durata, gg	124	22	35
C.U.	1857,3		
G.D.H.		2263	
99-00			
Durata, gg	105	28	59
C.U.	1660,7		
G.D.H.		2306	

Questo diverso comportamento del carpino nero può trovare spiegazione nel diverso areale di distribuzione della pianta che sembra in grado di influenzare il momento in cui si verifica la microsporogenesi (YOUNG, HOUSER, 1980). Probabilmente *Ostrya carpinifolia*, presente soprattutto nella zona mediterranea, condivide maggiormente le esigenze climatiche del ciliegio e del pesco piuttosto che quelle del nocciolo o dell'ontano e ripropone quindi il medesimo modello di microsporogenesi, trascorrendo la dormienza con gli amenti maschili già parzialmente sviluppati, ma con le antere che presentano ancora le cellule madri del polline anziché le microspore (*Betula*) o i granuli di polline già formati (*Corylus* e *Alnus*) (FRENGUELLI *et al.*, 1997 a, b).

L'utilizzo di questi due marcatori della dormienza ha permesso di quantificare, per le piante di *Ostrya car-*

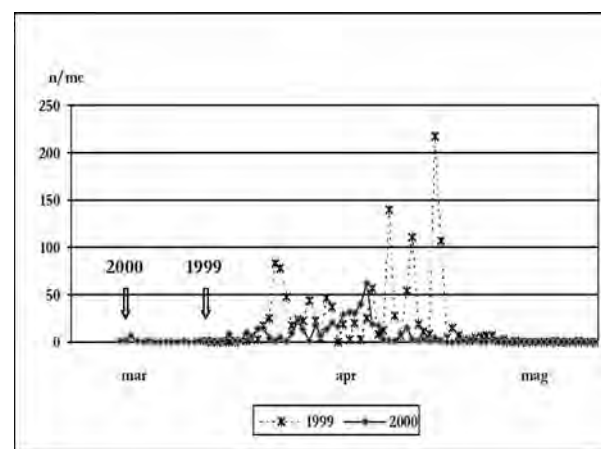


Fig. 3

Calendario pollinico di *Ostrya carpinifolia* nei 2 anni studiati.
Ostrya carpinifolia pollination over 2 studied years.

pinifolia studiate, le esigenze termiche necessarie per il superamento della stasi vegetativa e quindi per la successiva fioritura.

Il numero di giorni utilizzati per soddisfare le due opposte esigenze è dipeso naturalmente dall'andamento della temperatura, ovvero dalla continuità di periodi freddi, durante la dormienza, e dei periodi relativamente caldi, durante la ripresa vegetativa.

Nei due anni di studio si è notato che, durante la dormienza, temperature relativamente elevate rallentano l'accumulo di freddo determinando il prolungamento di tale periodo e ogni ritardo che si accumula nella fase di dormienza si ripercuote sull'inizio della pollinazione. Infatti, il fluttuare della temperatura che ha caratterizzato l'inverno della stagione 1998-99, ha comportato 20 giorni di ritardo per la meiosi e il conseguente inizio della pollinazione.

Mentre il trend regolare di basse temperature della stagione 1999-2000 ha favorito un rapido accumulo delle unità di freddo necessarie ed ha accorciato sia il periodo di dormienza sia il successivo periodo di maturazione, determinando un precoce inizio della pollinazione. Si può inoltre desumere da questo studio che il numero di giorni che compongono il periodo di stasi vegetativa (fase 1+2) e la fase di maturazione (fase 3), influenzano solo marginalmente le C.U. e le G.D.H. necessarie per soddisfare le esigenze termiche in freddo e in caldo.

Sarà naturalmente necessario continuare questo studio ripetendo la prova per altri anni così da avere a disposizione dati statisticamente significativi e poter indicare con sicurezza se i parametri studiati possono essere utilizzati come marcatori della dormienza in *Ostrya* ed effettuare così previsioni attendibili sull'inizio della pollinazione di questa importante essenza forestale.

LETTERATURA CITATA

- BERNETTI G., 1994 - *Selvicoltura speciale*, vol. II. UTET.
 FAUST M., 1989 - *Physiology of temperature zone fruit trees*: 169-233. John Wiley and Sons, New York.
 FELKER F.C., ROBITAILLE H.A., 1985 - *Chilling accumulation and rest of sour cherry flower buds*. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 110(2): 227-232.
 FRENGUELLI G., ROMANO B., MINCIGRUCCI G., PAOLA G., BRICCHI E., 1981 - *Calendario pollinico di Ascoli Piceno. I- 1981*. Ann. Fac. Agr., Univ. Perugia, 35: 389-402.
 FRENGUELLI G., FERRANTI F., TEDESCHINI E., ANDREUTTI R., 1997 a - *Volume changes in the pollen grain of Corylus avellana L. (Corylaceae) during development*. Grana, 36: 289-292.
 FRENGUELLI G., TEDESCHINI E., ANDREUTTI R., FERRANTI F., 1997 b - *Volume changes in alder pollen during dormancy*. Palaeoecology of Africa and surrounding islands, 243-248.
 GELLINI R., GROSSONI P., 1997 - *Botanica forestale*, vol.

II. CEDAM.

- HANNINEN H., 1995 - *Effects of climatic change on trees from cool and temperate regions: an ecophysiological approach to modelling of bud burst phenology*. Can. J. Bot., 73: 183-199.
 LANG G.A., EARLY J.D., ARROYAVE N.J., DARNELL R.L., MARTIN C.G., STUTTE G.W., 1985 - *Dormancy: toward a reduced universal terminology*. Hortscience, 20: 809-811.
 MC CONCHIE C.A., KNOX R.B., 1985 - *Three dimensional reconstruction of the Sperm cells of mature pollen of maize, Zea mays: unique chondriome and Golgi apparatus*. Planta, 145: 254-263.
 MC COY K., KNOX R.B., 1988 - *The plasma membrane and the generative cell organization in pollen of the mimosaïd legume, Acacia retinoides*. Protoplasma, 143: 85-92.
 MURRAY M.B., CANNEL M.G.R., SMITH R.I., 1989 - *Date of bud burst of fifteen tree species in Britain following climatic warming*. J. Appl. Ecol., 26: 693-700.
 PIGNATTI S., 1988 - *I boschi d'Italia: sinecologia e biodiversità*, XVI. UTET.
 PIUSSI P., 1994 - *Selvicoltura generale*, XV. UTET Torino.
 POLUNIN O., WALTERS M., 1992 - *Guida alla vegetazione d'Europa*, Ed. Zanichelli.
 RICHARDSON E.A., SEELEY S.D., WALKER D.R., 1974 - *A model for estimating the completion of rest for "Redhaven" and "Elberta" peach trees*. Hortscience, 9(4): 331-332.
 SCANNERINI S., 1968 - *Tecniche Biologiche di Microscopia Elettronica*, Ed. Univ. Leprotto e Bella, Torino.
 SUMMER M.J., REMPHREY W.R., MARTIN R., 1999 - *Pollen development in relation to phenological stages of influence expansion in Amelanchier alnifolia (saskatoon), with a comparison with buds forced out of dormancy*. Can. J. Bot., 77: 262-268.
 WAREING P.F., PHILLIPS I.D., 1978 - *The control of growth and differentiation in plants*. 2nd Ed. PERGAMON Oxford U.K.
 YOUNG E., HOUSER J., 1980 - *Influence of Siberian C Rootstock on peach bloom delay, water potential, and pollen meiosis*. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 105(2): 242-245.

RIASSUNTO - La pollinazione è il risultato di una sequenza di cambiamenti che avvengono all'interno delle antere e che determinano la formazione del polline. Gli amenti maschili di *Ostrya carpinifolia* vengono iniziati e parzialmente sviluppati l'anno precedente la fioritura.

Essi sono iniziati durante l'estate, ma il loro differenziamento non si completa e la fioritura si avrà nella primavera successiva, con l'aumento della temperatura che segue il periodo di dormienza. Quindi la pollinazione di *Ostrya carpinifolia* dipende dall'andamento della temperatura in due momenti, durante la dormienza e immediatamente prima della pollinazione.

Nel presente lavoro abbiamo cercato di individuare, studiando la crescita degli amenti e la microsporogenesi, dei marcatori che potessero indicare la fine della dormienza e ci permettessero di quantificare il freddo necessario per uscire da questo periodo e il caldo utile per fiorire.

AUTORI

Emma Tedeschini, Giuseppe Frenguelli, Dipartimento di Biologia Vegetale e Biotecnologie Agroambientali, Università di Perugia, Borgo XX Giugno 74, 06121 Perugia