

SOCIETÀ BOTANICA ITALIANA

SEZIONE REGIONALE PUGLIESE

RIUNIONE SCIENTIFICA

ABSTRACTS DELLE RELAZIONI

Lecce
29 Gennaio 2010

Riunione scientifica della Sezione Regionale Pugliese della Società Botanica Italiana Lecce, 29 gennaio 2010

La micropropagazione di alcune specie di *Florideophyceae* marine: probabili casi di embriogenesi somatica

A. BOTTALICO, C.I. DELLE FOGLIE e C. PERRONE.
Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale,
Università di Bari "Aldo Moro".

Sulla base del successo ottenuto con la micropropagazione delle piante, a partire dal 1978 sono state avviate le prime sperimentazioni in questo campo su alcune macroalghe marine di interesse commerciale. Da allora diversi studi hanno riguardato la callogenesi in macroalghe brune e rosse. Nell'ambito delle alghe rosse *Florideophyceae* la propagazione mediata da callogenesi è stata ottenuta in *Gigartinales*, *Gracilariales* e pochissime *Gelidiales* (REDDY *et al.*, 2008). I calli erano o compatti o filamentosi a seconda della specie o della densità del mezzo. Nella maggior parte dei casi dai calli si è ottenuta rigenerazione indiretta, solo per la specie *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty sembra che si siano prodotti embrioni somatici (REDDY *et al.*, 2003).

Questo lavoro ha avuto lo scopo di indagare sulla callogenesi ed organogenesi in tre specie di *Florideophyceae* marine delle coste pugliesi di cui sono note da tempo le capacità rigenerative in coltura e l'effetto di regolatori di crescita esogeni (EGR): *Pterocladia capillacea* (Gmelin) Santelices et Hommersand (FELICINI, ARRIGONI, 1967; FELICINI, PERRONE, 1994), *Schottera nicaeensis* (Lamouroux ex Duby) Guiry et Hollenberg (PERRONE, FELICINI, 1972, 1974, 1981) e *Chondracanthus acicularis* (Roth) Fredericq (PERRONE, FELICINI, 1976). In mezzo liquido, con o senza EGR, non si erano mai ottenuti calli dalle suddette specie.

Per questa sperimentazione i talli sono stati sottoposti a trattamenti di sterilizzazione parziale, poichè in coltura axenica si producono malformazioni di diverso genere. È stato usato un substrato agarizzato e si è ottenuta callogenesi in percentuali variabili a seconda della specie, dal 20% in *C. acicularis* al 100% in *S. nicaeensis*. I calli risultavano compatti e pigmentati, di origine corticale e midollare in *P. capillacea* e *C. acicularis*, esclusivamente di origine midollare in *S. nicaeensis*. La rigenerazione indiretta non si è verificata in nessuna specie, salvo rari casi in *P. capillacea*. I calli di *C. acicularis* si sono decomposti dopo pochi giorni. In *P. capillacea* e in *S. nicaeensis* sembra che si sia verificata embriogenesi somatica; soltanto in *S. nicaeensis* però è stato possibile seguire lo sviluppo degli embrioni sia *in situ* che nei calli isolati dall'e-

spianto di origine. Trasferiti in sub-coltura liquida, gli embrioni entro 30 giorni hanno sviluppato plantule conformi ai caratteri fenotipici della specie, ma affette da evidente nanismo, pur mantenendo inalterata la polarità apico-basale e i rapporti morfometrici. Le plantule sono state sottoposte a regimi fotoperiodici differenti i cui effetti morfogenetici sono risultati conformi a quanto già ottenuto sulla rigenerazione in coltura degli espianti di questa specie (PERRONE, FELICINI, 1993).

In conclusione, la callogenesi si è prodotta in tutte e tre le specie entro 15-20 giorni di coltura degli espianti in mezzo agarizzato ed è stata stimolata dall'aggiunta di EGR. In una delle specie si è verificata l'embriogenesi somatica con conseguente sviluppo di plantule vitali.

LETTERATURA CITATA

- FELICINI G.P., ARRIGONI O., 1967 – *Ricerche sulla rigenerazione in coltura di Pterocladia capillacea* (Gmel.) Born. et Thur. Giorn. Bot. Ital., 101: 199-217.
- FELICINI G.P., PERRONE C., 1994 – *Pterocladia*. In: I. AKATSUKA (Ed.), *Biology of Economic Algae*: 283-344. SPB Acad. Publ. bv. The Hague, The Netherlands.
- PERRONE C., FELICINI G. P., 1972 – *Sur les bourgeons adventifs de Petroglossum nicaeense* (Duby) Schotter (Rhodophycées, Gigartinales) en culture. Phycologia, 11: 87-95.
- PERRONE C., FELICINI G.P., 1974 – *Dominance apicale et morphogénèse chez Petroglossum nicaeense* (Duby) Schotter (Rhodophyceae). Phycologia, 13 (39): 187-194.
- , 1976 – *Les bourgeons adventifs de Gigartina acicularis* (Wulf.) Lamour. (Rhodophyta, Gigartinales) en culture. Phycologia, 15: 45-50.
- , 1981 – *Polarité dans la fronde de Schottera nicaeensis* (Phylloporaceae). Phycologia, 20: 142-146.
- , 1993 – *Morphogenetic effects of daylength in Schottera nicaeensis*. Hydrobiologia, 260/261: 145-150.
- REDDY C.R.K., JHA B., FUJITA Y., OHNO M., 2008 – *Seaweed micropropagation techniques and their potentials: an overview*. J. Appl. Phycol., 20: 609-617.
- REDDY C.R.K., RAJAKRISHNAKUMAR G., SIDDHANTA A.K., TEWARI A., 2003 – *In vitro somatic embryogenesis and regeneration of somatic embryos from pigmented callus of Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty (Rhodophyta, Gigartinales). J. Phycol., 39: 610-616.

Pattern di secrezione della proteina chimerica PGIP2-GFP

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

La parete cellulare è una struttura polimerica complessa costituita da microfibrille di cellulosa immerse in una matrice idratata. La matrice si compone fondamentalmente di sostanze pectiche, emicellulose e proteine. Sostanze pectiche ed emicellulose sono sintetizzate nei dittiosomi, mentre le proteine di parete sono sintetizzate nel reticolo endoplasmatico. La cellulosa viene sintetizzata sul plasmalemma ad opera del complesso cellulosa sintasi, le cui componenti sono sintetizzate nel RE e, verosimilmente, assemblate nei dittiosomi. Il traffico vescicolare svolge, pertanto, un ruolo fondamentale nella sintesi e nelle modifiche della parete dal momento che vescicole rilasciano esternamente alla membrana plasmatica i polisaccaridi di matrice, sostanze pectiche ed emicellulose, le proteine enzimatiche e strutturali di parete, nonché il complesso cellulosa sintasi che si organizza a livello di plasmalemma. Nonostante questo intenso traffico di polisaccaridi e proteine verso la parete, molto poco si conosce sui meccanismi che regolano la secrezione di queste molecole nelle cellule vegetali. In questo lavoro viene analizzato il processo attraverso il quale la proteina fluorescente PGIP2-GFP raggiunge la parete. La chimera PGIP2-GFP è stata ottenuta fondendo secGFP, una forma secreta di GFP (DI SANSEBASTIANO *et al.*, 1998), a PGIP2, una proteina di parete, estratta da *Phaseolus vulgaris* L., che inibisce le poligalatturonasi, il cui cDNA è stato fornito dalla Prof.ssa De Lorenzo (Università "La Sapienza" Roma). Le analisi sono state condotte attraverso osservazioni al microscopio confocale. Protoplasti di tabacco trasformati in maniera transiente con il costrutto chimerico *pgip2-gfp*, a 48 ore dalla trasformazione, evidenziano una fluorescenza verde discontinua ben visibile in una zona periferica con un *pattern* che sembra essere quello tipico della parete cellulare. Per confermare la presenza della chimera nella porzione extraprotoplasmatica, è stato utilizzato un anticorpo primario anti-GFP riconosciuto da un anticorpo secondario coniugato con il fluoroforo Alexa fluor 546 che emette fluorescenza nel rosso. L'anticorpo riconosce PGIP2-GFP esternamente al protoplasto ed il *pattern* di distribuzione della fluorescenza rossa dovuta all'anticorpo contro GFP è perfettamente sovrapponibile a quella verde della proteina chimerica. La specificità del riconoscimento anticorpo anti-GFP e PGIP2-GFP nella porzione esterna del protoplasto, ovvero in parete, è stata dimostrata in protoplasti di tabacco trasformati con *secgfp-kdel*, marcatore del RE, trattati con l'anticorpo anti-GFP. In questo caso l'epitopo GFP non è accessibile all'anticorpo, pertanto, non essendoci alcuna interazione tra proteina ed anticorpo, non si ha fluorescenza nel rosso. I protoplasti trasformati con *pgip2-gfp* mostrano un *pattern* di fluorescenza che si evolve nel tempo. Dopo circa 60 ore d'espressione, la proteina chimerica non è presente in parete, ma si localizza in compartimenti intracellulari associabili a endosomi. Per provare la presenza di PGIP2-GFP in compartimenti endoso-

miali è stato utilizzato il colorante fluorescente FM4-64 che emette nel rosso e che, a tempi lunghi (40-60 minuti), risulta specifico per gli endosomi nelle piante (VOITG *et al.*, 2005; GELDNER *et al.*, 2003). Dalle immagini effettuate al microscopio confocale emerge che la fluorescenza verde di PGIP2-GFP e la fluorescenza rossa del colorante FM4-64 si sovrappongono in diversi compartimenti. Ciò evidenzia che la proteina PGIP2-GFP va incontro ad eventi di internalizzazione, mediata da endosomi.

Il tyrphostin A23 è un analogo della tirosina e previene la formazione di vescicole rivestite di clatrina inibendo il processo di endocitosi cellulare (ORTIZ-ZAPATER *et al.*, 2006). Per chiarire gli eventi di internalizzazione di PGIP2-GFP sono stati condotti test in protoplasti trasformati con *pgip2-gfp* in presenza di tyrphostin A23 (100 μ M). Dopo 45 minuti di trattamento con tyrphostin A23 la proteina fluorescente rimane stabile a livello di parete cellulare. La localizzazione extracellulare di PGIP2-GFP in presenza di tyrphostin A23 è stata nuovamente confermata attraverso immunomarcatura con l'anticorpo anti-GFP. L'effetto del tyrphostin A23 risulta specifico sull'internalizzazione di PGIP2-GFP in quanto il colorante FM4-64, marcatore fluorescente della via endocitotica, viene efficientemente internalizzato nei compartimenti endosomiali. Queste evidenze dimostrano che il tyrphostin A23 determina un blocco dell'endocitosi di PGIP2-GFP e, data la specificità dell'azione della droga, indicano che la proteina venga internalizzata attraverso un meccanismo clatrina dipendente. I risultati riportati sono estremamente interessanti dal momento che eventi di internalizzazione, dimostrati per proteine presenti sulla membrana plasmatica, sembrano verificarsi anche per una proteina di parete.

Questo lavoro è stato finanziato con i fondi del progetto PRIN 2007.

LETTERATURA CITATA

- DI SANSEBASTIANO G.P., PARIS N., MARC-MARTIN S., NEUHAUS J.M., 1998 – *Specific accumulation of GFP in a non-acidic vacuolar compartment via a C-terminal propeptide-mediated sorting pathway*. Plant J., 15: 449-458.
- GELDNER N., ANDERS N., WOLTERS H., KEICHER J., KORNBERGER W., MULLER P., DELBARRE A., UEDA T., NAKANO A., JURGENS G., 2003 – *The Arabidopsis GNOM ARF-GEF mediates endosomal recycling, auxin transport, and auxin-dependent plant growth*. Cell, 112: 219-230.
- ORTIZ-ZAPATER E., SORIANO-ORTEGA E., MARCOTE M.J., ORTIZ-MASLÁ D., ANIENTO F., 2006 – *Trafficking of the human transferrin receptor in plant cells: effects of tyrphostin A23 and brefeldin A*. Plant J., 48: 757-770.
- VOITG B., TIMMERS A.C.J., ŠAMAJ J., HLIVACKA A., UEDA T., PREUSS M., NIELSEN E., MATHUR J., EMANS N., STENMARK. H., 2005 – *Actin-based motility of endosomes is linked to the polar tip growth of root hairs*. Eur. J. Cell Biol., 84: 609-621.

Accumulo di citrullina in risposta allo stress idrico in giovani plantule di anguria [*Cucumis citrullus* (L.) Ser]

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

Lo stress idrico è la principale forma di stress ambientale che riduce la produttività delle piante coltivate (BOYER, 1982). La comprensione dei meccanismi di tolleranza alla siccità messi in atto da piante adattate a vivere in aree desertiche e subdesertiche è fondamentale per pianificare interventi atti a migliorare la *fitness* delle specie d'interesse economico.

Alcune varietà selvatiche di anguria crescono spontanee nel deserto del Kalahari e sono caratterizzate da un'elevata tolleranza a lunghi periodi di siccità associata a forte irradiazione solare e ad alte temperature. La tolleranza allo stress idrico di queste piante si esprime, oltre che con la limitazione della traspirazione stomatica e l'accumulo di acqua in tessuti specializzati di radici, fusto e foglie, anche e soprattutto con la produzione e l'accumulo di soluti compatibili.

La L-citrullina, aminoacido non proteico coinvolto nel trasporto dell'azoto dalle radici alla parte aerea delle Cucurbitacee, si accumula in quantità consistenti nelle foglie delle varietà selvatiche di anguria soggette a stress idrico, suggerendo un suo coinvolgimento nei meccanismi di tolleranza alla siccità in qualità di soluto compatibile. La L-citrullina sembra inoltre capace di agire da antiossidante nei confronti delle molecole biologiche, soprattutto delle clorofille, particolarmente esposte al danno foto-ossidativo.

Questo studio è stato volto a stabilire se lo stress idrico in condizioni di irradiazione solare e temperatura tipiche del sud Italia possa determinare l'accumulo di L-citrullina anche in giovani plantule di una varietà commerciale di anguria (Crimson sweet), che notoriamente necessitano di costanti cure colturali e abbondanti irrigazioni. Il riscontro di meccanismi di tolleranza simili a quelli delle varietà selvatiche potrebbe servire da base di partenza per migliorare la resistenza delle varietà coltivate di anguria alla siccità. Plantule di anguria (Crimson sweet) di circa 30 giorni, cresciute all'aperto, sono state sottoposte a stress idrico, sospendendo totalmente l'irrigazione. Il contenuto di L-citrullina è stato monitorato nel tempo fino a completo appassimento delle plantule stressate (circa dodici giorni) e confrontato con quello rilevato in plantule regolarmente irrigate (controllo).

La determinazione quantitativa della L-citrullina è stata effettuata mediante analisi spettrofotometrica, utilizzando il reagente COLDER (COLOR DEveloping Reagent) che sviluppa un colore fucsia intenso reagendo con il gruppo ureidico della L-citrullina (KNIPP, VASAK, 2000).

Nelle plantule di anguria controllo, regolarmente irrigate, la quantità di L-citrullina ($\sim 250 \mu\text{g/g fw}$) risulta identica a quella riscontrata in foglie di pian-

te adulte della stessa varietà, cresciute in pieno campo nel medesimo periodo e costantemente irrigate, suggerendo che il contenuto di L-citrullina non venga influenzato dall'età della pianta e che questo aminoacido sia coinvolto nel trasporto dell'azoto durante l'intero ciclo vegetativo dell'anguria. Risulta, invece, decisamente superiore a quella riportata in letteratura per foglie di plantule di anguria selvatica ($93 \mu\text{g/g fw}$), irrigate secondo il loro fabbisogno idrico (YOKOTA *et al.*, 2002). Ciò potrebbe essere dovuto sia a differenze genotipiche tra la varietà coltivata e la varietà selvatica nel fabbisogno di azoto, sia a differenze colturali e ambientali.

Le plantule di anguria sottoposte a stress idrico hanno manifestato dei meccanismi biochimici di tolleranza simili a quelli delle varietà selvatiche: lo stress idrico ha indotto un consistente e progressivo accumulo di L-citrullina nella parte aerea (fusto e foglie) delle plantule Crimson sweet. Un aumento di L-citrullina di circa dodici volte superiore rispetto al valore misurato nelle plantule controllo è stato riscontrato dopo dodici giorni dall'induzione dello stress quando fusto e foglie risultano completamente avvizzite. Il contenuto di L-citrullina nelle plantule Crimson sweet al dodicesimo giorno di stress idrico ($2803 \mu\text{g/g fw}$) risulta, tuttavia, decisamente inferiore a quello riportato in foglie di anguria selvatica sottoposte a otto giorni di stress idrico ($4138 \mu\text{g/g fw}$), in cui la sola L-citrullina costituisce circa il 50% del totale degli aminoacidi liberi (KAWASAKI *et al.*, 2000). Per normalizzare il contenuto di L-citrullina nelle plantule rispetto al contenuto di acqua, che potrebbe variare consistentemente al perdurare dello stress, questo è stato espresso su peso secco (dw). Rispecchiando l'andamento su peso fresco (fw), il contenuto di L-citrullina su peso secco è pressoché costante nelle piante controllo al passare dei giorni, mentre nelle piante stressate aumenta marcatamente fino a raggiungere il valore massimo, registrato al dodicesimo giorno dalla sospensione dell'irrigazione, di $23,6 \text{ mg/g dw}$, nove volte superiore a quello delle piante controllo ($\sim 2,5 \text{ mg/g dw}$).

Poiché recentemente la L-citrullina introdotta con la dieta ha destato notevole interesse visto il suo coinvolgimento nella regolazione di numerose funzioni fisiologiche dell'uomo, l'induzione controllata dello stress idrico potrebbe indicare una via per ottenere piante di anguria arricchite in tale aminoacido, che potrebbero essere utilizzate come fonte naturale di L-citrullina per la preparazione di integratori alimentari.

LETTERATURA CITATA

- BOYER J.S., 1982 – *Plant productivity and environment*. Science, 218: 443-448.
- KAWASAKI S., MIYAKE C., KOUCHI T., YOKOTA A., 2000 – *Responses of wild watermelon to drought stress: accumulation of an ArgE homologue and citrulline in leaves during water deficit*. Plant Cell Physiol., 41: 864-873.
- KNIPP M., VASAK M., 2000 – *A colorimetric 96-well microtiter plate assay for the determination of enzymati-*

cally formed citrulline. Anal. Biochem., 286: 257-264.
YOKOTA A., KAWASAKI S., IWANO M., NAKAMURA C., MIYAKE C., AKASHI K., 2002 – *Citrulline and DRIP-1 Protein (ArgE homologue) in drought tolerance of wild watermelon*. Ann. Bot., 89: 825-832.

Effetti dello stress termico sulla crescita e il metabolismo redox in cellule TBY-2

C. GADALETA¹, N. DIPIERRO¹, A. SGOBBA¹, S. DIPIERRO¹, L. DE GARA² e M.C. DE PINTO¹.
¹Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale, Università di Bari "Aldo Moro". ²Centro Integrato di Ricerca (CIR), Università Campus Bio-Medico di Roma.

Le piante, in quanto organismi privi di movimento, sono spesso esposte a condizioni ambientali avverse che incidono negativamente sulla loro crescita, sviluppo e produttività. Tra gli stress di natura abiotica lo stress termico è particolarmente dannoso per gli organismi vegetali, in quanto l'esposizione alle radiazioni solari, per lo svolgimento della fotosintesi, può anche comportare un aumento di temperatura dei tessuti. Lo stress termico può avere un effetto devastante sul metabolismo cellulare, poiché non solo induce cambiamenti significativi nei normali processi fisiologici ma porta a sovrapproduzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) con conseguente stress ossidativo (MITTLER, 2002). In queste condizioni la sopravvivenza delle cellule è legata alla loro capacità di potenziare i sistemi antiossidanti. Un altro meccanismo di difesa, attivato in presenza di stress ossidativo, consiste nell'arresto del ciclo cellulare, per consentire il riparo del DNA. Durante l'arresto del ciclo cellulare si osserva un potenziamento dei sistemi antiossidanti, necessario per rendere minimi i danni arrecati al metabolismo cellulare (REICHHELD *et al.*, 1999).

Uno studio recente ha messo in evidenza che le risposte delle piante allo stress termico sono estremamente diverse a seconda dell'intensità dello stress. È stato dimostrato che l'esposizione di cellule TBY-2 per 10 minuti a 35 °C, nonostante determini un aumento di ROS, porta ad un potenziamento di sistemi antiossidanti finalizzato al superamento dello stress e alla conseguente sopravvivenza cellulare. Al contrario, la breve esposizione a 55 °C determina un abbassamento dei sistemi antiossidanti, con produzione di un burst ossidativo e attivazione di un processo di morte cellulare programmata (LOCATO *et al.*, 2008).

In questo lavoro sono state studiate le risposte delle cellule vegetali ad una esposizione di diversa durata alla temperatura di 35 °C. Le colture cellulari TBY-2, che normalmente crescono alla temperatura di 27 °C, sono state esposte alla temperatura di 35 °C per 6 ore e successivamente riportate alla normale temperatura di crescita (shift) o mantenute alla temperatura di 35 °C per tutta la durata dell'esperimento (7 giorni). I risultati ottenuti hanno messo in evidenza

che i due trattamenti determinano risposte cellulari differenti.

Lo shift, non ha nessun effetto sulla crescita cellulare che rimane sostanzialmente uguale a quella delle cellule controllo. Queste cellule arrestano solo temporaneamente la divisione cellulare; l'indice mitotico, infatti, torna a valori comparabili a quelli del controllo già al secondo giorno di crescita. Contemporaneamente, rafforzano i loro sistemi antiossidanti e ciò le rende in grado di superare lo stress. Dopo 7 giorni dal trattamento, infatti, tutti i parametri analizzati ritornano simili a quelli del controllo evidenziando un'acclimatazione delle cellule allo stress.

Le stesse cellule esposte in modo continuo a 35 °C presentano un sostanziale rallentamento della crescita cellulare. In questo caso si assiste ad una inibizione persistente delle divisioni cellulari, dovuta al blocco del ciclo cellulare e ad una diminuzione della distensione cellulare. Queste cellule potenziano inizialmente i loro sistemi antiossidanti, ma ciò si dimostra non sufficiente a fronteggiare una situazione di stress termico persistente. Dopo 7 giorni dal trattamento, si assiste ad un calo di attività degli enzimi antiossidanti che, probabilmente, contribuisce all'aumento della mortalità cellulare.

Il pretrattamento delle cellule esposte in modo continuo a 35 °C con glutatione o galattone- α -lattone, ultimo precursore nella via di biosintesi dell'acido ascorbico, evita il rallentamento delle divisioni cellulari e preserva la vitalità cellulare. Il recupero di crescita cellulare, che si osserva in presenza di aumentati livelli di antiossidanti, mette in evidenza la stretta correlazione tra stato redox cellulare e resistenza allo stress.

LETTERATURA CITATA

- LOCATO V., GADALETA C., DE GARA L., DE PINTO M.C., 2008 – *Production of reactive species and modulation of antioxidant network in response to heat shock: a critical balance for cell fate*. Plant Cell Environm., 31: 1606-1619.
MITTLER R., 2002 – *Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance*. Trends Plant Sci., 7: 405-410.
REICHHELD J.P., VERNOUX T., LARDON F., VAN MONTAGUL M., INZE D., 1999 – *Specific checkpoints regulate plant cell cycle progression in response to oxidative stress*. Plant J., 17 (6): 647-656.

Effetto dei Lantanidi sui sistemi antiossidanti in *Nephrolepis cordifolia* (L.) C. Presl

C. FASCIANO¹, M.P. IPPOLITO¹, L. D'AQUINO² e F. TOMMASI¹. ¹Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale, Università di Bari "Aldo Moro". ²ENEA, Centro di Ricerche di Portici.

Con il termine "terre rare" o lantanidi si indicano gli elementi chimici compresi nella Tavola Periodica fra il Lantanio ed il Lutezio inclusi l'ittrio e lo scandio, i quali manifestano comuni proprietà chimiche connesse ad una simile configurazione elettronica ester-

na. Negli ultimi anni, i lantanidi vengono largamente impiegati in campo industriale, agricolo e zootecnico. In Cina, a partire dagli anni '80, risultano largamente impiegati in agricoltura come fertilizzanti, cosa che suscita crescenti preoccupazioni per la possibile contaminazione di suoli, ecosistemi acquatici e derrate alimentari.

In letteratura, alcuni dati mostrano risultati positivi su varie specie di piante, tra i quali la promozione della germinazione dei semi, lo sviluppo di radici e germogli, la fioritura, la produttività in campo di alcune specie; altri studi, al contrario, evidenziano effetti nulli o addirittura inibitori di tali sostanze su colture di interesse agrario (D'AQUINO *et al.*, 2009a). È stato anche dimostrato che organismi fungini terricoli possono accumulare elevate quantità di lantanidi (D'AQUINO *et al.*, 2009b). È stata avviata una ricerca finalizzata ad individuare piante potenzialmente utili per il fitorimedio delle contaminazioni da lantanidi. Una specie può essere impiegata nel fitorimedio di inquinanti chimici se è in grado di tollerarli ed è capace di accumularli nei tessuti. Le specie utilizzate nel fitorimedio devono anche riprodursi in modo controllabile ed in modo tale da non creare esse stesse "inquinamento biologico". Diversi studi effettuati su numerose specie di Pteridofite mettono in risalto la loro capacità di accumulare alcuni metalli in differenti strutture vegetali e suggeriscono pertanto il loro possibile impiego nel fitorimedio (RATHINASABAPATHI *et al.*, 2006; KACHENKO *et al.*, 2007; FENG *et al.*, 2009; SINGH *et al.*, 2009). Tra queste è possibile riscontrare il genere *Nephrolepis* che risulta accumulare arsenico e mercurio (TU *et al.*, 2004; SRIVASTAVA *et al.*, 2005; CHEN *et al.*, 2009). In letteratura esistono pochi dati relativi agli effetti dei lantanidi su felci, tuttavia esistono specie di Pteridofite come la *Dryopteris erythrosora* (D.C. Eaton) Kuntze la cui crescita beneficia del trattamento con terre rare e che è capace di accumularle nei suoi tessuti (OZAKI *et al.*, 2000; OZAKI *et al.*, 2001). Lo scopo del lavoro svolto era lo studio degli effetti del nitrato di lantanio a diverse concentrazioni su piante di *Nephrolepis cordifolia* (L.) C. Presl cresciute *in vitro* ed in serra. Le informazioni raccolte hanno riguardato soprattutto le variazioni delle due principali molecole antiossidanti non enzimatiche vegetali, ossia ascorbato e glutazione ed i parametri di salute della pianta, ovvero il contenuto proteico totale e quello di clorofilla. I dati ottenuti hanno dimostrato in maniera evidente che le piante tollerano le concentrazioni di nitrato di lantanio somministrate, senza evidenti sintomi di tossicità. Trattamenti in serra a concentrazione di 10 mM determinano un incremento del contenuto di glutazione e di ascorbico con la conseguente stimolazione dei sistemi antiossidanti.

LETTERATURA CITATA

CHEN J., SHIYAB S., HAN F.X., MONTS D.L., WAGGONER C.A., YANG Z., SU Y., 2009 – *Bioaccumulation and physiological effects of mercury in Pteris vittata and Nephrolepis exaltata*. *Ecotoxicology*, 18: 110-121.
D'AQUINO L., DE PINTO M.C., NARDI L., MORGANA M.,

TOMMASI F., 2009a – *Effect of some light rare earth elements on seed germination, seedling growth and antioxidant metabolism in Triticum durum*. *Chemosphere*, 75: 900-905.

D'AQUINO L., MORGANA M., CARBONI M., A., STAIANO M., VITTORI ANTISARI M., RE M., LORITO M., VINALE F., ABADI K. M., WOO S.L., 2009b – *Effect of some rare earth elements on the growth and lanthanide accumulation in different Trichoderma strains*. *Soil Biol. Biochem.*, 41: 2406-2413.

FENG R., WEI C., TU S., WU F., YANG L., 2009 – *Antimony accumulation and antioxidative responses on four fern plants*. *Plant Soil*, 317: 93-101.

KACHENKO A.G., SINGH B., BHATIA N.P., 2007 – *Heavy metal tolerance in common fern species*. *Aust. J. Bot.*, 55: 63-73.

OZAKI T., ENOMOTO S., 2001 – *Uptake of rare earth elements by Driopteris erythrosora (autumn fern)*. *RIKEN Review: Focused on New Trends in Bio-Trace Elements Research*, 35: 84-87.

OZAKI T., ENOMOTO S., MINAI Y., AMBE S., AMBE F., MIKIDE Y., 2000 – *Beneficial effect of rare earth elements on the growth of Driopteris erythrosora*. *J. Plant Physiol.*, 156: 330-334.

RATHINASABAPATHI B., MA L.Q., SRIVASTAVA M., 2006 – *Arsenic hyperaccumulating ferns and their application to phytoremediation of arsenic contaminated sites*. *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology*, Global Science Books, 3: 304-311.

SINGH N., MA L.Q., VU J.C., RAJ A., 2009 – *Effect of arsenic on nitrate metabolism in arsenic hyperaccumulating and non-hyperaccumulating ferns*. *Environ. Pollut.*, 157: 2300-2305.

SRIVASTAVA M., MA L.Q., SINGH N., SINGH S., 2005 – *Antioxidant responses of hyper-accumulator and sensitive fern species to arsenic*. *J. Exper. Bot.*, 56: 1335-1342.

TU S., MA L.Q., LUONGO T., 2004 – *Root exudates and arsenic accumulation in arsenic hyperaccumulating Pteris vittata and non-hyperaccumulating Nephrolepis exaltata*. *Plant Soil*, 258: 9-19.

Effetto della somministrazione di nitrato di lantanio e nitrato di calcio a piante di pomodoro

M.P. IPPOLITO¹, C. FASCIANO¹, L. D'AQUINO² e F. TOMMASI¹. ¹Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro". ²ENEA, Centro di Ricerche di Portici.

Le terre rare, denominate anche lantanidi, comprendono 15 elementi chimici appartenenti al gruppo IIIB della Tavola Periodica, più l'ittrio e lo scandio. Tali elementi, naturalmente presenti nell'ambiente, vengono utilizzati, oltre che per applicazioni industriali di alta tecnologia, anche in agricoltura e zootecnia (HE *et al.*, 2001; HU *et al.*, 2004; D'AQUINO *et al.*, 2009a), cosa che ne modifica il flusso di immissione nei sistemi naturali. Fra i lantanidi, l'elemento più utilizzato è il lantanio che, sotto forma di nitrato e cloruro, viene utilizzato su un largo numero di colture sia mediante trattamenti fogliari sia per trattamenti ai semi o nel terreno. A seguito delle applicazioni di terre rare ai sistemi vegetali, è stato

dimostrato il loro accumulo principalmente nell'apparato radicale, ma anche nelle parti aeree delle piante coltivate (XU *et al.*, 2002). Tuttavia, l'effetto di tali elementi sulla fisiologia dei vegetali, che sono alla base della catena alimentare, è ancora lontano dall'essere chiarito del tutto, in quanto sono stati riscontrati effetti sia positivi sia negativi sulle funzioni vegetali. È stato anche dimostrato che organismi fungini terricoli simbiotici di piante possono accumulare elevate quantità di lantanidi, cosa che lascia ipotizzare il loro ruolo attivo anche nell'assorbimento da parte delle piante (D'AQUINO *et al.*, 2009b). In letteratura, a seguito di trattamenti con terre rare, è riportata stimolazione di sistemi antiossidanti (ZHANG *et al.*, 2003; IPPOLITO *et al.*, 2010), ossia enzimi e molecole implicati nelle reazioni in grado di controllare i livelli di specie reattive dell'ossigeno nelle piante (MITTLER, 2002). Le terre rare possono essere potenzialmente tossiche per la loro affinità con i siti di legame del calcio: infatti lo ione La^{3+} ha un raggio ionico simile a quello dello ione Ca^{2+} , interagisce con i sistemi biologici calcio-dipendenti e può, pertanto, legarsi ai siti d'assorbimento superficiale del calcio, causando alterazioni della fluidità della membrana. Scopo del lavoro svolto è stato lo studio comparativo degli effetti di concentrazioni crescenti di nitrato di lantanio e di nitrato di calcio su aspetti fisiologici di plantule di *Lycopersicon esculentum* Mill. Il Pomodoro come pianta modello è stato prescelto per l'ampio interesse agroalimentare della pianta, largamente coltivata in Italia per i suoi frutti, che però attualmente sono anche oggetto di importazione da vari Paesi, tra cui la Cina. Le informazioni raccolte hanno riguardato soprattutto le variazioni dei principali sistemi antiossidanti della pianta, in particolare le componenti del ciclo ascorbato glutatione, ed alcuni indicatori di danno cellulare, quali il livello di perossidazione lipidica ed il contenuto in clorofilla. Il trattamento a più alta concentrazione con nitrato di lantanio ha determinato modificazioni morfologiche e segni di alterazioni dei parametri vitali della pianta, condizione che non si è riscontrata con la stessa concentrazione di nitrato di calcio, in corrispondenza della quale le piante hanno mostrato effetti simili a quelli registrati sulle piante controllo.

LETTERATURA CITATA

- D'AQUINO L., DE PINTO M.C., NARDI L., MORGANA M., TOMMASI F., 2009a – *Effect of some light rare earth elements on seed germination, seedling growth and antioxidant metabolism in Triticum durum*. Chemosphere, 75: 900-905.
- D'AQUINO L., MORGANA M., CARBONI M.A., STAIANO M., VITTORI ANTISARI M., RE M., LORITO M., VINALE F., ABADI K.M., WOO S.L., 2009 – *Effect of some rare earth elements on the growth and lanthanide accumulation in different Trichoderma strains*. Soil Biol. Biochem., 41: 2406-2413.
- HE M.L., RANZ D., RAMBECK W., A., 2001 – *Study on the performance enhancing effects of rare earth elements in growing and fattening pigs*. J. Animal Physiol. An. N., 85: 263-270.
- HU Z., RICHTER H., SPAROVEK G., SCHNUG E., 2004 – *Physiological and biochemical effects of Rare Earth elements on plants and their agricultural significance: a Review*. J. Plant Nutr., 27: 183-220.
- IPPOLITO M.P., FASCIANO C., D'AQUINO L., MORGANA M., TOMMASI F., 2010 – *Responses of Antioxidant Systems After Exposition to Rare Earths and Their Role in Chilling Stress in Common Duckweed (Lemna minor L.): A Defensive Weapon or a Boomerang?* Arch. Environ. Con. Tox., 58: 42-52.
- MITTLER R., 2002 – *Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance*. Trends Plant Sci., 7: 405-410.
- XU X., ZHU W., WANG Z., WITKAMP G. J. 2002 – *Distribution of rare earths and heavy metals in field-grown maize after application of rare earth-containing fertilizers*. Sci. Total Environ., 293: 97-105.
- ZHANG L., ZENG F., XIAO R., 2003 – *Effect of Lanthanum Ions (La^{3+}) on the Reactive Oxygen Species Scavenging Enzymes in Wheat Leaves*. Biol. Trace Elem. Res., 91: 243-255.

Idrolisi enzimatica dell'amido in *Ipomea batatas* (L.) Lam. mediante utilizzo di due differenti tipi di α -amilasi termostabili

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

Negli ultimi anni, la ricerca nel settore energetico e ambientale si è orientata alla scoperta e al possibile utilizzo di nuove fonti energetiche rinnovabili. È nata, quindi, la necessità di studiare i processi produttivi di biocarburanti da fonti energetiche alternative e in particolare l'attenzione si è focalizzata sull'uso di carboidrati. In tale contesto i tuberi di patata zuccherina [*Ipomea batatas* (L.) Lam.], oggetto di studio di questo lavoro, rappresentano una valida biomassa amilacea (amido=17,5% del peso fresco) (YOSHIDA, MORIMOTO, 1958) e possono essere utilizzati per la produzione di bioetanolo. I microrganismi fermentatori, come ad esempio *Saccharomyces cerevisiae* Meyen ex E.C. Hansen e *Zymomonas mobilis* (Lindner 1928) Kluver and van Niel 1936, mancano di enzimi amilolitici, quindi non sono in grado di convertire l'amido in bioetanolo (ANG *et al.*, 2001). È necessario per questo utilizzare enzimi esogeni che idrolizzando i legami glucosidici dell'amido, consentano la liberazione di residui glucosidici facilmente fermentabili (KIM, DALE, 2004). Per questo motivo, c'è enorme interesse per la produzione e lo sviluppo di enzimi che siano in grado di degradare l'amido grezzo ed essere utilizzati per applicazioni industriali specifiche (BURHAN *et al.*, 2003; PRAKASHAM *et al.*, 2007)

In questo lavoro l'attenzione si è focalizzata sulla fase d'idrolisi enzimatica dell'amido che costituisce il primo step del processo di produzione di bioetanolo. L'idrolisi dell'amido comprende tre fasi: gelatinizzazione, liquefazione e saccarificazione. È noto che a temperature di 50-60 °C i granuli di amido gelatinizzano, cioè si rigonfiano e assorbono acqua, in questo modo la struttura del granulo viene alterata e, nella successiva fase di liquefazione, viene

facilitata l'idrolisi in presenza di α - e β -amilasi con formazione di destrine α - e β -limite, maltosio e glucosio. Infine durante la fase di saccarificazione, in presenza di amiloglicosidasi, si realizza l'ulteriore idrolisi dei legami α -1,6 e α -1,4 delle destrine con liberazione di glucosio.

Abbiamo quindi testato due differenti α -amilasi termostabili su campioni liofilizzati preparati da tuberi di patata zuccherina. Questi enzimi agiscono alle alte temperature e sono denominati: Termamyl (α -amylase solution, from *Bacillus Licheniformis*- 829 U/ml SIGMA®) e Ban (α -amylase solution from *Bacillus amyloliquefaciens* 829 U/ml SIGMA®).

Poiché il processo di liquefazione è strettamente legato al rapporto concentrazione di enzima- substrato, alla durata del trattamento e tipo di enzima utilizzato, abbiamo valutato le condizioni migliori per ottenere dall'amido di patata zuccherina un ottimale sciroppo. Dai dati è emerso che: Termamyl consente la simultaneità dei processi di gelatinizzazione e liquefazione in uno step unico (a 105 °C per un tempo minimo di 45 minuti), producendo idrolizzati con destrosio equivalenti (D.E.) >40 anche utilizzando quantità di enzima molto basse. La quantità di D.E. è stata determinata secondo il metodo di BAILEY, POUTANEN (1992). L'enzima Ban richiede un'iniziale gelatinizzazione a 121 °C per 20 minuti prima della successiva liquefazione a 70 °C per un tempo superiore ai 45 minuti per ottenere D.E.>40. Da questo si evince che, nelle medesime condizioni di substrato e di concentrazione enzimatica, l'uso di Termamyl consente di semplificare l'intero processo di idrolisi dell'amido (gelatinizzazione, liquefazione, saccarificazione), in due fasi di gelatinizzazione-liquefazione e saccarificazione. Tutto ciò comporta risparmio di tempo (~ 30 minuti dovuto alla necessità di gelatinizzare l'amido) ed energia e quindi una riduzione nei costi dell'intero processo d'idrolisi. Entrambi gli enzimi possono idrolizzare percentuali di farina amilacea in solvente acquoso del 30% e a parità di concentrazione enzimatica (5U/ml) con entrambi gli enzimi si ottiene un'efficiente liquefazione D.E.>40. Le destrine ottenute, sottoposte ad un trattamento di saccarificazione con amiloglicosidasi (E.C. 3.2.1.1.), sono convertite in sciroppi ad alto contenuto di glucosio adatti per la fermentazione alcolica ad opera del *S. cerevisiae*.

Sviluppi futuri di tale lavoro saranno: a) prove di liquefazione e saccarificazione di matrici di patata non liofilizzate; b) ottimizzazione ulteriore della fase di gelificazione-liquefazione riducendo la temperatura di azione del Termamyl; c) ottimizzazione del processo di saccarificazione delle destrine, utilizzando concentrazioni più basse di amiloglicosidasi e temperature di azione dell'amiloglicosidasi più elevate. Quindi, sebbene le fasi successive del processo di produzione di bioetanolo da patata zuccherina (fermentazione, distillazione, disidratazione) non siano state ancora ottimizzate, ridurre i costi e l'efficienza della fase d'idrolisi dell'amido fa sperare in un possibile utilizzo di tale coltura marginale per la produzione di bioetanolo.

LETTERATURA CITATA

- ANG D.C., AZIZ S.A., YUSOF H.M., KARIM M.A.I., ARIFF A., UCHIYAMA K., SHIOYA S., 2001 – *Partial purification and characterization of amylolytic enzymes obtained from direct fermentation of sago starch to ethanol by recombinant yeast*. Pakistan J. Biol. Sci., 3: 266-270.
- BAILEY M.J., BIELY P., POUTANEN K., 1992 – *Interlaboratory testing of methods for assay of xylanase activity*. J. Biotechnol., 23: 257-270.
- BURHAN A., NISA U., GÖKHAN C., ÖMER C., ASHABIL A., OSMAN G., 2003 – *Enzymatic properties of a novel thermostable, thermophilic, alkaline and chelator resistant amylase from an alkaliphilic Bacillus sp. isolate ANT-6*. Process Biochem., 38: 1397-1403.
- KIM S., DALE B.E., 2004 – *Global potential bioethanol production from wasted crops and crop residues*. Biomass Bioenerg., 26: 361-375.
- PRAKASHAM R.S., SUBBA RAO CH., SREENIVAS RAO R., SARMA P.N., 2007 – *Enhancement of acid amylase production by an isolated Aspergillus awamori*. J. Appl. Microbiol., 102 (1): 204-211.
- YOSHIDA M., MORIMOTO H., 1958 – *The nutritive value of sweet potato as carbohydrate source of poultry feeds*. World Poultry Sci. J., 14 (3): 246.

Attivazione delle risposte di difesa in piante di pomodoro infettate con differenti ceppi di "Cucumber Mosaic Virus"

C. PACIOLLA¹, T. MASCIA¹, S. DE LEONARDIS² e F. CILLO¹. ¹Istituto di Virologia Vegetale, CNR, Bari. ²Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale, Università di Bari "Aldo Moro".

I meccanismi coinvolti nell'interazione pianta-agente fitopatogeno, e in particolare le risposte di difesa dell'ospite e i processi coinvolti nella patogenesi e nella induzione/manifestazione dei sintomi costituiscono una delle aree di ricerca più interessanti della fitovirologia moderna. L'interazione di una pianta ospite con un patogeno, quale può essere un virus, può innescare due possibili tipologie di risposta: resistenza della pianta alla malattia, nel caso di un'interazione geneticamente incompatibile; suscettibilità e quindi insorgenza della malattia, nel caso di un'interazione geneticamente compatibile (GREENBERG, YAO, 2004). I percorsi che si sviluppano nei due tipi di interazione, incompatibile e non, si sovrappongono e seguono alcune tappe fondamentali, come la produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e l'attivazione di sistemi di detossificazione intenti a regolare i livelli di tali molecole all'interno della cellula vegetale, l'induzione di cascate di trasmissione del segnale mediate da specifiche chinasi e ormoni vegetali, l'induzione di geni coinvolti nella risposta di difesa, l'innescamento di fenomeni di morte cellulare programmata e/o risposta ipersensibile. È ampiamente riconosciuto che le ROS siano cruciali sia per lo sviluppo della pianta che per la sua difesa da aggressioni di varia natura (BOLWELL, 1999; FOYER, NOCTOR, 2005): se da un lato le piante utilizzano le ROS come messaggeri in cascate di trasduzione del segnale, che

regolano diversi processi come mitosi e tropismi, dall'altro la loro natura chimica le rende potenzialmente pericolose per le cellule vegetali. Infatti l'incremento di perossido di idrogeno (H_2O_2) e anione superossido che si osserva nelle cellule a seguito dell'interazione con un patogeno, oltre una certa soglia di concentrazione, risulta tossico. Le cellule, tuttavia, possiedono sistemi di detossificazione di natura enzimatica e non enzimatica. Nel presente lavoro sono stati studiati alcuni enzimi quali ascorbato perossidasi (APX), catalasi (CAT), perossidasi generiche (POD) e superossido dismutasi (SOD), e metaboliti quali acido ascorbico, aventi un ruolo chiave nei processi di detossificazione da H_2O_2 e anione superossido (TOMMASI *et al.*, 1998; CONKLIN, BARTH, 2004), utilizzando come modello sperimentale il pomodoro (*Solanum lycopersicum* cv UC82) e *Cucumber mosaic virus* (CMV, virus del mosaico del cetriolo). In particolare, in piante di pomodoro inoculate con il ceppo CMV-Fny (F), che mostrano sintomi di riduzione di crescita e malformazioni fogliari ma non di morte cellulare, e in piante inoculate con lo stesso ceppo in combinazione con la sua variante di RNA satellite necrogenica (FN), che incorrono in una necrosi letale, sono stati confrontati i valori relativi ad attività enzimatica e livelli di espressione di geni coinvolti nella detossificazione delle ROS, nonché di altri geni coinvolti nelle risposte di difesa ai patogeni.

I risultati ottenuti su campioni di RNA ed estratti proteici a 9 giorni dopo l'inoculazione mostrano un aumento dell'espressione genica per APX, in entrambi i campioni F ed FN, e per CAT, solo nei campioni F, rispetto al controllo (piante di pomodoro sane). Si osserva, poi, un incremento dell'attività enzimatica dei loro prodotti in entrambi i campioni rispetto al controllo. Inoltre, sia il livello di espressione dei trascritti che l'attività enzimatica risulta minore nei campioni FN rispetto ai campioni F. La misura del contenuto di acido ascorbico mostra un incremento nei campioni F ed FN, (maggiore in F) rispetto al controllo. L'incremento osservato riflette il suo ruolo di molecola antiossidante. Il dato ottenuto, oltre a indicare il coinvolgimento dell'acido ascorbico nelle risposte antiossidanti di difesa, conferma l'esistenza di una relazione di proporzionalità diretta tra la sua concentrazione e quella dell'enzima APX. I nostri dati mostrano un aumento dell'attività enzimatica delle POD, in entrambi i campioni F ed FN, interpretabile come una maggiore capacità da parte della pianta di biosintesi di lignina, una nota risposta generica di difesa delle piante all'attacco dei patogeni. Anche le SOD controllano il livello di H_2O_2 intracellulare, poiché catalizzano la conversione di anione superossido in H_2O_2 . Si osserva una sovraespressione di SOD unicamente nei campioni FN, dove l'interazione compatibile tra virus e pianta genera necrosi, fenomeno che come già visto richiede alti livelli di H_2O_2 . Tuttavia, l'andamento osservato con l'analisi dell'espressione del trascritto non è rispecchiato da un aumento dell'attività dell'enzima, lasciando ipotizzare la presenza di modifiche post-trascrizionali e/o post-traduzionali.

Questa interazione compatibile virus-pianta da noi studiata, induce nell'ospite una sovraespressione di geni legati alla resistenza, alla risposta a stress diversi e alla regolazione della trascrizione; questo trend sottolinea la presenza di una risposta attiva della pianta, con un precoce innesco di meccanismi di difesa, già nelle prime fasi iniziali dell'infezione virale.

LETTERATURA CITATA

- BOLWELL G.P., 1999 – *Role of active oxygen species and nitric oxide in plant defense responses*. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2: 287-294.
- CONKLIN P.L., BARTH C., 2004 – *Ascorbic acid, a familiar small molecule intertwined in the response of plant to ozone, pathogens, and the onset of senescence*. *Plant Cell Environ.*, 27: 959-970.
- GREENBERG J.T., YAO N., 2004 – *The role and regulation of programmed cell death in plant-pathogen interactions*. *Cell. Microbiol.*, 6 (3): 201-211.
- FOYER C.H., NOCTOR G., 2005 – *Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context*. *Plant Cell Environ.*, 28: 1056-1071.
- TOMMASI F., PACIOLLA C., ARRIGONI O., 1998 – *The ascorbate system in recalcitrant and orthodox seeds*. *Physiol. Plant.*, 105: 193-198.

Valutazione del contenuto di pectine in esocarpo e mesocarpo di agrumi

D. PACODA, C. DELLA VALLE e G. DALESSANDRO.
Di.S.Te.B.A., Università del Salento.

La produzione di succhi di frutta, in particolare di agrumi, rappresenta una delle più importanti industrie alimentari nel mondo. Al contrario di altri tipi di frutti gli agrumi hanno una porzione edibile ridotta, infatti solo il 40-55% viene recuperato come succo mentre la rimanente parte (bucce, membrane carpellari, semi) è costituita da scarti non edibili (SREENATH *et al.*, 1995). I residui della produzione di succhi di agrumi sono costituiti da piccole percentuali di acqua, zuccheri solubili, acidi organici, aminoacidi, proteine, sali minerali, olii e lipidi e in prevalenza da "fibre alimentari". Con questo termine viene indicata un'ampia varietà di polisaccaridi della parete cellulare che comprendono cellulosa, emicellulose, β -glucani, lignina e pectine (GALLAHER, SCHNEEMAN, 2001), e che sono accomunati dalla caratteristica di essere resistenti all'idrolisi da parte degli enzimi dell'intestino tenue dell'uomo. Esse vengono distinte in insolubili (cellulosa, emicellulose e lignina) e solubili in acqua a 100 °C (pectine e alcune emicellulose); queste ultime sono maggiormente fermentabili e in grado di legare acqua.

Le fibre alimentari giocano un importante ruolo sulla salute umana; infatti una dieta ricca di fibre è associata alla prevenzione e al trattamento di alcune malattie (VILLANUEVA-SUAREZ *et al.*, 2003). La frazione solubile, in particolare, sembra influenzare l'assorbimento intestinale del glucosio e i livelli di cole-

sterolo nel sangue. L'ipocolerolemia è collegata probabilmente ad un aumento dell'escrezione degli acidi biliari e del colesterolo (BOSAEUS *et al.*, 1986). Inoltre le fibre alimentari concorrono alla riduzione dell'assorbimento di macronutrienti come grassi e carboidrati con evidenti effetti sui fattori di rischio principali delle malattie coronariche, e di alcuni tipi di tumore come il carcinoma del colon (FUCHS *et al.*, 1999).

Alla luce di ciò e considerando che l'Italia meridionale occupa un posto di rilievo nella produzione mondiale di agrumi con una quota pari al 5%, in questo lavoro è stato valutato il contenuto di pectine nella buccia di limone [*Citrus x limon* (L.) Burm.f.], cedro (*Citrus medica* L.) e arancia [*Citrus x sinensis* (L.) Osbeck] di produzione locale, e lime (*Citrus x aurantifolia* L.) importato dal Brasile. In particolare è stato valutato il contenuto di pectine totali e di pectine estratte in acqua a temperatura ambiente (20 °C) presenti in esocarpo e mesocarpo.

Entrambi i tessuti vegetali sono stati liofilizzati e successivamente ridotti in piccoli aggregati cellulari utilizzando un mulino ad una granulometria di 500 µm. Gli aggregati cellulari sono stati successivamente trattati con etanolo 100% in un bagno d'acqua a 100 °C per allontanare gli olii essenziali e altre sostanze solubili in alcool. Il residuo insolubile (alcool insoluble residue, AIR) è stato precipitato a 10000 g e liofilizzato. Per l'estrazione delle pectine totali a 5 mg di AIR di ciascun campione sono stati aggiunti 2 ml di H₂SO₄ e 1 ml di acqua distillata (goccia a goccia) agitando per 35 min a temperatura ambiente; al termine dell'estrazione il volume è stato portato a 25 ml con acqua distillata.

Per valutare il contenuto di pectine solubili in H₂O a 20 °C, 80 mg di AIR sono stati risospesi in 20 ml di H₂O e lasciati in agitazione per 30 min a temperatura ambiente. I campioni sono stati centrifugati a 10000 rpm per 10 min a 4 °C. Il residuo è stato estratto nuovamente con 20 ml di acqua distillata, per 5 min; i due soprannatanti sono stati uniti e il volume è stato portato a 100 ml con acqua distillata. I polisaccaridi pectici maggiormente presenti nelle pareti cellulari di molti frutti e ortaggi sono i ramnoglatturonani di tipo I; pertanto la valutazione quantitativa è stata effettuata a 520 nm utilizzando la reazione, in rapporto stechiometrico 1:1, tra i residui di acido galatturonico e m-idrossidifenile che porta alla formazione di un composto di colore rosa (WANG *et al.*, 2008).

Dai dati ottenuti si evince che il maggior contenuto di pectine totali è presente in lime con 98,65 mg di pectine/g di peso fresco di cui il 73% nell'esocarpo, seguito da limone con 82,72 mg/g di peso fresco (72% nell'esocarpo), arancia con 70,02 mg/g di peso fresco (circa il 50% in esocarpo) e cedro con 64,37 mg/g di peso fresco (68% in esocarpo). Il minor contenuto di pectine in mesocarpo si può verosimilmente attribuire al fatto che questo tipo di tessuto è costituito da cellule con parete di natura prevalentemente cellulosica (FERNÁNDEZ-LÓPEZ *et al.*, 2004). Successivamente è stato valutato il grado di stabilità

delle pectine a temperatura ambiente (20 °C). Nei frutti le pectine sono presenti come protopectine, insolubili, che diventano solubili ad opera delle poliglatturonasi durante la maturazione o mediante trattamenti termici (60-100 °C). Nei quattro agrumi analizzati è stato possibile constatare che la quantità di pectine rilasciate in acqua a 20 °C è trascurabile infatti varia tra il 4% e il 10% in esocarpo ed è circa il 7,5% in mesocarpo.

In letteratura sono riportati numerosi studi sul contenuto di fibre alimentari in agrumi come limone, mandarino, arancia e pompelmo; i valori ottenuti in questo lavoro per limone e arancia sono leggermente superiori a quelli riportati e verosimilmente queste differenze potrebbero essere messe in relazione alle differenti cv studiate e alle differenti condizioni di coltivazione. I risultati ottenuti confermano che esocarpo e mesocarpo sia del lime che di limone, arancia e cedro possono essere considerati una importante fonte di pectine: sarebbe sufficiente includere nella dieta 60g di "buccia" di lime o 70 g di "buccia" di limone o 90 g di "buccia" di arancia o 100 g di "buccia" di cedro per assumere la quantità di pectine necessaria a soddisfare il fabbisogno giornaliero che corrisponde a 6 g/die. È ormai riconosciuto che le fibre alimentari ricavate dagli agrumi, se paragonate a una comune fonte di polisaccaridi, come per esempio i cereali, sono considerate di qualità superiore per il loro maggiore contenuto in fibre totali, la loro capacità di trattenere acqua e olii, la loro fermentabilità, il basso livello di acido fitico e un trascurabile valore calorico (LARRAURI, 1999). Inoltre hanno un maggior contenuto di fibre solubili con circa il 33% in agrumi e solo il 7% nella crusca di grano (GORINSTEIN *et al.*, 2001).

LETTERATURA CITATA

- BOSAEUS I., CARLSSON N.G., SANDBERG A.S., ANDERSON H., 1986 – *Effect of wheat bran and pectin on bile acid and cholesterol excretion in ileostomy patients*. Hum. Nutr. Clin. Nutr., 40C: 429-440.
- FERNÁNDEZ-LÓPEZ J., FERNÁNDEZ-GINÉS J.M., ALESON-CARBONELL L., SENDRA E., SAYAS-BARBERÁ E., PÉREZ-ALVAREZ J.A., 2004 – *Application of functional citrus by-products to meat products*. Food Sci. Technol., 15: 176-185.
- FUCHS C.S., GIOVANNUCCI E.L., COLDITZ G.A., HUNTER D.J., STAMPPER M.J., ROSNER B., SPEIZER F.E., WILLET W.C., 1999 – *Dietary fiber and the risk of colorectal cancer and adenoma in women*. England J. Med., 340: 169-176.
- GALLAHER D., SCHNEEMAN B.O., 2001 – *Dietary fiber*. In: B. BOWMAN, RUSSEL (Eds.), *Present knowledge in nutrition* (8th ed., 805 pp.) Washington, DC, ILSI.
- GORINSTEIN S., ZACHWIEJA Z., FOLTA M., BARTON H., PIOTROWICZ J., ZEMBER M., WEISZ M., TRAKHTENBERG S., MARTIN-BELLOSO O., 2001 – *Comparative content of dietary fiber, total phenolics, and minerals in persimmons and apples*. J. Agric. Food Chem., 49: 952-957.
- LARRAURI J.A., 1999 – *New approaches in the preparation of high dietary fibre powders from fruits by-products*. Trends Food Sci. Technol., 10: 3-8.
- SREENATH H.K., CRANDALL P.G., BAKER R.A., 1995 –

- Utilization of citrus by-products and wastes as beverage clouding agent.* J. Ferment. Bioeng., 80(2): 190-194.
- VILLANUEVA-SUAREZ M.J., REDONDO-CUENCA A., RODRIGUEZ-SEVILLA M.D., DE LA HERAS M., 2003 – *Characterization of nonstarch polysaccharides content from different edible organs of some vegetables, determined by GC and HPLC: comparative study.* J. Agric. Food Chem., 51: 5950-5955.
- WANG Y-C., CHUANG Y-C., HSU H-W, 2008 – *The flavonoid, carotenoid and pectin content in peels of Citrus cultivated in Taiwan.* Food Chem., 106: 277-284.

Studio funzionale della regione promotore di un gene per HSP a basso peso molecolare di girasole

M. DE PASCALI¹, P. RAMPINO¹, E. ASSAB¹, V. FALCO² e C. PERROTTA¹. ¹Di.S.Te.B.A., Università del Salento. ²ISPA - CNR, Unità di Lecce.

L'attivazione dei geni *heat shock* (HS) costituisce un ottimo sistema modello per lo studio della regolazione dell'espressione genica e della risposta agli stress ambientali.

Nelle piante, particolarmente numerosi sono i geni HS che codificano per proteine HS a basso peso molecolare, denominate *small heat shock protein* (*smHSP*) (SCHÖFFL *et al.*, 1998), con peso molecolare compreso tra 15 e 30 kDa (WATERS *et al.*, 1996). Tali geni, oltre che dalle alte temperature, sono indotti da altri stimoli abiotici, quali il freddo, i metalli pesanti, i raggi UV (SUN *et al.*, 2002).

L'espressione dei geni HS è regolata principalmente a livello trascrizionale (CZARNECKA *et al.*, 1992; SCHÖFFL *et al.*, 1998), e si basa sull'interazione tra fattori di trascrizione specifici, chiamati HSF o *heat shock factor*, e regioni conservate presenti sui promotori dei geni HS, chiamate HSE o *heat shock element* (PELHAM, 1982; PARKER, TOPOL, 1984; WU, 1984). Altri elementi che regolano la trascrizione dei geni HS sono le CAAT *box* e regioni ricche in AT, che si comportano come *enhancer*.

Questo lavoro ha come obiettivo lo studio della regolazione di due geni per HSP a basso peso molecolare di girasole (*HaHSP17.6a* e *HaHSP17.6b*), associati fisicamente, con orientamento invertito e separati da una regione intergenica di 3809 bp. Questi geni presentano poche differenze strutturali, ma hanno un profilo di espressione molto differente in risposta a diversi stimoli ambientali. L'analisi *in silico* della regione intergenica rivela la presenza di elementi caratteristici dei promotori HS e di elementi *cis*-agenti coinvolti nella risposta ad altri tipi di stress. Per caratterizzare a livello funzionale tali elementi e allo scopo di verificarne il ruolo svolto nella regolazione dell'espressione dei geni *HaHSP17.6a* e *HaHSP17.6b*, sono stati prodotti costrutti contenenti il gene reporter *GFP* (*Green Fluorescent Protein*), posto sotto il controllo di frammenti di diversa lunghezza ottenuti per delezioni progressive della regione oggetto di studio. In particolare, è stata analizzata

la regione di circa 1700 bp posta a monte della regione codificante il gene *HaHSP17.6b*. Sulla base della struttura della regione e della posizione dei diversi motivi individuati, sono stati disegnati *primer* specifici al fine di amplificare regioni di dimensioni diverse, corrispondenti a porzioni parziali della regione considerata. I frammenti di delezione sono stati poi inseriti nel plasmide *secGFP* opportunamente modificato; infatti è stato rimosso il promotore forte CaMV35S normalmente presente in tale vettore, e al suo posto sono stati inseriti i frammenti di delezione della regione oggetto di studio. I costrutti ricombinanti sono stati utilizzati per effettuare saggi di espressione transiente in protoplasti isolati da foglie di *Nicotiana tabacum* L. sottoposti a diversi tipi di stress: alte temperature, stress da metalli pesanti e stress salino. In particolare, una volta preparati, isolati e trasformati con i costrutti ricombinanti, i protoplasti sono stati sottoposti ai diversi trattamenti; successivamente è stato estratto l'RNA totale e questo è stato utilizzato in reazioni di RT-PCR utilizzando *primer* specifici disegnati sulla sequenza nucleotidica del gene reporter, al fine di valutarne l'espressione sotto il controllo delle diverse regioni utilizzate.

I risultati ottenuti indicano che in condizioni normali il gene per la GFP, posto sotto il controllo di tutta la regione promotore oggetto di studio (1700 bp), viene indotto con un livello di espressione paragonabile a quello del gene posto sotto il controllo del promotore forte CaMV35S. In seguito a stress da alte temperature, il gene viene indotto con un livello di espressione superiore rispetto alle condizioni normali; tuttavia, quando è posto sotto il controllo delle regioni parziali, il livello di espressione diminuisce nonostante queste regioni contengano gli elementi HSE; molto probabilmente sono stati deleti degli *enhancer* o qualche altro elemento di controllo.

In condizioni di stress da metalli pesanti, il gene viene indotto notevolmente e il livello di espressione non diminuisce significativamente, anche quando vengono deleti i due elementi MRE (*Metal Regulatory Element*), cioè gli elementi regolatori direttamente coinvolti nella risposta allo stress da metalli pesanti.

In seguito a stress salino, il gene reporter viene indotto significativamente quando è posto sotto il controllo di tutta la regione promotore di interesse che, tra i vari elementi contiene anche l'elemento DRE (*Drought Responsive Element*); al contrario il livello di espressione del gene reporter diminuisce notevolmente quando è posto sotto il controllo di regioni parziali prive dell'elemento DRE.

È in corso la preparazione di altri costrutti per analizzare tutta la regione compresa tra i due geni.

LETTERATURA CITATA

- CZARNECKA E., INGERSOLL J.C., GURLEY W.B., 1992 – *AT-rich promoter elements of soybean heat shock gene Gmhsp17.5E bind two distinct sets of nuclear proteins in vitro.* Plant Mol. Biol., 19: 985-1000.
- PARKER C.S., TOPOL J., 1984 – *A Drosophila RNA polymerase II transcription factor binds to the regulatory site*

- of an *hsp70* gene. *Cell*, 37: 273-283.
- PELHAM H.R.B., 1982 – *A regulatory upstream promoter element in the Drosophila hsp70 heat-shock gene*. *Cell*, 30: 517-528.
- SCHÖFFL F., PRAENDL R., REINDL A., 1998 – *Regulation of heat-shock response*. *Plant Physiol.*, 117: 1135-1141.
- SUN W., VAN MONTAGU M., VERBRUGGEN N., 2002 – *Small heat shock proteins and stress tolerance in plants*. *Biochim. Biophys. Acta*, 1577: 1-9.
- WATERS E.R., LEE G.J., VIERLING E., 1996 – *Evolution, structure and function of the small heat shock proteins in plants*. *J. Exp. Bot.*, 47: 325-338.
- WU C., 1984 – *Activating protein factor binds in vitro to upstream control sequences in heat shock gene chromatin*. *Nature*, 311: 81-84.

Effetti della sottoespressione di ascorbico ossidasi sulla germinazione e sulla risposta al Cd in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

G. ŞAHİN¹, D. CASCIONE² e M.C. DE TULLIO².
¹Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bolu, Türkiye.
²Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale, Università di Bari “Aldo Moro”.

La regolazione dello sviluppo radicale è un evento complesso che vede la partecipazione di una rete di segnali distinti e correlati. Stimoli ormonali hanno sicuramente un ruolo fondamentale nel determinare l'organizzazione e la crescita della radice, ma è sempre più evidente la compartecipazione di altre vie di comunicazione che conferiscono maggiore specificità al segnale e consentono di integrare diversi stimoli. Le trasformazioni dinamiche e reversibili che si verificano a carico di alcune proteine (tra cui importanti fattori di trascrizione) in funzione dell'equilibrio redox sono un importante elemento della regolazione di fondamentali processi nello sviluppo. Tra i molteplici protagonisti della regolazione redox dello sviluppo radicale (DE TULLIO *et al.*, 2010), un ruolo di particolare rilievo sembrerebbe essere svolto dall'enzima ascorbico ossidasi (AAO, E.C. 1.10.3.3) la cui presenza in apici radicali, ed in particolare nel centro quiescente, è stata ampiamente verificata (DE TULLIO *et al.*, 2004). Allo scopo di valutare la partecipazione di AAO nello sviluppo radicale sono state incrociate tre linee di mutanti di *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (ecotipo *Columbia*) ciascuna delle quali presenta l'inserzione di un elemento trasponibile che inattiva uno dei tre geni codificanti per AAO (At4g39830; At5g21100; At5g21105). Dall'incrocio si sono ottenuti due doppi mutanti. Nel corso della germinazione in terreno solido Murashige e Skoog si è evidenziata nei primi giorni una crescita più rapida nella radice dei doppi mutanti rispetto al tipo selvatico, mentre successivamente si osserva una inversione, con un maggiore accrescimento del tipo selvatico rispetto ai due doppi mutanti. Il maggiore accrescimento iniziale dei doppi mutanti rispetto al selvatico appare più evidente se i semi vengono fatti germinare in terreno con dimezzata concentrazione di

nutrienti inorganici (MS/2) e minore saccarosio (0,5% invece del 2%). Questo dato indica che una ridotta presenza di AAO potrebbe essere vantaggiosa nella prima fase della crescita radicale, ma in una fase successiva, particolarmente in condizioni di carenza dei nutrienti, si verificherebbe una condizione di inibizione della crescita stessa. Allo scopo di verificare la sensibilità delle radici con ridotta AAO all'inquinamento da metalli, le piante del tipo selvatico e i doppi mutanti sono stati incubati con due concentrazioni di CdCl₂ (25 e 50 µM) per 48 ore. I dati ottenuti mostrano che la crescita radicale è inibita dal cadmio in maniera proporzionale alla concentrazione, ma l'inibizione appare meno marcata nei mutanti rispetto al tipo selvatico, soprattutto alla concentrazione intermedia. Pertanto, la ridotta espressione di AAO sembrerebbe favorire la crescita in condizioni di stress. Questo dato è in accordo con quanto già riportato riguardo a una diminuzione dell'attività di AAO in piante di *Hordeum vulgare* L. trattate con Cd (TAMAS *et al.*, 2006).

LETTERATURA CITATA

- DE TULLIO M.C., LISO R., ARRIGONI O., 2004 – *Ascorbic acid oxidase: an enzyme in search of a role*. *Biol. Plant.*, 48: 161-166.
- DE TULLIO M.C., JIANG K., FELDMAN L.J., 2010 – *Redox regulation of root apical meristem organization: connecting root morphology with its environment*. *Plant Physiol. Biochem.*, in stampa, doi 10.1016/j.plaphy.2009.11.005.
- TAMAS L., BOCOVA B., HUTTOVA J., MISTIK I., OLLE M., 2006 – *Cadmium-induced inhibition of apoplastic ascorbate oxidase in barley roots*. *Plant Growth Reg.*, 8: 41-49.

Cosa pensano di Darwin e dell'evoluzione gli studenti di scuola media?

F. SATALINO¹, M.C. DE TULLIO². ¹Scuola Secondaria di Primo Grado “Zammarchi”, Manerbio (Brescia); ²Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale, Università di Bari “Aldo Moro”.

Nella società del XXI secolo la formazione culturale di un individuo non può prescindere da una corretta informazione scientifica anche in biologia vegetale, in modo da poter acquisire gli elementi necessari per operare scelte consapevoli su temi che interessano molti aspetti della nostra vita quotidiana, tra cui la tutela della biodiversità e l'uso di nuovi metodi colturali per la produzione di risorse alimentari. Da ciò deriva anche la necessità di fornire a studenti di ogni ordine e grado conoscenze aggiornate sulla teoria dell'evoluzione, massimo tema unificante in biologia (DOBZHANSKI, 1973), ed in particolare sugli aspetti relativi all'evoluzione dei vegetali (DE TULLIO, 2005). Allo scopo di verificare quali fossero le conoscenze di base e le opinioni di un campione di studenti delle classi seconde e terze di una scuola secondaria di primo grado, è stato predisposto un questionario.

nario anonimo non valutativo con tredici quesiti a risposta multipla. Una breve nota introduttiva al questionario chiedeva agli studenti destinatari dell'intervento di indicare il proprio punto di vista e le proprie conoscenze con totale sincerità, senza cercare di fornire a tutti i costi le risposte esatte. Sulla base dei questionari fin qui analizzati (n=63), il 6,5% degli intervistati ritiene di avere buone conoscenze di base sull'evoluzione, il 64% dichiara di essere abbastanza informato, il 23% di esserlo poco, mentre il 6,5% ritiene di non esserlo affatto. Solo l'1,7% degli intervistati dichiara di considerare indispensabile discutere di evoluzione in classe, mentre i più (80%) lo ritengono utile; non manca tuttavia chi ritiene inutile (13,3%) o addirittura dannoso (5%) parlarne. L'intersezione delle risposte mostra che il 50% dei poco/per niente informati ritiene inutile o dannoso parlare di evoluzione in classe. Tutti i "molto informati" e l'82% degli "abbastanza informati" sanno correttamente collocare Darwin nel periodo storico intorno al 1850, mentre il 18% di questi ultimi e il 55% dei "poco informati" ritiene che sia vissuto in altro periodo precedente o successivo. È purtroppo prevalente (55,75%) l'idea che il famoso (ed erroneo) detto "l'uomo discende dalla scimmia" sintetizzi efficacemente la teoria dell'evoluzione, mentre solo il 29,5% considera più adeguata la frase "l'uomo e le attuali scimmie hanno antenati comuni" ed il restante 14,75% sceglie altre improbabili definizioni. Il 67% degli intervistati fornisce risposte corrette sui concetti di selezione naturale e di anello mancante. È interessante notare che il 55% ritiene che le ipotesi di Darwin siano ancora valide nelle linee generali, ma vadano rielaborate in base alle nuove conoscenze, laddove il 32% le ritiene pienamente confermate dalla genetica moderna e il 13% le considera totalmente smentite. Nel complesso i risultati ottenuti dimostrano un certo interesse da parte della maggior parte degli studenti, ma appare imprescindibile la realizzazione di interventi ed attività che possano fornire agli alunni informazioni scientificamente corrette. Sono attualmente in corso ulteriori raccolte di dati per un opportuno confronto tra le risposte fornite dal campione esaminato e quelle di alunni provenienti da altre realtà geografiche e culturali.

LETTERATURA CITATA

- DE TULLIO M., 2005 – *Darwin, l'evoluzione dei vegetali e i loro adattamenti all'ambiente*. In: *Darwin Day 2004-2005*: 77-91. Servizio Editoriale Universitario, Università di Bari.
- DOBZHANSKY T., 1973 – *Nothing in biology makes sense except in the light of evolution*. *Am. Biol. Teach.*, 35: 125-129.

Presenza di *Argania spinosa* (L.) Skeels in Puglia

E. CAMPESE, F. TOMMASI, D. SISTO e L. MASTROPASQUA. Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale, Università di Bari "Aldo Moro".

Argania spinosa (L.) Skeels è una pianta spontanea

originaria del sud-ovest del Marocco molto apprezzata per l'olio che si ricava dai suoi frutti secchi. Nel Terziario ricopriva vaste superfici del Nord d'Africa e dell'Europa Meridionale; attualmente, a causa di un'agricoltura intensiva e dell'uso massiccio del suo legno, il suo habitat è limitato alla sola pianura del Souss, dove gli ultimi esemplari caratterizzano e valorizzano gli 800.000 ha di questa riserva naturale, dichiarata nel 1998 dall' U.N.E.S.C.O. patrimonio mondiale dell'umanità. Ciò che ha reso questa specie ricercata e studiata è il suo frutto, una drupa con un esocarpo di color giallastro, un mesocarpo ricco di lattice e un endocarpo legnoso che racchiude fino a 3 semi. Il seme è ricco di saponine, polifenoli e acidi grassi insaturi (CHARROUF *et al.*, 2007), sostanze dalle provate proprietà terapeutiche (DRISSI *et al.*, 2004; AMZAL *et al.*, 2008). In Italia gli unici dati riguardanti la presenza di piante di *A. spinosa* fanno riferimento a esemplari coltivati rispettivamente negli Orti Botanici di Cagliari e Palermo; in quest'ultimo sono state effettuate anche prove di acclimatazione (RAIMONDO *et al.*, 2005). Scopo di questo lavoro è segnalare l'esistenza di varie piante di questa specie in Puglia e analizzarne gli aspetti biologici e fenologici.

Nel Campus dell'Università degli Studi di Bari esistono cinque esemplari, di cui due di circa 3 m di altezza in piena terra e tre, in vaso, presso le serre del Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale.

Si segnalano inoltre altri due esemplari in provincia di Bari, presso l'Azienda Didattico Sperimentale della Facoltà di Agraria e nelle campagne di Locorotondo. I due esemplari più grandi presenti nel Campus originano da semi importati direttamente dal Marocco nel 1990. Dai semi prodotti da queste piante derivano tutti gli altri. Le piante di argania presentano, nel loro habitat naturale, una rilevante variabilità intraspecifica che si manifesta sia nella morfologia dei frutti che nella diversa produttività (ALOUANI, BANI-AAMEUR, 2004). Varia è anche la fenologia legata alla fioritura e fruttificazione dei diversi individui, pertanto si è iniziato a caratterizzare gli esemplari del Campus di Bari. La prima pianta di argania messa a dimora nel Campus ha fiorito e fruttificato in tempi brevi, dopo appena nove anni dalla semina e mostra un habitus vegetativo particolarmente rigoglioso. Produce fiori a partire dal mese di settembre (BANI-AAMEUR, 2002) e frutti maturi a partire da marzo. Una prima analisi è stata effettuata sulla polpa dei frutti scegliendo quattro stadi di maturazione e determinandone il contenuto in zuccheri solubili ed amido. I dati preliminari mostrano un aumento di fruttosio e saccarosio e una diminuzione del contenuto in amido e glucosio nel corso della maturazione. Ulteriori indagini, sia morfologiche che fisiologiche e fenologiche, saranno effettuate su tutti gli esemplari presenti nel nostro territorio.

LETTERATURA CITATA

- ALOUANI M., BANI-AAMEUR F., 2004 – *Argan (Argania spinosa (L.) Skeels seed germination under nursery conditions: Effect of cold storage, gibberellic acid and mother-tree genotype*. *Ann. For. Sci.*, 61: 191-194.
- AMZAL H., ALAOUI K., TOK S., ERRACHIDI A., CHAROF

- R., CHERRAH Y., BENJOUAD A., 2008 – *Protective effect of saponins from Argania spinosa against free radical-induced oxidative haemolysis*. *Fitoterapia*, 79: 337-344.
- BANI-AAMEUR F., 2002 – *Argania spinosa (L.) Skeels flowering phenology*. *Genet. Resour. Crop Ev.*, 49: 11-19.
- CHARROUF Z., HILALI M., JAUREGUI O., SOUFIAOUI M., GUILLAUME D., 2007 – *Separation and characterization of phenolic compounds in argan fruit pulp using liquid chromatography–negative electrospray ionization tandem mass spectroscopy*. *Food Chem.*, 100: 1398-1401.
- DRISSI A., GIRONA J., CHERKI M., GODÀ G., DEROUICHE A., EL MESSAL M., SAILE R., KETTANI A., R. SOLÀ, MASANA L., ADLOUNI A., 2004 – *Evidence of hypolipemiant and antioxidant properties of argan oil derived from the argan tree (Argania spinosa)*. *Clin. Nutr.*, 23: 1159-1166.
- RAIMONDO F.M., SPADARO V., SPECIALE M., 2005 – *Acclimatazione di Argania spinosa (Sapotaceae) nell'Orto botanico di Palermo*. *Quad. Bot. Amb. Appl.*, 16 (2005): 83-86.

La “Vecchia Salina” di Torre Colimena (Manduria, Taranto - Puglia): analisi floristica

F. CARRUGGIO^{1, 3}, F.S. D'AMICO^{2, 3}, F. MANTINO³ e L. FORTE^{2, 3}. ¹Dipartimento D.A.C.P.A., Università di Catania. ²Dipartimento di Scienze delle Produzioni Vegetali, Università di Bari. ³Museo Orto Botanico, Università di Bari “Aldo Moro”.

Il presente contributo riguarda lo studio floristico di un biotopo di elevato interesse naturalistico, localizzato sul litorale jonico salentino al confine tra i territori delle province di Taranto e Lecce. Si tratta dell'area gravitante attorno alla “Vecchia Salina” di Torre Colimena, una delle poche zone umide costiere superstiti del litorale tarantino orientale, disposte un tempo in maniera pressoché continua lungo tutto questo tratto di costa. Dal 2002 il sito, in precedenza individuato quale SIC (Torre Colimena - IT9130001), è incluso, per il suo valore ambientale, nella Riserva Naturale Regionale Orientata “Riserve del Litorale Tarantino Orientale”. L'area rappresenta un esempio di archeologia industriale, avendo in passato ospitato in una depressione retrodunale di origine naturale un impianto per la produzione di sale marino, rinomato in tempi storici e pienamente attivo almeno tra i secoli XII e XVIII (LAMUSTA, NARDONE, 2000). Il lungo periodo seguito all'interruzione dell'utilizzo produttivo, nonostante l'intensa fruizione turistica iniziata in maniera massiva negli anni '70, ha consentito un buon recupero del grado di naturalità dei luoghi, anche grazie ad alcuni recenti interventi di natura conservazionistica.

Il sito presenta diversi elementi naturalistici di pregio: un lembo di macchia termofila a *Calicotome infesta* (C. Presl) Guss. subsp. *infesta* e *Myrtus communis* L. subsp. *communis*, un cordone dunale con macchia a *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *macrocarpa* (Sibth. & Sm.) Neill., una cintura di vegetazione alo-igrofila, disposta attorno all'invaso della salina, ed ancora un tratto di costa rocciosa di natura calcarenitica con vegetazione casmofitica di rupi marittime e con ele-

menti di gariga camefitica pulvinare. Il fitoclima dell'area è mediterraneo di tipo oceanico a piogge stagionali, ricadente nell'orizzonte inferiore della fascia mesomediterranea e nell'orizzonte superiore dell'ombrotipo secco.

Le erborizzazioni sono state condotte in tutti i periodi stagionali e la determinazione tassonomica è stata effettuata utilizzando le chiavi analitiche di differenti Flore (FIORI, 1923-1929; TUTIN *et al.*, 1964-1980; PIGNATTI, 1982; TUTIN *et al.*, 1993; CASTROVIEJO *et al.*, 1986-2009) o, in alcuni casi, di lavori monografici tra cui SMALL, JOMPHE (1989), GRÜNANGER (2001), CUCCUINI (2002) e BRULLO *et al.* (2003). Gli *exsiccata* sono stati depositati presso l'*Herbarium Horti Botanici Barensis* (BI).

Per la nomenclatura delle specie si è fatto riferimento principalmente a CONTI *et al.* (2005) e successivi aggiornamenti (CONTI *et al.*, 2007) mentre per le forme biologiche ed i corotipi principalmente a PIGNATTI (1982). L'analisi è stata completata con la realizzazione dello spettro ecologico e di quelli biologico e corologico sia generali che relativi ai diversi ambienti.

Ad oggi sono state censite 327 entità sub-generiche, suddivise in 210 generi e 58 famiglie, delle quali 134 messe in evidenza da LAMUSTA, NARDONE (2000).

Tra le entità di particolare rilievo si ricordano endemiti quali *Limonium japygicum* (H. Groves) Pignatti, esclusiva dei due versanti della costa salentina (CURTI, LORENZONI, 1969), e *Ophrys fuciflora* (F.W. Schmidt) Moench subsp. *apulica* O. & E. Danesch, endemica di poche regioni dell'Italia centro-meridionale. Una menzione particolare meritano *Cytinus ruber* Fourr. ex Fritsch, *Sarcocornia perennis* (Mill.) A.J. Scott e *Althenia filiformis* Petit subsp. *filiformis*, entità incluse per la Puglia nella Red List regionale, le prime due con lo *status* di “vulnerabile” e la terza con quello di “gravemente minacciata” (CONTI *et al.*, 1997). In particolare, la presenza di *A. filiformis* subsp. *filiformis* è nota in Puglia solo per il sito della “Salina Vecchia” (BECCARISI, MEDAGLI, 2003; BECCARISI *et al.*, 2004) e per alcuni stagni poco a sud di Manfredonia, in provincia di Foggia (ONNIS, 1969). In considerazione dell'elevato grado di criticità conservazionistica descritto da ONNIS (1969) per questa seconda stazione, localizzata all'interno di un'area ad intenso utilizzo agricolo, il sito di Torre Colimena riveste, allo stato attuale delle conoscenze, un'importanza cruciale per la conservazione di questa entità a livello regionale.

LETTERATURA CITATA

- BECCARISI L., MEDAGLI P., 2003 – *Segnalazioni Floristiche Italiane: 1080*. *Inform. Bot. Ital.*, 35 (1): 107-108.
- BECCARISI L., MEDAGLI P., MARCHIORI S., 2004 – *Una nuova stazione in Puglia di Althenia filiformis Petit*. *Thalassia Salentina*, 27: 63-67.
- BRULLO S., GIUSSO DEL GALDO G., MINISSALE P., SPAMPINATO G., 2003 – *Considerazioni tassonomiche sui generi Catapodium Link, Desmazeria Dumort. e Castellia Tineo (Poaceae) in Italia*. *Inform. Bot. Ital.*, 35 (1): 158-170.
- CASTROVIEJO S. *et al.* (Eds.), 1986-2009 – *Flora iberica. Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Vols. 1-8, 10, 13-15, 18, 21. Real Jardín Botánico.

- C.S.I.C., Madrid.
- CONTI F., ABBATE G., ALESSANDRINI A., BLASI C. (Eds.), 2005 – *An Annotated Checklist of the Italian Vascular Flora*. Palombi Editori, Roma. 420 pp.
- CONTI F., ALESSANDRINI A., BACCHETTA G., BANFI E., BARBERIS G., BARTOLUCCI F., BERNARDO L., BONACQUISTI S., BOUVET D., BOVIO M., BRUSA G., DEL GUACCHIO E., FOGGI B., FRATTINI S., GALASSO G., GALLO L., GANGALE G., GOTTSCHLICH G., GRÜNANGER P., GUBELLINI L., IRTI G., LUCARINI D., MARCHETTI D., MORALDO B., PERUZZI L., POLDINI L., PROSSER F., RAFFAELLI M., SANTANGELO A., SCASELLATI E., SCORTEGAGNA S., SELVI F., SOLDANO A., TINTI D., UBALDI D., UZUNOV D., VIVALDI M., 2007 – *Integrazioni alla checklist della flora vascolare italiana*. *Natura Vicentina*, 10 (2006): 5-74.
- CONTI F., MANZI A., PEDROTTI F., 1997 – *Liste rosse regionali delle piante d'Italia*. WWF, Società Botanica Italiana, Università di Camerino.
- CUCCUINI P., 2002 – *Il genere Parapholis C.E. Hubbard (Poaceae) in Italia. Note tassonomiche e palinologiche*. *Webbia*, 57 (1): 7-64.
- CURTI L., LORENZONI G.G., – 1969. *Precisazioni sull'areale di Limonium japygicum (Groves) Pign. in Puglia*. *Inform. Bot. Ital.*, 1: 106-108.
- FIORI A., 1923-29 – *Nuova Flora Analitica d'Italia*. Voll. 1-2. Firenze.
- GRÜNANGER P., 2001 – *Orchidacee d'Italia*. *Quad. Bot. Ambientale Appl.*, 11 (2000): 3-80.
- LAMUSTA S., NARDONE D., 2000 – *Tra sole e sale*. Ed. Amici della "A. De Leo", Brindisi. 332 pp.
- ONNIS A., 1969 – *Althenia filiformis Petit in Puglia: nuovi dati sulla distribuzione ed ecologia*. *Giorn. Bot. Ital.*, 103 (1): 47-57.
- PIGNATTI S., 1982 – *Flora d'Italia*. Voll. 1-3, Edagricole, Bologna.
- SMALL E., JOMPHE M., 1989 – *A synopsis of the genus Medicago (Leguminosae)*. *Can. J. Bot.*, 67: 3260-3294.
- TUTIN T.G., BURGESS N.A., CHATER A.O., EDMONDSON J.R., HEYWOOD V.H., MOORE D.M., VALENTINE D.H., WALTERS S.M., WEBB D.A. (Eds.), 1993 – *Flora Europaea*. Vol. 1 (2^a ed.). Cambridge University Press.
- TUTIN T.G., HEYWOOD V.H., BURGESS N.A., MOORE D.M., VALENTINE D.H., WALTERS S.M., WEBB D.A. (Eds.), 1964-80 – *Flora Europaea*. Voll. 1-V. Cambridge University Press.

Flora di alcuni nuclei ad *Acer opalus* Mill. subsp. *obtusatum* (Waldstein & Kit. ex Willd.) Gams di Vico del Gargano (FG - Puglia)

E.V. PERRINO, V. CAVALLARO e L. CHIANDETTI. Museo Orto Botanico, Università di Bari "Aldo Moro".

Acer opalus Mill. subsp. *obtusatum* (Waldstein & Kit. ex Willd.) Gams è specie ad areale mediterraneo centro-orientale presente in Algeria, Corsica, Italia, ex Jugoslavia, Grecia, Albania (GREUTER *et al.*, 1984) Crimea, Turchia, Caucaso ed Iran. In Italia si rinviene prevalentemente nelle regioni centro-meridionali

(CONTI *et al.*, 2005) dove occupa di preferenza la zona del castagno, ma si estende anche nella faggeta andando a caratterizzare peculiari cenosi vegetali riferibili all'associazione *Pulmonario apenninae-Aceretum neapolitani* (BIONDI *et al.*, 2008).

Nel presente studio sono stati condotti (periodo 2005-2006) rilievi floristici all'interno di due nuclei ad *A. opalus* subsp. *obtusatum* in località Gravastella e Monte Iacovizzo (Vico del Gargano - Foggia), che ricadono all'interno della ZPS Bosco Umbra (IT 9110018) e del Parco Nazionale del Gargano.

I 103 taxa censiti, i cui *exsiccata* sono conservati presso l'*Herbarium Horti Botanici Barensis* (BI), hanno evidenziato come le *Leguminosae* (18,4%) siano la famiglia più rappresentata, seguita dalle *Graminaceae* e *Rosaceae* con lo stesso numero di specie (9,7%), mentre le altre famiglie si attestano sempre su valori percentuali inferiori al 6%.

Di un certo interesse conservazionistico sono risultate, oltre ad *A. opalus* subsp. *obtusatum*, anche *Carex depauperata* Good., *Crocus vernus* (L.) Hill. subsp. *vernus*, *Cytisus spinescens* (Presl) Rothm., *Lathyrus jordanii* (Ten.) Pass. et Gib., *Paeonia mascula* (L.) Mill. subsp. *mascula*, *Veronica officinalis* L. e *Vicia cassubica* L.

C. depauperata è specie Mediterraneo-subatlantica che in Italia è presente nelle regioni centro-meridionali all'interno di boschi termofili caducifogli dove è molto rara (PIGNATTI, 1982). È citata nelle Liste Rosse Regionali (CONTI *et al.*, 1997) con lo status di vulnerabile (VU).

C. vernus subsp. *vernus* è stata segnalata per la prima volta in Puglia da WAGENSOMMER, DI PIETRO (2006) in seguito a campionamento del 26 marzo 2005 presso San Marco in Lamis in ambiente di pascolo. La stazione di Gravastella (Vico del Gargano) rappresenta, pertanto, la seconda stazione pugliese, posta a 600 m s.m., localizzata all'interno di boschi ad *A. opalus* subsp. *obtusatum*; il campione è stato raccolto l'11 marzo 2005 ed è conservato presso l'*Herbarium Horti Botanici Barensis* (BI).

C. spinescens è specie anfiadriatica, presente in Italia centro-meridionale e nella penisola Dalmata, che abitualmente si localizza nei pascoli aridi, così come già osservato nelle praterie a *Stipa austroitalica* Martinovský subsp. *austroitalica* del Gargano (FANELLI *et al.*, 2001; PERRINO, 2005/2006).

L. jordanii è endemica dell'Italia centro-meridionale riportata in Puglia solo per il Bosco di Ischitella (FORTE, 1995). Il ritrovamento all'interno dei consorzi ad *A. opalus* subsp. *obtusatum*, rappresenta la seconda stazione pugliese della specie.

P. mascula subsp. *mascula*, è specie Europeo-Caucasica di notevole interesse in quanto riportata nelle Liste Rosse Regionali (CONTI *et al.*, 1997) con lo status di vulnerabile (VU). Il suo areale spazia dalla Francia, Italia, ex Jugoslavia, Albania, Bulgaria, Grecia, Creta, Scarpanto, Isole Egee orientali, Turchia, Cipro, Israele, Giordania, Libano, Siria (GREUTER *et al.*, 1984-1989) fino al nord dell'Iraq e all'Iran (STEARNS, DAVIS, 1984).

V. officinalis è comune solo sulle Alpi, mentre è rara

nel resto del territorio italiano. Anche *V. cassubica* è rara in Italia.

La presenza di specie di interesse conservazionistico testimonia l'elevato valore dei nuclei indagati e suggerisce di estendere le ricerche ad altre aree del Gargano, in parte già individuate da BIONDI *et al.* (2008), al fine di avere un quadro più completo della flora di queste cenosi boschive.

LETTERATURA CITATA

- BIONDI E., CASAVECCHIA S., BISCOTTI N., 2008 – *Forest biodiversity of the Gargano Peninsula and a critical revision of the syntaxonomy of the mesophilous woods of southern Italy*. Fitosociologia, 45 (2): 93-127.
- CONTI F., ABBATE G., ALESSANDRINI G., BLASI C., 2005 – *An Annotated Checklist of the Italian Vascular Flora*. Palombi Editori, Roma.
- CONTI F., MANZI A., PEDROTTI F., 1997 – *Liste Rosse Regionali delle Piante d'Italia*. World Wildlife Fund (WWF) Italia. Società Botanica Italiana (SBI). Centro Interdipartimentale Audiovisivi e Stampa, Univ. Camerino. 139 pp.
- FANELLI G., LUCCHESI F., PAURA B., 2001 – *Le praterie a Stipa austroitalica di due settori adriatici meridionali (basso Molise e Gargano)*. Fitosociologia, 38 (2): 25-36.
- FORTE L., 1995 – *Autoecologia di Quercus cerris L. e Fagus sylvatica L. e sinecologia delle relative cenosi nel bosco di Ischitella (Fg) sul promontorio del Gargano (Puglia)*. Dott. ricerca Biologia ed Ecologia vegetale in Ambiente Mediterraneo, VII ciclo. Univ. Catania.
- GREUTER W., BURDET H.M., LONG G., 1984-1989 – *Med Checklist* (Voll. 1 e 4).
- PERRINO E.V., 2005/2006 – *Vegetazione del Gargano (fasce costiera e collinare)*. Dott. ricerca Sci. Ambientali I (Fitogeografia dei Territori Mediterranei), XVIII ciclo. Dip. Botanica, Univ. Catania.
- PIGNATTI S., 1982 – *Flora d'Italia*. 1-3. Edagricole, Bologna.
- STEARNS F.C., DAVIS P.H., 1984 – *Peonies of Greece*. The Goulandris Natural History Museum. Kifissia.
- WAGENSOMMER R.P., DI PIETRO R., 2006 – *Notulae alla checklist della flora vascolare italiana: 1244*. Inform. Bot. Ital., 38 (1): 205.

Emergenze orchidologiche nell'area "Palude di Cassano" (Melendugno, Lecce)

A. TURCO, P. MEDAGLI e S. MARCHIORI. Di.S.Te.B.A., Università del Salento.

La "Palude di Cassano" è una zona umida che si estende per circa 32 ha lungo il versante adriatico della penisola Salentina, nel territorio appartenente al comune di Melendugno (Lecce). Al suo interno ospita un'ampia depressione di natura carsica che, anche se parzialmente bonificata verso la metà del '900 in seguito alla realizzazione di un canale scolmatore, è caratterizzata da un notevole ristagno idrico durante tutto l'arco dell'anno. L'area, seppur di ridotte dimensioni, è caratterizzata da aspetti floristico-vegetazionali di notevole interesse: in particolar modo nella zona umida (16 ha) sono presenti fitoce-

nosi ascrivibili all'habitat prioritario "Paludi calcaree con *Cladium mariscus* e specie del *Caricion davallianae*" (codice Natura 2000: 7210); mentre nelle aree più alte che circondano la zona umida si sviluppano cenosi ascrivibili agli habitat prioritari "Stagni temporanei mediterranei" (codice Natura 2000: 3170), "Percorsi substepnici di graminacee e piante annue dei *Thero-Brachypodietea*" (codice Natura 2000: 6220), ed infine all'habitat comunitario "Phrygane a *Sarcopoterium spinosum*" (codice Natura 2000: 5420), al quale si è deciso di dare un significato più ampio, in accordo con PAVONE *et al.* (2007), ed includere così le garighe ad *Erica forskalii* Vitm.

La flora della "Palude di Cassano" è costituita da 390 *taxa* subgenerici appartenenti a 233 generi compresi in 66 famiglie, prevalentemente terofite stenomediterranee.

La discreta estensione delle pseudosteppe (8 ha), caratterizzate da popolazioni dominate da *Brachypodium retusum* (Pers.) P. Beauv. e *Hyparrhenia hirta* (L.) Stapf subsp. *hirta*, ha favorito la persistenza di numerose *Orchidaceae* e l'affermarsi di numerose popolazioni di natura ibridogena.

Infatti, il popolamento orchidologico è caratterizzato da 22 *taxa* subgenerici che comprendono anche ibridi interspecifici.

Le morfospesie di maggior interesse fitogeografico sono: *Ophrys holosericea* Burm.f. subsp. *apulica* (O. & E. Danesch) Buttler, *Ophrys passionis* Sennen ex Devillers-Tersch & Devillers 1994 var. *garganica* E. Nelson, *Ophrys tardans* O. & E. Danesch, *Serapias orientalis* (Greuter) H. Baumann & Künkele 1988 subsp. *apulica* H. Baumann & Künkele 1989 e *Serapias politisii* Renz.

Gli ibridi rinvenuti sono: *Ophrys x celani* (O. *passionis* var. *garganica* x O. *incubacea*) O. & E. Danesch, *Ophrys x francinae* (O. *holosericea* subsp. *apulica* x O. *incubacea*) P. Bianco, P. Medagli, S. D'Emérico e L. Ruggiero, *Ophrys x lyrata* (O. *bertolonii* x O. *incubacea*) H. Fleischm., *Serapias x intermedia* (S. *lingua* x S. *vomeracea*) Forest. ex Schultz ed un nuovo ibrido in fase di descrizione i cui parentali sono *Serapias bergonii* e *Serapias politisii*.

Per la determinazione dei campioni appartenenti alla famiglia delle *Orchidaceae* si è fatto riferimento a AA.VV. (2009), per gli ibridi appartenenti al genere *Ophrys* a BAUMANN, KÜNKELE (1986) e per *Ophrys x francinae* si è fatto riferimento a BIANCO *et al.* (1988); per gli ibridi appartenenti al genere *Serapias* si è fatto riferimento a BAUMANN, KÜNKELE (1989).

LETTERATURA CITATA

- AA.VV., 2009 – *Orchidee d'Italia. Guida alle orchidee spontanee*. Il Castello Ed., Cornaredo (Mi). 303 pp.
- BAUMANN H., KÜNKELE S., 1986 – *Die Gattung Ophrys L. - eine taxonomische Übersicht* Mitt. Bl. Arbeitskr. Heim. Orch. Baden-Württ., 18 (3): 306-688.
- , 1989 – *Die gattung Serapias L., eine taxonomische Übersicht*. Mitt. Bl. Arbeitskr. Heim. Orch. Baden-Württ., 21 (3): 701-946.
- BIANCO P., MEDAGLI P., D'EMERICO S., RUGGIERO L., 1988 – *Ophrys x francinae* Bianco, Medagli, D'Emérico et Ruggiero, *hybr. Nat. Nov. della Puglia*.

Webbia, 42 (2): 167-170.

PAVONE P., SPAMPINATO G., TOMASELLI V., MINISALE P., COSTA R., SCIANDRELLO S., RONISVALLE F., 2007 – *Cartografia degli habitat della Direttiva CEE 92/43 nei biotopi della provincia di Siracusa*. Fitosociologia, 44 (2) (suppl. 1): 183-193.

Gli Stagni di Masseria Bellimento (Nardò, LE): un biotopo di eccezionale interesse botanico

P. ERNANDES, L. BECCARISI e V. ZUCCARELLO.
Laboratorio di Botanica Sistemica ed Ecologia Vegetale, Di.S.Te.B.A, Università del Salento.

Gli Stagni Temporanei Mediterranei sono un habitat eterogeneo a cui sono riconducibili differenti sistemi ambientali che hanno caratteristiche geomorfologiche e biologiche proprie. Si tratta di habitat caratterizzati da un'alternanza stagionale di fasi di inondazione e di siccità che non sono in contatto diretto con altri corpi idrici, per cui il loro budget idrologico dipende esclusivamente dalle precipitazioni e dal ruscellamento diffuso (*run-off*) connesso (GRILLAS *et al.*, 2004). Ai sensi della Direttiva Habitat 92/43/CEE, gli Stagni Temporanei Mediterranei sono definiti "habitat prioritari" (cod. 3170) e rientrano nella categoria delle acque dolci lentiche stagionali (EUROPEAN COMMISSION, 2007). Da un punto di vista fitosociologico, le comunità interessate afferiscono alla classe *Isoëto-Nanojuncetea* a distribuzione prevalentemente mediterranea.

Presso la Masseria Bellimento, lungo la litoranea ionica SP286, tra S. Isidoro a Nord e Torre Inserraglio a Sud, nel Parco Naturale Regionale di Porto Selvaggio e Palude del Capitano, sono presenti delle depressioni doliniformi che ospitano comunità tipiche dell'*Isoëto-Nanojuncetea*.

Il sito ricade nel territorio del Comune di Nardò (Lecce) ed è caratterizzato da suoli a tessitura variabile, prevalentemente argillosi e poco profondi (con spessore di pochi centimetri) che poggiano su un basamento calcareo. Gli stagni afferiscono alla categoria delle doline, depressioni di origine carsica in cui si raccolgono le acque meteoriche. Essi vengono normalmente utilizzati dall'uomo per scopi agricoli o fungono da riserva idrica per il bestiame portato al pascolo. Ospitano al loro interno comunità igrofile perenni, caratterizzate dalla presenza di *Eleocharis* L. sp. e *Cynodon dactylon* (L.) Pers. ed annuali dell'*Isoëto-Nanojuncetea*, distribuite eterogeneamente lungo il gradiente idrologico-topografico dello stagno.

I campionamenti sono stati effettuati dal 2007 al 2009, replicati in tre stagioni: inverno, primavera ed autunno. Per la definizione della copertura vegetale sono stati utilizzati dei *plots* aventi le dimensioni di 30x30 cm posizionati a distanza di 50 cm l'uno dall'altro e disposti lungo un transetto secondo il gradiente idrologico-topografico (DETHIER *et al.*, 1997; CRAMER, WILLING, 2005). Sono stati registrati: le

specie presenti, i fattori di disturbo insistenti ed il contesto vegetazionale in cui il sito si trova. Le specie sono state classificate secondo TUTIN *et al.* (1964-1980) e PIGNATTI (1982).

Per ogni specie sono state raccolte informazioni circa l'inserimento in Liste Rosse Nazionali ed Internazionali, categorie IUCN o stato di conservazione particolare (CONTI *et al.*, 1997, 2005; SCOPPOLA, SPAMPINATO, 2005).

Sono state censite 39 specie in totale, di cui 2, *Pilularia minuta* Durieu e *Isoëtes velata* A. Braun subsp. *velata*, rientrano nella Lista Rossa Nazionale e 4, *Eryngium barrelieri* Boiss., *Juncus pygmaeus* Richard, *Ranunculus peltatus* Schrank subsp. *baudotii* (Godr.) C. D. K. Cook e *Lythrum thymifolia* L., nella Lista Rossa Regionale. Tre specie sono segnalate per la prima volta in Puglia e sono: *Eleocharis multicaulis* (Sm.) Sm, *Lythrum borystenicum* (Schrank) e *Isoëtes velata* A. Braun subsp. *velata*.

Le comunità individuate all'interno dello stagno sono:

- comunità erbacea ad *Eleocharis multicaulis* (Sm.) Sm che colonizza la parte centrale;
 - comunità prativa ad *Aster squamatus* (Sprengel) Hieron localizzata nelle zone marginali dello stagno;
 - comunità a *Callitriche brutia* Petagna che si rinviene in zone profonde;
 - comunità a *Polycarpon tetraphyllum* L. costituita prevalentemente da specie annuali; di particolare pregio floristico è senz'altro il rinvenimento di *Lythrum borystenicum* (Schrank), terofita scaposa submediterranea distribuita nelle regioni occidentali e per la prima volta rinvenuta in Puglia; la stazione è localizzata al limite orientale del suo areale di distribuzione;
 - comunità a *C. dactylon* localizzata lungo il perimetro leggermente rialzato;
 - comunità pioniera effimera costituita da alghe verdi filamentose, *Characeae*;
 - comunità igrofila a *Ranunculus baudotii* Godron localizzata nelle zone ad elevata disponibilità idrica;
 - comunità a *Polygonum aviculare* L. localizzata nelle aree marginali dello stagno, evidente con le prime piogge nella stagione autunnale;
 - comunità a *Coronopus squamatus* (Forsskal): che si rinviene in prossimità del margine dello stagno, su piccole superfici melmose in cui si formano dei micro avvallamenti e solchi, creati dal pascolo del bestiame, all'interno dei quali si rinvengono micropteridofite molto rare come *Pilularia minuta* Durieu e *Isoëtes velata* A. Braun subsp. *velata*. Quest'ultima è stata rinvenuta per la prima volta in Puglia nell'ambito di questa ricerca e rappresenta una pianta di grande valore conservazionistico.
 - comunità a *Gaudinia fragilis* (L.) Beauv. a sviluppo tardo primaverile estivo caratterizzata da graminacee annuali tipiche di Stagni Temporanei Mediterranei.
- I principali fattori di interferenza riscontrati per il sito oggetto di studio sono il pascolamento e la presenza di rifiuti, che non sembrerebbero arrecare particolari danni alla vegetazione o alle singole specie. Il pascolo moderato infatti, favorisce la crescita delle

specie annuali caratteristiche degli Stagni Temporanei Mediterranei limitando la crescita e la diffusione delle specie di grossa taglia. Una gestione attiva si rende pertanto necessaria al fine di un corretto mantenimento di questi delicati ambienti.

LETTERATURA CITATA

- CONTI F., ABBATE G., ALESSANDRINI A., BLASI C. (Eds.), 2005 – *An annotated checklist of the Italian vascular flora*. Palombi Editori, Roma.
- CONTI F., MANZI A., PEDROTTI F., 1997 – *Liste rosse regionali delle piante d'Italia*. WWF, Società Botanica Italiana, Università di Camerino.
- CRAMER M. J., WILLING M. R., 2005 – *Habitat heterogeneity, species diversity and null models*. *Oikos*, 108: 209-218.
- DETHIER, M.N., GRAHAM, E.S., COHEN, S., TEAN, L.M., 1993 – *Visual versus random point percent cover estimations: objective is not always better*. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, 110: 9-18.
- EUROPEAN COMMISSION DG ENVIRONMENT, 2007 – *Manual of European Union Habitats, EUR27*.
- GRILLAS P., GAUTHIER P., YAVERCOVSKY N., PERENNOU C., 2004 – *Mediterranean Temporary pools*. Statione Biologique de la Tour du Valat. Le Sambuc, Arles (France).
- PIGNATTI S., 1982 – *Flora d'Italia*. Edagricole, Bologna.
- SCOPPOLA A., SPAMPINATO G. (Eds.), 2005 – *Atlante delle specie a rischio di estinzione (CD-ROM)*. Allegato a: SCOPPOLA A., BLASI C. (Eds.), *Stato delle conoscenze sulla flora vascolare d'Italia*. Palombi Editori, Roma.
- TUTIN T.G., HEYWOOD V.H., BURGESS N.A., MOORE D. M., VALENTINE D.H., WALTERS S.M., WEBB D.A. (Eds.) 1964-1980 – *Flora Europea 1-5*. Cambridge University Press.