

SOCIETÀ BOTANICA ITALIANA

SEZIONE REGIONALE PUGLIESE

Riunione Scientifica Annuale

Lecce  
27 Gennaio 2012



## Studio preliminare su due alofite perenni in alcune aree umide costiere pugliesi

B. MARGIOTTA, G. COLAPRICO, M. URBANO, F. TOMMASI e V. TOMASELLI

**ABSTRACT** - *Preliminary study on two perennial halophytes in some Apulian coastal wetlands* - Results on plant communities from natural populations present in three protected areas of Apulia Region were reported, along with preliminary studies on three populations of *Agropyron elongatum* (Host) P. Beauv. and *Agropyron junceum* (L.) P. Beauv., halophilic species resistant to abiotic stress, present in the same areas. The biochemical characterization of storage proteins from kernels of the same species was carried out by monodimensional electrophoretic analyses. Data obtained correlating plant associations to specific protein components could be useful a) to develop plans for the conservation and preservation of habitats and ecosystems and b) to identify classes of genes improving qualitative and quantitative properties of cultivated wheats.

*Key words:* *Agropyron*, aree umide costiere, gliadine, glutenine

### INTRODUZIONE

Gli ambienti costieri sono caratterizzati dalla presenza di specie alofile o alofite, interessanti dal punto di vista agronomico poiché resistenti a condizioni ambientali sfavorevoli. Tra i generi appartenenti alla famiglia delle *Poaceae*, *Agropyron* comprende circa 150 specie (LÖVE, 1884), fra cui molte alofite. Le specie del genere *Agropyron* vengono spesso indicate con uno o più sinonimi in funzione della differente classificazione tassonomica adottata da più autori (WANG, 1992). Tali specie sono principalmente impiegate come foraggio e recentemente anche come fonte terziaria di geni utili al miglioramento genetico (DEWEY, 1984; MUJEEB-KAZI, WANG, 1995).

*Agropyron elongatum* (Host) P. Beauv. ed *Agropyron junceum* (L.) P. Beauv., indicate anche come *Elymus elongatus* (Host) Runemark ssp. *elongatus* ed *Elymus farctus* (Viv.) Runemark ex Melderis ssp. *farctus* (Fig. 1), sono due specie erbacee, cespitose, allopoliploidi (da diploidi a pentaploidi), altamente tolleranti stress abiotici (siccità, freddo, salinità), principalmente diffuse in Medio Oriente, Asia centrale ed Europa. In prossimità delle coste sabbiose, *A. junceum* partecipa alla costruzione del cordone dunale mentre *A. elongatum* prolifera nei suoli salini delle aree umide retrodunali.

In quanto erbacee alofile e xerofile, entrambe si adattano a forti stress ambientali e sono spesso impiegate, insieme ad altre specie con medesime caratteristiche, per il restauro delle aree dunali e delle zone umide.

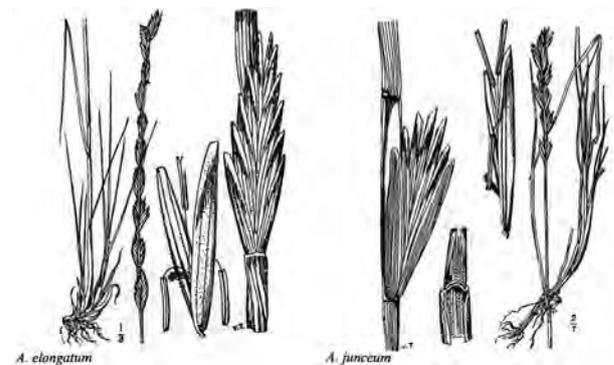


Fig. 1

*Agropyron elongatum* e *Agropyron junceum* (da PIGNATTI, 1982).

*Agropyron elongatum* and *Agropyron junceum* (PIGNATTI, 1982).

La diversità genetica, sia delle popolazioni che delle specie, è stata spesso considerata valido strumento per studiare processi evolutivi ed ecologici di habitat ed ecosistemi sottoposti a forti sollecitazioni biotiche ed abiotiche (HUGHES *et al*, 2008).

E' per tale motivo che le indagini sulle comunità vegetali relative a popolazioni naturali presenti in tre aree protette pugliesi sono state effettuate parallelamente a quelle su tre popolazioni di *A. elongatum* ed

*A. junceum* raccolte nelle medesime aree.

#### MATERIALI E METODI

Le aree studiate sono le seguenti: Parco Naturale Regionale “Dune costiere da Torre Canne a Torre San Leonardo” (TC), Parco Naturale Regionale “Saline di Punta della Contessa” (SC), Riserva Naturale Regionale Orientata “Palude La Vela” (PV) (Fig. 2).



Fig. 2

Morfologia coste pugliesi e aree di studio: a) coste sedimentarie, b) coste rocciose (MASTRONUZZI, SANSÒ, 2002, modificato).

Morphology of the Apulian coast and areas of study: a) sedimentary coasts, b) rocky coasts (MASTRONUZZI, SANSÒ, 2002, modified).

Le comunità vegetali sono state analizzate ed interpretate usando il metodo fitosociologico classico di BRAUN-BLANQUET (1979). Le specie risultate dubbie o non note durante il lavoro in campo, sono state raccolte ed in seguito determinate in laboratorio seguendo la chiave dicotomica di PIGNATTI (1982) e la nomenclatura aggiornata secondo CONTI *et al.* (2005). Per alcuni generi sono state utilizzate chiavi specifiche. Per la nomenclatura sintassonomica sono stati seguiti differenti autori, a seconda delle classi considerate. La caratterizzazione biochimica delle proteine di riserva estratte dalle cariossidi di *A. elongatum* ed *A. junceum* è stata effettuata mediante analisi elettroforetica monodimensionale (A-PAGE, SDS-PAGE) (LAEMMLI, 1970; TKACHUK, METLISH, 1980) ed i profili proteici elaborati mediante sistema computerizzato e successivo controllo visivo.

#### RISULTATI E DISCUSSIONE

Lo studio delle singole classi di componenti proteiche ha consentito di effettuare una preliminare valutazione della diversità genetica delle popolazioni raccolte. E' stato così possibile associare particolari profili proteici e quindi specifici genotipi, rilevati con maggiore e minore frequenza, ai dati raccolti per le comunità vegetali.

*A. elongatum* è presente con la massima frequenza nell'area SC nell'associazione *Limonio narbonensis-Artemisietum coerulescentis*. Lo studio delle componenti proteiche evidenzia un grado di variabilità consistente rispetto all'area PV dove la specie è stata rilevata nell'associazione *Halimion portulacoidis-Suaedetum verae*. Nell'area TC l'associazione da cui provengono i genotipi identificati è *Puccinellio-Sarcocornietum alpini*. Il numero dei genotipi e le percentuali di rappresentatività denotano un impoverimento della variabilità genetica rispetto ai siti precedentemente citati.

Per *A. junceum*, che nell'area SC e nella associazione *Cypero capitati-Agropyretum juncei* presenta la sua massima frequenza, sono stati identificati un numero elevato di genotipi indice evidente di elevata variabilità. Per la medesima specie individuata con la massima frequenza nell'area TC nell'associazione *Medicagini marinae-Ammophiletum australis* (la tipica fascia ad *Agropyron* qui risulta quasi del tutto erosa), la variabilità osservata è abbastanza elevata anche se due genotipi in particolare sono in percentuale più rappresentati all'interno della popolazione raccolta.

L'identificazione di genotipi ottenuta mediante la definizione dei corrispondenti profili proteici (gliadnici e gluteninici) e le loro percentuali di rappresentatività, enfatizzano il valore della diversità genetica all'interno di popolazioni naturali potenzialmente soggette a cambiamenti ambientali determinati da attività antropiche o eventi climatici. I dati preliminari ottenuti correlando determinate associazioni vegetali a specifiche componenti proteiche potrebbero essere impiegati in piani per la conservazione e la salvaguardia di habitat ed ecosistemi. Tali dati inoltre consentirebbero l'individuazione di classi di geni utili per il miglioramento quali-quantitativo dei frumenti coltivati.

#### LETTERATURA CITATA

- BRAUN-BLANQUET J., 1979 – *Fitosociologia. Bases para el estudio de las comunidades vegetales*. H. Blume, Barcelona.
- CONTI F., ABBATE G., ALESSANDRINI A., BLASI C., 2005 – *An annotated checklist of the Italian vascular flora*. Palombi Ed., Roma.
- DEWEY D.R., 1984 – *The genomic system of classification as a guide to intergeneric hybridization in the perennial Triticeae*. In: GUSTAFSON J.P. (Ed.), *Gene manipulation in plant improvement*: 209-279. Plenum, New York, USA.
- HUGHES A.R., INOUE B.D., JOHNSON M.T.J., UNDERWOOD N., VELLEND M., 2008 – *Ecological consequences of genetic diversity*. *Ecol. Letters*, 11: 609-623.
- LAEMMLI U.K., 1970 – *Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4*. *Nature*, 227: 680-685.
- LÖVE A., 1984 – *Conspectus of the Triticeae*. *Feddes Rep.*, 95: 425-521.
- MASTRONUZZI S., SANSÒ P., 2002 – *Holocene coastal dune development and environment changes in Apulia (southern Italy)*. *Sedimentary geol.*, 150: 139-152.
- MUJEEB-KAZI A., WANG R.R.C., 1995 – *Perennial and*

*annual wheat Hettel GP (eds) Utilizing wild grass biodiversity in wheat improvement: 15 years of wide cross research at CIMMYT.* CIMMYT Res. Rep. No. 2: 5-13. CIMMYT, Mexico, DF.

PIGNATTI S., 1982 – *Flora d'Italia*. Vol. 1, 2, 3 Edagricole.

TKACHUK R., METLISH V.J., 1980 – *Wheat cultivar identification by high-voltage gel electrophoresis*. Ann. Technol. Agric., 29: 207.

WANG R.R.C., 1992 – *Genome relationships in the perennial Triticeae based on diploid hybrids and beyond*. Hereditas, 116: 133-136.

RIASSUNTO - Studi preliminari sulle comunità vegetali

relative a popolazioni naturali presenti in tre aree protette pugliesi sono stati effettuati parallelamente alle indagini su tre popolazioni di *Agropyron elongatum* (Host) P. Beauv. ed *Agropyron junceum* (L.) P. Beauv., specie alofile resistenti a stress abiotici, raccolte nelle medesime aree. E' stata realizzata la caratterizzazione biochimica delle proteine di riserva estratte dalle cariossidi di tali specie, mediante analisi elettroforetica monodimensionale. I dati preliminari ottenuti correlando determinate associazioni vegetali a specifiche componenti proteiche potrebbero essere impiegati in piani per la conservazione e la salvaguardia di habitat ed ecosistemi e per l'individuazione di classi di geni utili per il miglioramento quali-quantitativo dei frumenti coltivati.

#### AUTORI

*Benedetta Margiotta (autore di riferimento, benedetta.margiotta@igv.cnr.it), Giuseppe Colaprico, Marcella Urbano, Valeria Tomaselli, CNR Istituto di Genetica Vegetale, Via Amendola 165/A, 70126 Bari  
Franca Tommasi, Dipartimento di Biologia, Università di Bari "Aldo Moro", Via Orabona 4, 70126 Bari*

## Aspetti microevolutivi nel genere *Ophrys*

A. TURCO, P. MEDAGLI, A. ALBANO e S. D'EMERICO

**ABSTRACT** - *Microevolution in Ophrys genus* - Mediterranean orchids of subtribe *Orchidinae* show an high species diversity and display a range of fascinating pollination strategies. In this context it can be found a great number of cases where the orchid-pollinator relationships, such as in most of the food deceptive strategies, are not species-specific (SCHIELSTL, 2005). Instead, as in the case of the Mediterranean *Ophrys* L. genus, a sexual deceptive group, a compilation of pollinator information for European orchid by VAN DER CINGEL (1995) suggest a close correlation between orchid and its pollinator. In the latter, in fact, has been shown that, the orchid flower mimics, by scent (recognized as the most important attractant) and visual cues, the female partner of particular pollinators (KULLEMBERG, 1961; SCHIELSTL, 2005), promoting the so-called pseudocopulation. These features, unlike the food deception (COZZOLINO *et al.*, 2004; COZZOLINO, SCOPECE, 2008), accounts for prezygotic isolation (PAULUS, GACK, 1990) and post-mating barriers are often lacking (EHRENDORFER, 1980). In fact, a mistake derived from the inability to pollinator's discrimination in the Biological Active Compound of different (related) species, in addition to the lack of post-mating barriers, has important consequences for speciation in sexually deceptive orchids. The hybrids derived from these events can produce B.A.C. novelties and thus can attract new pollinator species, promoting speciation processes. Here we describe the result of this process as two new *taxa* named *Ophrys peucetiae* Lozito, D'Emérico, Medagli & Turco and *O. pseudomelena* Turco, D'Emérico & Medagli that were analysed both from a morphological than a karyological point of view. *O. peucetiae* share morphological features of *O. apulica* (O. Danesch & E. Danesch) O. Danesch & E. Danesch and of *O. parvimaculata* (O. Danesch & E. Danesch) H. F. Paulus & Gack, with rare morphotype wich show the weak presence of *O. incubacea* Bianca in the genic flow; from a karyological point of view the new *taxa* share the main features of *Ophrys* L. section such as a long linear satellite on the first pair. On the other hand *O. pseudomelena* is characterized by a low morphological variability mainly related to the low variability of the parental species. *O. pseudomelena* has a wide distribution along the whole apulian region, where it forms often very localized population, so the new *taxon* is of oundubted polytopyc origin; from a karyological point of view it has the mainly karyomorphological features of *Pseudophrys* Godf. section such as a secondary constriction on the short arm of the first pair.

*Key words*: orchid new *taxa*, *O. peucetiae*, *O. pseudomelena*, sympatric speciation

### INTRODUZIONE

La famiglia delle *Orchidaceae* è sicuramente quella che mostra, nell'ambito delle Angiosperme, la maggiore ricchezza specifica con circa 26.000 specie ed una media di 100/200 nuove specie scoperte ogni anno (World Orchid Checklist, Royal Botanic Gardens Kew, Uk). A giustificare l'elevata diversità specifica concorrono una serie di strategie riproduttive volte ad attrarre gli impollinatori, la maggioranza delle quali non è specie-specifica, come ad esempio nelle "food deceptive strategies" (SCHIELSTL, 2005). Pochi sono gli esempi in cui sussiste una relazione specie-specifica tra insetto impollinatore e pianta (VAN DER CINGEL, 1995) come avviene, nell'area Euro-Mediterranea, per il genere *Ophrys* L. (DELFORGE, 2005) ed in Sud Africa per il genere *Disa* Bergius (STEINER *et al.*, 1994). Nel genere *Ophrys* L., gruppo caratterizzato da circa

260 entità (DELFORGE, 2005), è stato ampiamente dimostrato come la pianta imiti, attraverso segnali visivi, tattili ed olfattivi, il partner femminile di uno specifico impollinatore (KULLEMBERG, 1961; SCHIELSTL *et al.*, 1997, 1999, 2003) in un fenomeno definito come Mimetismo Batesiano (SCHIELSTL, 2005). Tuttavia studi più recenti hanno evidenziato come i segnali olfattivi siano lo stimolo chiave nell'interazione insetto-orchidea, soprattutto nell'attrazione a grandi distanze, attraverso i "Biological Active Compounds" sostanze simili ai feromoni prodotti dalle femmine dell'impollinatore (SCHIELSTL *et al.*, 1999, 2003; AYASSE *et al.*, 2003), che promuovono e stimolano il fenomeno della pseudocopulazione. In VERECKEN, SCHIELSTL (2008) viene riportato come gli impollinatori preferiscano i mimi "imperfetti", cioè piante in cui esiste una variazione quantitativa, ma

non qualitativa, della miscela di composti che caratterizza il feromone prodotto, aumentando le probabilità di essere visitate e, di conseguenza, la fitness.

Esperimenti su fiori non impollinati (VERECKEN *et al.*, 2010) mettono in luce come sia incostante l'attività copulativa dell'insetto, che inizia sempre nella posizione attesa (cefalica o addominale), ma cambia continuamente posizione, favorendo l'uptake di pollinodi in posizioni diverse e favorendo l'ibridazione anche tra entità di gruppi differenti. Inoltre, nel summenzionato esperimento, l'ibrido derivato dall'incrocio *O. lupercalis* J. Devillers-Terschuren & P. Devillers x *O. arachnitiiformis* Grenier & Philippe produce un quantitativo maggiore di BAC e soprattutto due "nuovi" composti. In questo caso il "nuovo" feromone prodotto non stimola la pseudo-copulazione con gli impollinatori dei parentali, bensì con un nuovo impollinatore: *Andrena vaga*.

In questo contesto il comportamento incostante durante la copulazione e l'elevata omologia tra i BAC sono due fattori che portano ad errori ed ibridazione; questi, in aggiunta alle deboli barriere post-zigotiche presenti (soprattutto se si tratta di gruppi filogeneticamente vicini) (PAULUS, GACK, 1990; SCOPECE *et al.*, 2007; COZZOLINO, SCOPECE, 2008; SCHIESTL, COZZOLINO, 2008), associate alla capacità di produrre "novità" sia morfologiche che "olfattive", promuovono il fenomeno noto come speciazione (simpatrica) per ibridazione.

In questa nota si illustrano gli effetti osservati di questo fenomeno attraverso la descrizione, sia morfologica che cariologica, di due nuovi *taxa* denominati: *Ophrys peucetiae* Lozito, D'Emérico, Medagli & Turco sp. nov. ed *Ophrys pseudomelena* Turco, Medagli & D'Emérico sp. nov. (TURCO *et al.*, 2012).

#### MATERIALI E METODI

L'attività di ricerca si è avvalsa di una serie di rilievi in campo finalizzati a valutare distribuzione, densità e stato d'integrità delle popolazioni riferibili ai nuovi *taxa*.

Sono stati inoltre costruiti i pezzi floreali, utili per individuare le differenze nella morfologia labellare ed infine sono stati depositati i relativi *holotypi* presso l'*Herbarium lupiense* (LEC).

Le chiavi analitiche utilizzate per identificare e descrivere le nuove entità sono AA.VV. (2009) e DELFORGE (2005); la nomenclatura segue, a seconda dei *taxa* considerati, AA.VV. (2009) e DELFORGE (2005).

Per le analisi cariologiche, gli ovari immaturi sono stati pretrattati con colchicina 0,3% per 2h e quindi fissati per 5 min. con 5:1:1:1 (v/v) (alcol etilico assoluto/ cloroformio/ acido acetico glaciale/ formaldeide; successivamente sono stati idrolizzati per 20 min. con HCl 5.5N e colorati con reattivo di Feulgen. La nomenclatura utilizzata per descrivere il cariotipo segue LEVAN *et al.* (1964).

#### RISULTATI E DISCUSSIONE

*Ophrys peucetiae* è un'entità di chiara origine ibrido-

gena formatasi per fenomeni introgressivi che hanno coinvolto principalmente *O. parvimaclulata* (O. Danesch & E. Danesch) H. F. Paulus & Gack ed *Ophrys apulica* (O. Danesch & E. Danesch) O. Danesch & E. Danesch, ma risulta talvolta evidente anche la compartecipazione di *O. incubacea* Bianca. Come già detto, gli esemplari mostrano elevata variabilità fenotipica che non si riduce alla sola presenza di intermedi morfologici tra *O. apulica* ed *O. parvimaclulata*, ma che sicuramente dimostra come il fenomeno di introgressione sia ancora in atto ed in via di stabilizzazione. Nella popolazione si osservano, infatti, rari esemplari di *O. parvimaclulata* mentre non si nota la specie *O. apulica*, completamente "riassorbita" (con tutta probabilità) dai processi di introgressione.

La popolazione più consistente della nuova entità, costituita da circa duecento esemplari, è stata rinvenuta nel territorio comunale di Ruvo di Puglia (Ba), in un ecotone situato tra una zona antropizzata e un rimboscimento a prevalenza di conifere.

*O. peucetiae* sembrerebbe abbastanza diffusa in Puglia e Basilicata, in quanto spesso erroneamente associata alla variabilità di *O. parvimaclulata*, dalla quale però si differenzia nettamente per l'elevata complessità della macula e la presenza di prominenti gibbosità; pertanto sono da riferirsi a uno dei numerosi morfotipi di *O. peucetiae* molte segnalazioni attribuite alla specie *O. parvimaclulata*.

Le orchidacee rilevate nella zona sono: *Anacamptis morio* (L.) R.M. Bateman, Pridgeon & M.W. Chase, *Anacamptis papilionacea* (L.) R.M. Bateman, Pridgeon & M.W. Chase, *Ophrys incubacea* Bianca, *Ophrys parvimaclulata* (O. Danesch & E. Danesch) Paulus & Gack, *Ophrys passionis* Sennen var. *garganica* (E. Nelson ex O. Danesch & E. Danesch) P. Delforge, *Ophrys bombyliflora* Link, *Ophrys sicula* Tineo, *Serapias parviflora* Parl.

La fioritura avviene tra la seconda metà di aprile e la prima metà di maggio.

Da un punto di vista cariologico *Ophrys peucetiae* mostra caratteristiche tipiche del gruppo *Ophrys* L., quali la presenza di un evidente satellite lineare lungo il braccio corto della prima coppia (D'EMERICO *et al.*, 2005).

I morfotipi appartenenti a *O. pseudomelena* mostrano invece scarsa variabilità fenotipica, in relazione soprattutto alle caratteristiche dei due presunti parentali: *O. sicula* Tineo e probabilmente *O. lupercalis* Devillers – Tersch. & Devillers.

*O. pseudomelena* mostra le caratteristiche tipiche del gruppo *lutea* s.l. (DELFORGE, 2005) come ad esempio la forma orbicolare del labello, il rapporto lunghezza/larghezza = 0,83-0,95 e l'angolo che sottende l'asse longitudinale ed il bordo del lobo laterale di circa 65°.

Si differisce, inoltre, da *O. melena* (Renz) H.F. Paulus & Gack e da *O. praemelena* Hertel, & Presser (HERTEL, PRESSER, 2010) per dimensione dei fiori, numero e principalmente fenologia, in quanto il periodo di fioritura è limitato alla seconda metà di marzo e la prima settimana di aprile.

Il nuovo *taxon* presenta una distribuzione ampia lungo tutta la regione pugliese, ma risulta essere spesso caratterizzato da piccole popolazioni molto localizzate, quindi appare di chiara origine politopica.

*O. pseudomelena* è stata segnalata presso: Mattinata (Fg), Gravina di Mottola (Ta), Palude di Cassano presso Melendugno (Le), Punta Pizzo (Le) e S. Cataldo (Le). La stazione più importante in termini di densità è quella presente a S. Cataldo, nella Riserva Naturale dello Stato "Le Cesine".

L'analisi cariológica di *Ophrys pseudomelena*, infine, mostra caratteristiche cariomorfologiche tipiche del gruppo *Pseudophrys* Godfery, quali la costrizione secondaria lungo il braccio corto della prima coppia, ed una maggiore simmetria del cariotipo rispetto alle specie del gruppo *Ophrys* L. (D'EMERICO *et al.*, 2005).

In conclusione possiamo affermare che i processi di ibridazione ed introgressione hanno avuto e possono tuttora avere un forte impatto nella storia evolutiva del genere *Ophrys*. Inoltre, le zone di ibridazione, per il suddetto genere, possono rivestire un ruolo di fondamentale importanza ai fini conservazionistici, in quanto non devono essere intese come un pericolo per la perdita di biodiversità, ma talvolta si dimostrano essere importanti perché favoriscono processi di ricombinazione genica e speciazione.

#### LETTERATURA CITATA

- AA.VV., 2009 – *Orchidee d'Italia. Guida alle orchidee spontanee*. Il Castello Ed., Cornaredo (Mi), 303 pp.
- AYASSE M., SCHIESTL F.P., PAULUS H.F., IBARRA F., FRANCKE W., 2003 – *Pollinator attraction in a sexually deceptive orchid by means of unconventional chemicals*. Proc. R. Soc. Lond. B., 270: 517-522.
- COZZOLINO S., D'EMERICO S., WIDMER A., 2004 – *Evidence for reproductive isolate selection in Mediterranean orchids: karyotype differences compensate for the lack of pollinator specificity*. Proc. R. Soc. B., 271: 259-262.
- COZZOLINO S., SCOPECE G., 2008 – *Specificity in pollination and consequences for postmating reproductive isolation in deceptive Mediterranean orchids*. Phil. Trans. R. Soc. B., 263: 3037-3046.
- DELFORGE P., 2005 – *Guide des Orchidées d'Europe, d'Afrique du Nord et du Proche-Orient*, ed. 3. Delachaux et Niestlé, Lausanne 640 pp.
- D'EMERICO S., PIGNONE D., BARTOLO G., PULVIRENTI S., TERRASI C., STUTO S., SCRUGLI A., 2005 – *Karyomorphology, heterochromatin patterns and evolution in the genus Ophrys (Orchidaceae)*. Bot. J. Linn. Soc., 148: 87-99.
- EHRENDORFER F., 1980 – *Hybridisierung, polyploidie und evolution bei europaischmediterranean orchideen*. Jahresh. Naturwiss. Vereins Wuppertal, 33: 15-34.
- HERTEL S., PRESSER H., 2010 – *Ophrys praemelena S. Hertel & H. Presser*. Ber. Arbeitskreis. Heimische Orchid., 27(1): 169.
- KULLEMBERG B., 1961 – *Studies in Ophrys pollination*. Almquist & Wiksells Boktryckeri AB, Uppsala.
- LEVAN A., FREDGA K., SANDEMBERG A.A., 1964 – *Nomenclature for centromeric position on chromosomes*. Hereditas, 52: 201-220.
- PAULUS H.F., GACK C., 1990 – *Pollinators as prepollinating isolation factors: evolution and speciation in Ophrys*. (Orchidaceae). Isr. J. Bot., 39: 43-79.
- SCHIESTL F.P., 2005 – *On the success of a swindle: pollination by deception in orchids*. Naturwissenschaften, 92: 255-264.
- SCHIESTL F.P., AYASSE M., PAULUS H.F., ERDMANN D., FRANCKE W., 1997 – *Variation of floral scent emission and post pollination changes in individual flowers of Ophrys sphegodes subsp. sphegodes*. J. chem. Ecol., 23(12): 2881-2895.
- SCHIESTL F.P., AYASSE M., PAULUS H.F., LÖFSTEDT C., HANSSON B.S., IBARRA F., FRANCKE W., 1999 – *Orchid pollination by sexual swindle*. Nature, 399: 421-422.
- SCHIESTL F.P., COZZOLINO S., 2008 – *Evolution of sexual mimicry in the Orchidinae: the role of preadaptations in the attraction of male bees as pollinators*. BMC Evol. Biol., 8: 27.
- SCHIESTL F.P., PEAKALL R., MANT J., IBARRA F., SCHULZ C., FRANCKE S., FRANCKE W., 2003 – *The chemistry of sexual deception in an orchid-wasp pollination system*. Science, 302: 437-438.
- SCOPECE G., MUSACCHIO A., WIDMER A., COZZOLINO S., 2007 – *Patterns of reproductive isolation in mediterranean orchids*. Evolution, 61: 2623-2642.
- STEINER K.E., WHITEHEAD V.B., JOHNSON S.D., 1994 – *Floral and pollinator divergence in two sexually deceptive South African Orchids*. Am. J. Bot., 81: 185-194.
- TURCO A., D'EMERICO S., LOZITO L., MEDAGLI P., 2012 – *Ophrys peucetiae e Ophrys pseudomelena, due nuovi taxa per la Puglia*. GIROS notizie, 50: 4-11.
- VAN DER CINGEL N.A., 1995 – *An atlas of orchid pollination - European orchids*. Rotterdam, The Netherlands: Balkema.
- VERECKEN N.J., COZZOLINO S., SCHIESTL F.P., 2010 – *Hybrid floral scent drives pollinator shift in sexually deceptive orchids*. BMC Evol. Biol., 10: 103.
- VERECKEN N.J., SCHIESTL F.P., 2008 – *The evolution of imperfect floral mimicry*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 15: 7484-7488.

RIASSUNTO - L'elevata diversità specifica presente all'interno della famiglia delle *Orchidaceae* riflette indubbiamente la complessità delle strategie riproduttive (generalizzate e specifiche) che si sono evolute al suo interno (SCHIESTL, 2005). Nella *sexual deception*, strategia adottata dal genere *Ophrys* L., viene attuato un mimetismo Batesiano (SCHIESTL, 2005), in cui vengono prodotte delle sostanze, tra le quali i *biological active compounds*, che essendo simili ai feromoni sessuali prodotti dalle femmine dell'insetto impollinatore (SCHIESTL *et al.*, 1999, 2003; AYASSE *et al.*, 2003), lo attraggono, ne stimolano la pseudocopulazione e permettono l'impollinazione. La specificità indotta da questo complesso meccanismo di riproduzione ha condotto le specie appartenenti al genere *Ophrys* ad evolvere esclusivamente barriere riproduttive pre-zigotiche (PAULUS, GACK, 1990), mantenendo, all'interno dei singoli gruppi, un'elevata omologia citogenetica (COZZOLINO *et al.*, 2004). I fenomeni di ibridazione, molto frequenti all'interno di questo genere, hanno quindi un ruolo importante nella «produzione» di «novità evolutive» (SCHIESTL, 2005; COZZOLINO, SCOPECE, 2008), sia morfologiche, ma principalmente olfattive (VERECKEN *et al.*, 2010), favorendo processi di speciazione. In questa nota vengono descritti i risultati di questo fenomeno attraverso l'analisi sia morfologica che cariológica di due nuovi *taxa* recentemente descritti in TURCO *et al.* (2012). *O. peucetiae* si è originata principalmente da fenomeni introgressivi tra *O. apulica* ed *O. parvimaclulata*; solo

alcuni morfotipi evidenziano la partecipazione di *O. incubacea* nel flusso genico. Da un punto di vista morfologico la nuova entità mostra ancora elevata variabilità, che non si traduce nella presenza di soli intermedi, ma che è sinonimo di fenomeni tuttora in atto ed in fase di stabilizzazione. Le analisi citologiche mostrano caratteristiche tipiche della sezione *Ophrys* L. (D'EMERICO *et al.*, 2005). La popolazione più consistente, che è stata rinvenuta in

territorio appartenente al comune di Ruvo di Puglia (Ba), è costituita da circa duecento esemplari. *O. pseudomelena* mostra invece scarsa variabilità fenotipica, correlata a quella dei supposti parentali, mentre presenta una distribuzione più ampia lungo tutta la regione pugliese. Anche *O. pseudomelena* mostra caratteristiche citologiche affini a quelle della sezione *Pseudophrys* Godf., come riportato in D'EMERICO *et al.* (2005).

#### AUTORI

*Alessio Turco, Piero Medagli, Antonella Albano, Laboratorio di Botanica sistematica ed Ecologia vegetale, Di.S.Te.B.A. Università del Salento, Campus Ecotekne, 73100 Lecce*  
*Saverio D'Emérico, Dipartimento di Biologia, Università di Bari Aldo Moro, Via Orabona 4, 70126 Bari*

## Il genere *Liagora* in Puglia: nuove segnalazioni per la flora algologica italiana

A. BOTTALICO, C. RUSSO e C. PERRONE

**ABSTRACT** - *The genus Liagora in Apulia: new records for the Italian macroalgal flora* - The morpho-anatomic examination of vegetative and reproductive specimens of the genus *Liagora* collected along the Apulian coasts has led to the identification of three distinct species: *L. viscida*, *L. distenta* and *L. ceranoides*. The finding of *L. distenta* extends to the eastern Italian coasts the distribution range of this species. *L. ceranoides* represents a new record to the Italian macroalgal flora.

*Key words*: Ionian Sea, *Liagora ceranoides*, *Liagora distenta*

### INTRODUZIONE

Il genere *Liagora* J.V. LAMOUROUX (*Rhodophyta*, *Nemaliales*) annovera attualmente circa 60 specie, con distribuzione prevalentemente tropicale e subtropicale. Per le coste italiane erano riportate due sole specie: *Liagora viscida* (Forsskål) C. Agardh, la specie tipo, e *Liagora distenta* (Mertens ex Roth) J.V. Lamouroux (FURNARI *et al.*, 2010). La prima è abbastanza diffusa lungo le coste italiane, sia occidentali che orientali, comprese quelle pugliesi (CORMACI *et al.*, 2001). *L. distenta* era stata segnalata solo in Campania, Sardegna, Sicilia e Toscana (FURNARI *et al.*, 2010). Nel Mediterraneo, *L. ceranoides* J.V. Lamouroux è stata raccolta in Grecia, Francia e Isole Baleari (GUIRY, 2012, www.algaebase.org), ma non è mai stata segnalata sulle coste italiane. ARDISSONE (1883) attribuisce a *L. distenta* e *L. ceranoides* esemplari raccolti in Adriatico lungo le coste della Dalmazia. Nell'ambito di campagne finalizzate alla caratterizzazione della flora macroalgale bentonica del tratto di costa Otranto-Leuca (Lecce), sono stati raccolti in località S. Cesarea Terme, nello stesso periodo stagionale (estate) e nello stesso sito, talli chiaramente attribuibili al genere *Liagora*, ma con tre distinti morfotipi. Il presente lavoro ha avuto lo scopo di caratterizzare ed identificare dal punto di vista tassonomico i tre morfotipi raccolti.

### MATERIALI E METODI

Gli esemplari di *Liagora* sono stati sottoposti ad esame macroscopico al fine di evidenziare differenze di taglia e ramificazione del tallo. Porzioni di talli sia vegetativi che fertili sono state decalcificate in HCl 1-5%, sottoposte a schiacciamento e/o sezionamento, quindi colorate con blu di anilina per l'osservazio-

ne al microscopio ottico dei particolari anatomici. Campioni rappresentativi dei morfotipi identificati sono stati conservati come *exsiccata* e depositati presso l'Herbarium Horti Botanici Barensis (BI).

### RISULTATI

All'esame macroscopico gli esemplari dei tre morfotipi erano molto differenti riguardo a dimensioni e ramificazione del tallo. Uno dei morfotipi risultava chiaramente appartenere alla specie *L. viscida*, con tallo cilindrico in ogni parte, e ramificazione pseudodicotomica ad intervalli regolari; nel secondo morfotipo, di taglia notevolmente più grande rispetto agli altri, l'intervallo tra le dicotomie era gradualmente più breve dalla base verso l'apice, inoltre le piante apparivano più folte a causa della presenza di numerosi rami avventizi; il terzo morfotipo era rappresentato dalle piante della taglia più piccola, ma con assi di diametro maggiore e intervallo tra le dicotomie costante, ma più piccolo rispetto agli altri. Per le caratteristiche morfologiche ed anatomiche del tallo e degli organi riproduttivi, i tre morfotipi sono attribuibili alle specie *L. viscida*, *L. distenta* (Figura 1A) e *L. ceranoides* (Figura 1B).

Le osservazioni su preparati per microscopia ottica hanno messo in evidenza differenze nella forma e dimensioni delle cellule dei filamenti corticali, nella struttura e posizione del ramo carposporonale e nella morfologia del carposporofito, caratteri riportati in letteratura come diagnostici per le specie di *Liagora* (KVATERNIK, AFONSO-CARRILLO, 1995). Le cellule dei filamenti corticali hanno forma e dimensioni differenti nelle tre specie: piriformi in *L. viscida*; più larghe, quasi sferiche in *L. distenta*; ovali e gradualmen-

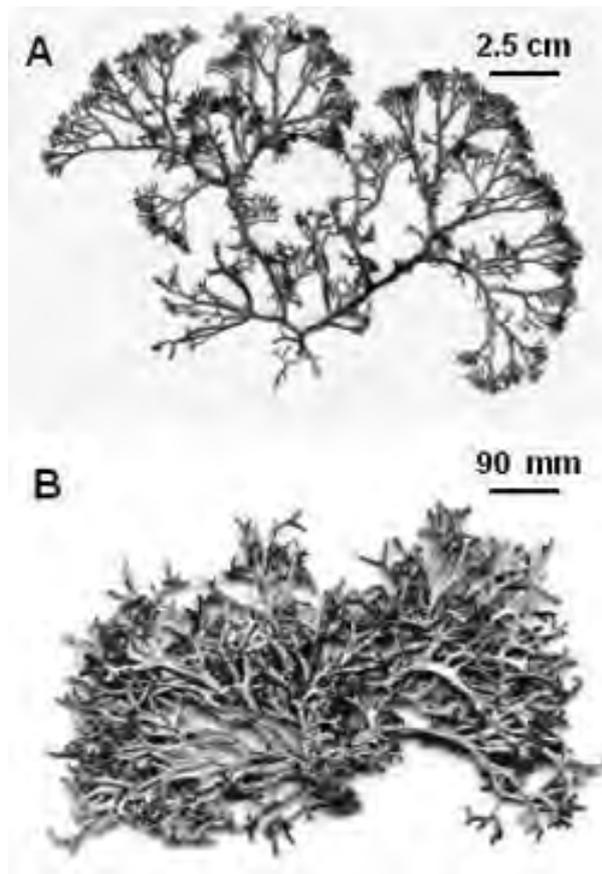


Fig. 1  
Campioni di erbario di *Liagora* spp. A: *L. distenta*. B: *L. ceranoides*.  
Herbarium specimens of *Liagora* spp. A: *L. distenta*. B: *L. ceranoides*.

te più corte ed affusolate verso l'apice in *L. ceranoides*. Il genere *Liagora* segue un ciclo biologico trifasico eteromorfo; le piante a tallo eretto sono gametofiti; il tetrasporofito è rappresentato da un tallo di dimensioni trascurabili a portamento strisciante. L'esame degli organi riproduttivi sui gametofiti maschili e femminili ha confermato la presenza delle specie

monoiche *L. viscida* e *L. ceranoides* e della specie dioica *L. distenta*. Gli spermatangi non costituiscono un carattere distintivo a livello di specie, mentre sono emerse differenze significative nella posizione del filamento carpogoniale e nella struttura del carposporofito maturo. In particolare, in *L. viscida* il carposporofito è lasso e porta filamenti sterili e fertili frammisti; più compatto, con filamenti fertili al centro e quelli sterili che formano un fitto involucro in *L. ceranoides*; in *L. distenta* i pochi filamenti sterili sono solo alla base del gonimoblasto ed i carposporangi sono spesso in serie di due o tre.

#### CONCLUSIONI

Questa è la prima segnalazione di *L. distenta* per la Puglia e, in generale, per le coste italiane orientali. Il ritrovamento di *L. ceranoides* costituisce una nuova segnalazione per la flora algologica italiana.

#### LETTERATURA CITATA

- ARDISSONE F., 1883 – *Phycologia mediterranea. Parte prima, Floridee*. Mem. Soc. Crittogamol. Ital., 1: i-x, 1-516.
- CORMACI M., FURNARI G., ALONGI G., SERIO D., PETROCELLI A., CECERE E., 2001 – *Censimento delle macroalghe marine bentoniche delle coste pugliesi*. *Thalassia Salentina*, 25: 75-158.
- FURNARI G., GIACCONE G., CORMACI M., ALONGI G., CATRA M., NISI A., SERIO D., 2010 – *Macrofitobenthos*. *Biol. Mar. Mediterr.*, 17: 801-828.
- GUIRY M.D., GUIRY G.M., 2012 – *Algaebase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>, searched on 18 June 2012.
- KVATERNIK D., AFONSO-CARRILLO J., 1995 – *The red algal genus Liagora (Liagoraceae, Rhodophyta) from the Canary Islands*. *Phycologia*, 34: 449-471.

RIASSUNTO - L'esame morfo-anatomico di esemplari sterili e fertili del genere *Liagora*, raccolti lungo le coste ioniche pugliesi orientali, ha permesso l'identificazione di tre specie distinte: *L. viscida*, *L. distenta* e *L. ceranoides*. Il ritrovamento di *L. distenta* estende alle coste orientali italiane il range di distribuzione di questa specie. *L. ceranoides* rappresenta un nuovo record per la flora algologica italiana.

#### AUTORI

Antonella Bottalico ([antonella.bottalico@uniba.it](mailto:antonella.bottalico@uniba.it)), Christian Russo, Cesira Perrone, Dipartimento di Biologia, Università di Bari "A. Moro", Via E. Orabona 4, 70125 Bari

## Alcuni aspetti della biologia della conservazione di *Cistus clusii* di “Bosco Isola” (Lesina, Puglia)

L. FORTE, G. MELCHIORRE, S. ANIFANTIS, F. CARRUGGIO e F. MANTINO

**ABSTRACT** - *Some aspects of the conservation biology of Cistus clusii from “Bosco Isola” (Lesina, Apulia) - Cistus clusii Dunal is very rare in Italy. In Apulia this species was only known from “Bosco Isola” (Lesina, FG) where, at present, it is to be considered extinct in the wild (EW). The only living individuals, which constitute the direct and genetically recombined offspring of the spontaneous population, are conserved ex situ at the Botanical Garden and Museum of the University of Bari. To assess the feasibility of an eventual in situ reintroduction, there were analysed some aspects of the seed germination behaviour of these individuals. The results show that the investigated individuals produce a large fraction of hard-coated seeds which accumulate in the soil, building up a persistent seed bank. There were observed significant differences in hard-/soft-coated seed ratio between and within the investigated individuals. No seed tolerance to high temperatures was found. Therefore, the individuals would not be liked to show the characteristics of typical active pyrophytes. Nevertheless, this result may be due to the seed moisture content value (8.37%). Therefore, only further tests on more dehydrated seeds could confirm this hypothesis. Finally, the individuals show some ecology germination aspects which may promote their survival in the wild.*

*Key words:* Apulia, *Cistus clusii* Dunal, conservation biology, seed ecology

### INTRODUZIONE

*Cistus clusii* Dunal, xerofita a distribuzione mediterraneo-occidentale, è una specie molto rara in Italia; attualmente si rinviene solo in Sicilia (GIARDINA, 1988) mentre, sino a pochi anni fa, era presente anche in Puglia, con un'unica stazione a “Bosco Isola” (Lesina, FG) (FORTE *et al.*, 2002a).

Studi condotti sulla biologia della conservazione e sull'ecologia della popolazione pugliese avevano portato all'attuazione di un intervento di rafforzamento della stessa, mediante reintroduzione *in situ* di individui ottenuti per via sessuale attraverso fecondazione incrociata controllata, a partire dai pochi individui della popolazione residuale di Lesina (FORTE *et al.*, 2002b). Questi studi, inoltre, avevano messo in luce per la popolazione spontanea pugliese un comportamento dei semi alla germinazione differente rispetto a quello noto per altre popolazioni della stessa specie (CASTRO, ROMERO-GARCÍA, 1999), come anche per molte altre specie della famiglia *Cistaceae* (THANOS *et al.*, 1992). Infatti, era stata evidenziata l'esclusiva produzione di *soft seeds* (CAVALLARO *et al.*, 2005), ossia semi che, germinando prontamente in condizioni ambientali favorevoli, non permettono la formazione di una persistente “banca seme” nel suolo. Studi successivi eseguiti invece sugli individui

reintrodotti avevano, al contrario, messo in evidenza la presenza anche di una frazione consistente di *hard seeds* (FORTE *et al.*, 2009), ossia di semi con tegumento impermeabile all'acqua e pertanto con dormienza di tipo fisico che può essere rotta dalle alte temperature, in analogia con i dati di letteratura per le specie del genere *Cistus*, tradizionalmente definite “pirofite attive generative” (TRABAUD, OUSTRIC, 1989; ROY, SONIÉ, 1992).

Attualmente nella stazione di “Bosco Isola” non sono più presenti né gli individui della popolazione spontanea, morti per cause naturali, e neppure gli individui reintrodotti, non sopravvissuti ai ripetuti incendi che hanno colpito le aree di rafforzamento nel corso degli ultimi anni. Tuttavia, ad oggi, la specie in Puglia è da ritenersi estinta solo in natura (EW) in quanto presso il Museo Orto Botanico dell'Università di Bari sono conservati *ex situ* sia semi in Banca del Germoplasma e sia alcuni individui, progenie diretta e geneticamente ricombinata della popolazione spontanea originaria. Al fine di valutare la possibilità di attuare una nuova azione di reintroduzione *in situ*, con questo lavoro sono state condotte ulteriori indagini aventi per oggetto gli individui di nuova generazione conservati *ex situ*, con gli obiet-

tivi specifici di: 1) accertare l'effettiva presenza di una dormienza tegumentale, quindi la possibilità di formazione di una "banca seme"; 2) verificare le risposte alla germinazione dopo pre-trattamenti di *dry heating*, quindi il comportamento da "pirofito attiva"; 3) indagare l'esistenza o meno di differenze nella produzione di *hard seeds* tra ed entro gli individui; 4) verificare se la presenza della dormienza tegumentale dei semi, assente nella popolazione spontanea originaria, possa essere imputabile ad un'origine ibridogena degli individui di nuova generazione per incrocio fortuito con altre specie congeneri presenti nella stazione di "Bosco Isola".

#### MATERIALI E METODI

I *test* di germinazione sono stati condotti in capsule Petri, al buio, su semi prodotti da due individui interfecondi (siglati come C1 e C2) sottoposti sia ad impollinazione incrociata intraspecifica controllata, in modo che ciascun individuo agisse da donatore di polline per l'altro, e sia ad impollinazione incrociata interspecifica, anch'essa controllata, con i congeneri *C. salvifolius* L., *C. monspeliensis* L. e *C. creticus* L. subsp. *eriocephalus* (Viv.) Greuter & Burdet.

Sono state eseguite prove a temperatura costante di 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 e 24 °C e prove dopo pre-trattamenti sia di scarificazione meccanica manuale, con carta abrasiva a grana 180, e sia ad alta temperatura, utilizzando diverse combinazioni durata/temperatura (1, 5, 7.5, 10, 15 min/80, 100, 120, 140 °C). Dopo i pre-trattamenti i semi sono stati incubati alla temperatura costante di 15 °C. Prima dell'esecuzione dei *test* di germinazione, è stato determinato il contenuto medio di umidità interna dei semi attraverso il metodo gravimetrico a bassa temperatura costante (105 °C ± 2 °C per 17 ore).

La valutazione della presenza di eventuali differenze nel rapporto *hard seeds/soft seeds*, all'interno di ciascun individuo e tra gli individui, è stata effettuata con prove di germinazione eseguite sui semi prodotti da singoli frutti, posti a germinare alle temperature costanti sia di 15 che di 21 °C. Per questi *test* è stato utilizzato il 10% delle capsule prodotte da ciascun individuo ed appartenenti a cime fiorali differenti.

Infine, la germinabilità dei semi ottenuti dagli incroci interspecifici è stata valutata con *test* a temperatura costante di 15 °C dopo pre-trattamento di scarificazione meccanica manuale.

Al termine di tutte le prove, i semi non germinati sono stati classificati con l'ausilio del *Tetrazolium Test* in morti e duri. Le analisi statistiche sono state condotte mediante l'utilizzo del *software* SPSS 11.5 (SPSS Inc., Chicago 1989-2002).

#### RISULTATI E DISCUSSIONE

Dai *test* a temperature costanti è emerso che i semi che germinano costituiscono solo una piccola frazione, tuttavia significativamente variabile con la temperatura di prova (F=8.274; p<0.001), che raggiunge il massimo (33.0%) nell'individuo C2 alla tempera-

tura di 24 °C. Di contro, sempre più alta è risultata la percentuale di semi duri (sino a 79.8% per C1). Gli individui di nuova generazione, quindi, producono una consistente frazione di *hard seeds* in grado di formare "banca seme" nel suolo. Questo risultato è avvalorato dai dati ottenuti con i *test* di germinazione sui semi pre-trattati con scarificazione meccanica manuale. Rispetto al controllo, infatti, i semi scarificati mostrano una germinabilità molto più elevata (sino al 100%; F=559.48; p<0.001) e tempi medi di germinazione molto più bassi, indicando come, una volta rotta la dormienza fisica mediante abrasione meccanica del tegumento, non ci sia alcun altro ostacolo che impedisca la germinazione (TRABAUD, OUSTRIC, 1989; THANOS *et al.*, 1992; HERRANZ *et al.*, 1999).

I risultati ottenuti con le prove dopo i vari pre-trattamenti di *dry heating* sono apparsi in contrasto con quanto noto dalla letteratura sia per altre popolazioni della specie (CASTRO, ROMERO-GARCÍA, 1999) sia per la popolazione reintrodotta di Lesina (FORTE *et al.*, 2009). Per i semi prodotti dagli individui indagati, infatti, non è stata riscontrata una particolare resistenza alle alte temperature, in quanto già con i pre-trattamenti a 80 °C le percentuali di semi morti sono risultate comprese tra 35.8 e 46.5%. Inoltre, le temperature di pre-trattamento superiori, per tutti i tempi di esposizione, hanno determinato sempre la morte dei semi. Solo nel caso dei semi dell'individuo C2, esposti per 5 minuti a 80 °C, è stato notato un incremento statisticamente significativo della germinazione rispetto al controllo (+12.1%; p<0.05). Questi risultati indicano quindi che gli individui di nuova generazione non presenterebbero gli adattamenti tipici delle "pirofito attive". Tuttavia, sulla scorta di recenti sperimentazioni condotte su *Halimium halimifolium* (L.) Willk. subsp. *halimifolium* (Forte, Blotti, *in verbis*), anch'essa della famiglia *Cistaceae*, si ritiene che il risultato ottenuto, nonostante quanto affermato da altri Autori (PÉREZ-GARCÍA, 1997), possa dipendere dal contenuto medio di umidità dei semi, che al momento delle prove non era particolarmente basso (8.37%). Quindi, solo ulteriori *test* condotti su semi maggiormente disidratati potranno o meno confermare le apparenti discordanze con quanto riportato in letteratura.

Dal confronto delle percentuali sia di germinazione e sia di *hard seeds* ottenute nei *test* condotti sui semi prodotti da singoli frutti, sono emerse differenze altamente significative tra gli individui (a 15 °C F=17.502, p<0.001; a 21 °C F=16.143, p<0.001) come anche entro l'individuo C2 (F=11.456; p<0.001). Non sono state, invece, riscontrate differenze significative entro l'individuo C1. Tale variabilità, chiaramente materna, rappresenta molto probabilmente una strategia opportunistica adottata dalla specie, così come già evidenziato in altri casi (GUTTERMAN, 1992; PÉREZ-GARCÍA, 1997).

I risultati dei *test* di germinazione effettuati sui semi ottenuti attraverso impollinazione incrociata interspecifica permettono di escludere con buona proba-

bilità che la dormienza tegumentale, riscontrata negli individui di nuova generazione, possa essere imputabile ad una loro origine ibridogena. Infatti, nonostante siano stati sottoposti a *cross pollination* 124 fiori, da questi si sono sviluppate solo 20 capsule che hanno prodotto in totale appena 67 semi. Di questi ultimi, solo 9 sono germinati ed appena 2 si sono sviluppati in plantule, peraltro di scarsissimo vigore. In conclusione, sulla base di quanto emerso da questo lavoro, è possibile affermare che gli individui di nuova generazione derivanti dalla popolazione originaria di *C. clusii* di Lesina mostrano aspetti dell'ecologia della germinazione che favorirebbero la persistenza in natura di una popolazione eventualmente reintrodotta mediante opportune azioni di conservazione *in situ*.

#### LETTERATURA CITATA

- CASTRO J., ROMERO-GARCÍA A.T., 1999 – *Dormancy and germination in Cistus clusii* (Cistaceae): *effect of biotic and abiotic factors*. Rev. Ecol. (Terre Vie), 54: 19-28.
- CAVALLARO V., FORTE L., MACCHIA F., PASTORE D., SCATIGNA A.M.E., 2005 – *Ecologia della germinazione*. In: MACCHIA F. (Ed.), *Biologia ed ecologia di Cistus clusii Dunal*: 17-21. Ed. Adda, Bari.
- FORTE L., ANIFANTIS S., MANTINO F., CARRUGGIO F., CAVALLARO V., 2009 – *Conservation of Cistus clusii Dunal from "Bosco Isola" (Lesina - Apulia): current status and new experimental evidence*. In: BACCHETTA G. (Ed.), *Book of Abstracts: Biodiversity Hotspots in the Mediterranean Area*: 280. 45th Intern. Congr. SISV & FIP. Cagliari 22-24 / 25-29 June 2009.
- FORTE L., CAVALLARO V., MACCHIA F., 2002b – *Conservazione in situ di Cistus clusii Dunal* (Cistaceae, Magnoliophyta) *nella duna di Lesina*. Quad. Bot. Amb. Appl., 13: 3-9.
- FORTE L., CAVALLARO V., PANTALEO F., D'AMICO F.S., MACCHIA F., 2002a – *The vascular Flora of the "Bosco Isola" at Lesina (Foggia - Apulia)*. Flora Medit., 12: 33-92.
- GIARDINA G., 1988 – *Segnalazioni Floristiche Italiane*: 574. Inform. Bot. Ital., 20(2-3): 678.
- GUTTERMAN Y., 1992 – *Maternal effects on seeds during development*. In: FENNER M. (Ed.), *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*: 27-59. CAB International, Wallingford.
- HERRANZ J.M., FERRANDIS P., MARTÍNEZ-SÁNCHEZ J.J., 1999 – *Influence of heat on seed germination of nine woody Cistaceae species*. Int. J. Wildland Fire, 9(3): 173-182.
- PÉREZ-GARCÍA F., 1997 – *Germination of Cistus ladanifer seeds in relation to parent material*. Plant Ecol., 133: 57-62.
- ROY J., SONIÉ L., 1992 – *Germination and population dynamics of Cistus species in relation to fire*. J. Appl. Ecol., 29: 647-655.
- THANOS C.A., GEORGHIOU K., KADIS C., PANTAZI C., 1992 – *Cistaceae: a plant family with hard seeds*. Isr. J. Bot., 41(4-6): 251-263.
- TRABAUD L., OUSTRIC J., 1989 – *Heat requirements for seed germination of three Cistus species in the garrigue of southern France*. Flora, 183: 321-325.

RIASSUNTO - *Cistus clusii* Dunal è una specie molto rara in Italia. In Puglia, nell'unica stazione nota, quella di "Bosco Isola" (Lesina, FG), è da ritenersi attualmente estinta in natura (EW). Al fine quindi di valutare la possibilità di attuare un'azione di reintroduzione *in situ*, sono stati analizzati alcuni aspetti del comportamento alla germinazione dei semi degli individui di nuova generazione, progenie diretta e geneticamente ricombinata della popolazione spontanea originaria, conservati *ex situ* presso il Museo Orto Botanico dell'Università di Bari. Dai risultati ottenuti è emerso che gli individui indagati producono una frazione consistente di *hard seeds*. È stata osservata l'esistenza di differenze significative nel rapporto *hard seeds/soft seeds* tra ed entro gli individui. Non è stata invece riscontrata una particolare resistenza dei semi alle alte temperature, indicando che gli individui in esame non presenterebbero gli adattamenti tipici delle "pirofitte attive". Tuttavia, è da verificare con ulteriori prove se quanto ottenuto possa dipendere dal contenuto medio di umidità dei semi, non particolarmente basso al momento dei pretrattamenti. I risultati di questo lavoro indicano che gli individui di nuova generazione mostrano aspetti dell'ecologia della germinazione che favorirebbero la persistenza in natura di una popolazione reintrodotta mediante opportune azioni di conservazione *in situ*.

#### AUTORI

Luigi Forte, Dipartimento di Biologia e Museo Orto Botanico, Università di Bari "Aldo Moro", Via Orabona 4, 70126 Bari  
Giulia Melchiorre, Stamatia Anifantis, Francesca Carruggio, Francesca Mantino, Museo Orto Botanico, Università di Bari "Aldo Moro", Via Orabona 4, 70126 Bari

## Macroalghe marine e qualità delle acque: confronto tra i metodi CARLIT ed EEI in tre siti con differente pressione antropica

M. DE GIOIA, G. COSTANTINO, N. UNGARO e M.C. DE TULLIO

**ABSTRACT** - *Seaweeds and water quality: comparison between the CARLIT and EEI methods in three Apulian sites with different anthropic pressure* - Two methods (CARLIT and EEI) used for marine water quality monitoring have been compared. Both methods are largely based on the analysis of seaweed and seagrass benthic communities, and are in accordance with the current EU directives. Diverging results were obtained with the two methods in three sites of the Apulian coast with different anthropic pressure. As an example, the value 'Moderate' was observed in the protected area Tremiti Islands using CARLIT, whereas the same area was evaluated as 'High' when the EEI was used. It is concluded that local environmental variables possibly leading to changes in benthic plant communities should be carefully taken into consideration.

*Key words:* CARLIT, EEI, seaweeds, water quality

### INTRODUZIONE

La normativa vigente a livello dell'Unione Europea richiede l'impiego di strumenti operativi per la valutazione della qualità delle acque marine, con l'obiettivo di elaborare successivamente opportune politiche di risanamento ambientale e conservazione del patrimonio floro-faunistico. Le due Direttive di riferimento, rispettivamente la 2000/60/EC del 23 Ottobre 2000 (*Water Framework Directive - WFD*) e la 2008/56/EC del 17 Giugno 2008 (*Marine Strategy Framework Directive - MFD*) prevedono un percorso articolato, con precise scadenze; entrambe però hanno come obiettivo finale il raggiungimento dello stato di qualità ambientale "buono" per tutte le acque comunitarie entro il 2015 (*WFD*) o il 2020 (*MFD*). Il raggiungimento di tali obiettivi passa attraverso le fasi di: valutazione iniziale di qualità ambientale; realizzazione di programmi di monitoraggio; elaborazione di programmi di misure per il mantenimento del buono stato di qualità ambientale. In ottemperanza alle citate Direttive, ciascuno Stato membro ha l'obbligo di attivare tutte le iniziative utili all'implementazione della normativa Comunitaria sui rispettivi territori nazionali. Le Direttive di riferimento, pur non imponendo la scelta di una specifica metodica, richiedono l'uso di un approccio analitico che consenta di indicare la qualità ambientale di un determinato corpo idrico (*Water Body - WB*) in maniera sintetica, utilizzando una scala numerica riconducibile a cinque classi di qualità (*Bad, Low, Moderate, Good, High*).

Il monitoraggio biologico si è rivelato negli ultimi decenni una risorsa di grande efficacia ed utilità pratica. In ambiente marino sono state identificate numerose specie (o gruppi di specie) utilizzabili come attendibili indicatori di qualità ambientale. In particolare, l'analisi della biodiversità vegetale marina presenta alcuni indubbi vantaggi, quali la riproducibilità dell'osservazione nel tempo e la relativa stabilità delle comunità fitobentoniche.

Sono state proposte varie metodiche di biomonitoraggio basate sull'osservazione di organismi vegetali marini. Due di esse si sono rivelate particolarmente in linea con gli obiettivi sia della *WFD* che della *MFD* e di conseguenza sono state adottate dai diversi Paesi aderenti alla Unione Europea nell'ambito dei programmi preliminari di monitoraggio. La prima, nota come metodo CARLIT (BALLESTEROS *et al.*, 2007), si basa su un rilievo cartografico continuo (o per settori) delle comunità fitobentoniche dei substrati rocciosi della zona mesolitorale ed infralitorale superiore. Tale metodo, messo a punto sulla scorta di una serie di osservazioni condotte lungo le coste della Catalogna, si avvale di un punteggio attribuito alle diverse specie in funzione della loro relativa sensibilità a condizioni di inquinamento. Il valore di massima sensibilità (pari a 20) viene attribuito ad alcune specie del genere *Cystoseira* (*Phaeophyta*); alle fanerogame marine *Posidonia oceanica* Delile, *Zostera noltii* Hornem. e *Cymodocea nodosa* (Ucria) Asch.; nonché ai *trottoir* formati dalla *Rhodophyta* Corallinacea

*Lythophyllum byssoides* (Lamarck) Foslie. Ad altre specie indicatrici vengono attribuiti coefficienti di sensibilità decrescenti, fino al valore minimo (1) attribuito alle comunità bentoniche dominate da Cianobatteri e dalla *Chlorophyta Derbesia tenuissima* (de Notaris) Crouan & Crouan. I dati ottenuti, rapportati al tipo di substrato considerato, consentono di calcolare un valore detto *Ecological Quality Ratio* che qualifica il sito considerato all'interno di una delle cinque classi di qualità.

Un secondo metodo, denominato *Ecological Evaluation Index* (EEI) (ORFANIDIS *et al.*, 2003), è stato inizialmente testato con le comunità bentoniche delle coste della Grecia. EEI si basa sulla identificazione di generi di macrofite marine (macroalghe e fanerogame) e sulla loro suddivisione in due gruppi. Il primo gruppo (*Ecological Status Group I*) comprende generi considerati particolarmente indicativi di buona qualità delle acque, tendenzialmente K-strateghi, tra cui *Acetabularia*, *Cystoseira*, *Lithotamnion*, *Padina* e *Taonia*. Nella categoria ESG II sono invece compresi organismi che vivono in ambienti degradati, per lo più opportunisti a ciclo vitale rapido (r-strateghi), tra cui *Caulerpa*, *Chaetomorpha*, *Ectocarpus*, *Gracilaria*, *Ulva*. Il rapporto tra la superficie ricoperta da individui appartenenti a ESG I ed a ESG II fornisce un valore numerico che viene riportato ad una scala di qualità delle acque.

Alcuni Paesi del Mediterraneo (Spagna, Francia, Italia) hanno adottato il CARLIT, mentre altri (Grecia, Cipro, Slovenia) hanno scelto l'EEI. Questa disparità di scelte rende necessaria la valutazione della congruità dei risultati ottenuti impiegando le due metodiche.

Le coste della Puglia si estendono per un totale di 985 chilometri (Piano Regionale delle Coste, Novembre 2011) e presentano un'elevata biodiversità algale. Sono state descritte 609 specie, di cui 105 *Chlorophyta*, 119 *Phaeophyta* e 385 *Rhodophyta* (CORMACI *et al.*, 2001). Ad esse si aggiungono tre specie di fanerogame (*P. oceanica*, *C. nodosa*, e *Z. noltii*). In diversi siti lungo le coste pugliesi, inoltre, si realizzano condizioni molto differenti in relazione alle pressioni antropiche. Il presente studio si propone di tentare un confronto tra le due metodiche (CARLIT ed EEI) in tre siti particolarmente rappresentativi.

#### MATERIALI E METODI

Sono state identificate tre aree di studio. La prima (Bari-Trullo; coordinate del primo transetto N 41° 06' 43.5" – E 16° 56' 09.7") è un tipico litorale urbano, caratterizzato da estesa presenza antropica. Nella seconda area (Taranto-Lido Silvana; coordinate del primo transetto N 40° 21' 38.5" – E 17° 19' 58.2") la presenza antropica ha prevalentemente un andamento stagionale, mentre la terza area (Isole Tremiti; coordinate del primo transetto N 42° 07' 02.0" – E 15° 29' 54.0") costituisce un'area marina protetta. Le osservazioni ed i rilievi sono stati effettuati nell'Agosto 2009 con operatore in acqua (ove necessario, col supporto di un battello pneumatico)

seguendo le linee-guida previste dai protocolli CARLIT elaborati dal Ministero dell'Ambiente in collaborazione con ISPRA. Per il calcolo dei valori di *Ecological Quality Ratio* (EQR) è stata utilizzata la formula

$$EQR = \frac{\sum EQV_{calc} * l_i}{EQV_{rif} \sum l_i}$$

dove  $l_i$  rappresenta la lunghezza di ciascun transetto considerato. Come valori di riferimento ( $EQ_{rsi}$ ) sono stati utilizzati i parametri indicati nel decreto 8 novembre 2010, n. 260 (G.U. n. 30 del 7/2/2011). La conversione dei dati CARLIT in dati utili per l'applicazione dell'EEI è stata effettuata considerando l'area complessiva dei tre transetti lineari di ciascun rilevamento CARLIT e suddividendo le specie osservate tra i gruppi ESG1 ed ESG2 identificati da ORFANIDIS *et al.* (2003), calcolando la percentuale di copertura di tali specie.

#### RISULTATI E DISCUSSIONE

Lo stato di qualità delle acque nei tre siti considerati, ottenuto utilizzando le due metodiche, è riassunto in Tab. 1

TABELLA 1

Valutazione di qualità nei tre siti considerati.  
Quality indicators in the three sites considered.

Sito	CARLIT	EEI
Bari Trullo	Sufficiente	Moderato
Lido Silvana	Sufficiente	Buono
Isole Tremiti	Sufficiente	Ottimo

Questi dati dimostrano alcune incongruenze, in parte spiegabili considerando le peculiarità dei due metodi. La valutazione dell'area marina protetta Isole Tremiti dimostra una marcata differenza in conseguenza della metodologia adottata. Il valore "Sufficiente" ottenuto utilizzando il CARLIT in questo sito dimostra che gli indicatori biologici di riferimento in tale metodica non possono essere impiegati in maniera acritica, senza un'analisi più accurata di alcune particolarità specifiche dei siti considerati. In certi casi, le naturali caratteristiche talassografiche locali (trofia, torbidità naturale, ecc.), o di altre variabili ambientali, determina modificazioni dei popolamenti che incidono sulla valutazione di qualità delle acque. Nei tre casi osservati, il metodo EEI sembra fornire una maggiore aderenza ai dati ottenuti dal confronto con altre metodiche di analisi dei parametri chimico-fisici, ma la comparazione andrebbe estesa ad un maggior numero di siti allo scopo di valutare l'attendibilità di entrambe le metodiche. Con questo studio non si mettono tanto in discussione le due metodologie, quanto la loro applicabilità alle coste

pugliesi, e probabilmente ad altre situazioni locali. Ad esempio il genere *Cystoseira*, che in Spagna sembrerebbe presente solo in acque non interessate da eutrofizzazione, e che quindi presenta un elevato grado di sensibilità ai cambiamenti ed un alto valore come indicatore biologico, in Italia può adattarsi a vivere in condizioni differenti, ed alcune specie appartenenti a questo vasto genere si possono osservare anche in specchi d'acqua eutrofica.

In conclusione, considerato che le due metodologie CARLIT ed EEI sono poco invasive, che richiedono la stessa preparazione professionale e lo stesso dispendio di mezzi e risorse, che non necessitano di operazioni aggiuntive per ricavare i dati, sarebbe forse opportuno applicarle entrambe per la valutazione della qualità dei corpi idrici marino-costieri, in vista delle prossime scadenze previste dalle Direttive *Water Framework* e *Marine Strategy*.

#### LETTERATURA CITATA

BALLESTEROS E., TORRAS X., PINEDO S., GARCÍA M., MANGIALAJO L., DE TORRES M., 2007 – *A new*

*methodology based on littoral community cartography dominated by macroalgae for the implementation of the European Water Framework Directive*. Mar. Poll. Bull., 55: 172-180.

CORMACI M., FURNARI G., ALONGI G., SERIO D., PETROCELLI A., CECERE E., 2001 – *Censimento delle macroalghe marine pugliesi*. *Thalassia salentina*, 25: 75-158.

ORFANIDIS S., PANAYOTIDIS P., STAMATIS N., 2003 – *An insight to the Ecological Evaluation Index (EEI)*. *Ecological Indicators*, 3: 27-33.

RIASSUNTO - Sono stati confrontati due metodi (CARLIT ed EEI) per il monitoraggio della qualità delle acque marine. Entrambi i metodi si basano sull'analisi delle comunità fitobentoniche e rispondono ai dettami della normativa Europea in materia. Applicando i due metodi allo studio di tre siti della costa Pugliese a differente pressione antropica, si sono ottenuti valori di qualità ambientale molto divergenti. Ad esempio, il valore Sufficiente viene riscontrato nell'area protetta Isole Tremiti adottando il CARLIT, mentre EEI fornisce il valore Ottimo nella stessa area. Si ravvisa la necessità di considerare le caratteristiche talassografiche locali ed altre variabili ambientali che possono determinare modificazioni dei popolamenti che incidono sulla valutazione di qualità delle acque.

#### AUTORI

*Michele De Gioia, Mario C. De Tullio (mario.detullio@uniba.it), Dipartimento di Biologia, Università di Bari "Aldo Moro", Via Orabona 4, 70126 Bari*  
*Gaetano Costantino, Nicola Ungaro, ARPA Puglia, Corso Trieste 27, 70126 Bari*

## Giardino e Biblioteca

### A. SOMMA

**ABSTRACT** - *Garden and library* - From many years the Library of the Regional Council of Puglia coordinates a number of events dedicated to the Territory such as conferences, seminars, book presentations on topics to promote environment, landscape, biodiversity, gardens. One of the main topics is the relationship between the Library and Gardens on the basis of a common language in terms of collection, classification, cataloging. Recent interdisciplinary initiatives realized in Puglia on the subject were reported. The creation of a Garden in a Library with structures appropriate to the needs of readers and also of plants was discussed and suggested.

*Key words:* biblioteca, giardino, orto botanico, qualità della vita

Da diversi anni la Biblioteca del Consiglio Regionale della Puglia coordina una serie di iniziative dedicate al Territorio quali convegni, seminari, presentazioni di volumi sui temi della protezione del patrimonio naturalistico, della valorizzazione e tutela del paesaggio, della biodiversità, della valorizzazione dei Giardini Storici, dello sviluppo sostenibile, dell'agricoltura multifunzionale, della promozione delle attività degli Orti Botanici. Una delle tematiche proposte consiste nella relazione fra Biblioteca e Giardino, che può essere considerata in diversi contesti e prospettive. Sin dai tempi più antichi, esiste un legame notevole fra queste due realtà: la mitica Biblioteca di Alessandria d'Egitto, voluta da Tolomeo, era non solo uno straordinario archivio, ma anche un Orto Botanico. Cicerone poi afferma "si hortum cum bibliotheca habes nihil deherit" (CICERONE, 2007). Le abbazie e i complessi monastici hanno costituito per secoli elementi fondamentali per la vita quotidiana, dove la Biblioteca e il Giardino sono stati entrambi presenti con pari rilievo.

Il Giardino esprime l'immagine di un luogo ideale che infonde benessere, che esprime l'incanto del vivere, che ispira bellezza. Nulla più del Giardino manifesta l'essenza, la natura della Terra; in un pianeta che *florisce* nell'universo, il Giardino rivela la miracolosa bellezza della vita, è l'anima del mondo, la forma più alta di vita (GRIMAL, 2005).

Il Giardino invita l'uomo a sollevare lo sguardo per entrare in un regno superiore di bellezza in cui alimentare la parte più profonda di se stesso. In un suo volume Barrow (BARROW, 2002), riporta riflessioni sulla bellezza dell'universo, sul rapporto tra arte e scienza, sul rapporto tra la terra e gli altri corpi celesti, sull'importanza della musica, sulla prospettiva

artistica del mondo, sul paesaggio, sull'essere umano, sulla varietà di esseri viventi. Una ricchezza straordinaria di meraviglie caratterizza il nostro universo con galassie, stelle, comete, pianeti e con il bios, soffio vitale che con una straordinaria varietà di esseri viventi anima l'universo e in cui le piante hanno un ruolo straordinario.

Attraverso un Giardino l'essere umano ha la possibilità di comprendere il suo ruolo nel mondo, che non è certo quello di modificare il pianeta o di ridurlo a semplice luogo di prelievo, trasformazione e consumo delle risorse. Cura, coltivazione, condivisione, contemplazione, ricerca dell'armonia, benessere, qualità della vita, sono aspetti legati alla vita del Giardino e anche alla vita dell'essere umano.

Al rapporto Biblioteca – Giardino la Biblioteca del Consiglio Regionale della Puglia, negli ultimi anni, ha dedicato diversi eventi finalizzati alla diffusione della cultura del Giardino in contesti interdisciplinari. Particolare attenzione è stata dedicata agli Orti Botanici per il significato interdisciplinare ed interculturale che essi rivestono in ambito scientifico, espresso nel manifesto Orti e Giardini Botanici simboli di Vita (SOMMA, 2009). Alcune iniziative si sono tenute presso il Museo Orto Botanico dell'Università degli Studi di Bari e altre presso l'Orto Botanico dell'Università del Salento. In particolare si è evidenziata l'esistenza di un linguaggio in comune fra Biblioteca e Giardino fatto di raccolta, classificazione, catalogazione con una forte propensione interdisciplinare ed interculturale e anche una valenza simbolica ed identitaria nel Territorio di appartenenza. Nel gennaio 2010 a Lecce si è tenuta l'iniziativa *Orti Botanici e Biblioteche Italiane*, in cui è stato evidenziato il contributo positivo che può scaturire dalla inte-

razione di questi due mondi per il Territorio, per la diffusione della cultura del benessere e della qualità della vita, per la crescita culturale di una comunità. Orti Botanici e Biblioteche hanno entrambi un legame profondo con il Sapere e rappresentano i punti di riferimento privilegiati per diffondere i “saperi fondamentali” di cui oggi si avverte in modo particolare l’esigenza di diffusione. Questo è un orientamento fondamentale visto che, oggi più che mai, il rischio di perdersi nel *labirinto della conoscenza* è concreto: ciò è particolarmente evidente proprio nelle Biblioteche che riflettono l’evoluzione culturale di una società in cui avere a disposizione tutti i libri del mondo non serve a nulla se mancano orientamenti e finalità, se manca, “la conoscenza di come utilizzare la conoscenza per la sopravvivenza e per il miglioramento della qualità della vita” (POTTER, 2002).

La diffusione della cultura della conservazione della biodiversità, dei principi ecologici, dell’educazione ambientale, della sostenibilità dello sviluppo, della bellezza, sono fondamentali per la vita degli ecosistemi, degli agro-ecosistemi, degli ecosistemi urbani, e più in generale per la vita delle comunità.

La Biblioteca del Consiglio Regionale della Puglia in collaborazione con la Società Botanica Italiana - Sezione Pugliese e diverse altre associazioni, ha organizzato il 13 settembre 2011 a Bari, il convegno dal titolo “*Giardino e Biblioteca, Luce e Colori del Giardino per una Biblioteca Vivente*”. Con tale iniziativa l’interazione Giardino e Biblioteca è stata considerata in una prospettiva interdisciplinare evidenziando la possibilità di legare in modo armonioso, attraverso il Giardino, le diverse tematiche considerate: Giardino e Paesaggio, Giardino ed Ecologia profonda, Giardino ed Agricoltura, Giardino ed Alimentazione, Giardino e Musica. Sono emerse nel corso dell’iniziativa tante riflessioni in una prospettiva di organicità, fatta di ricerca di armonia a vari livelli. Non casuale è stata la scelta della citazione posta come sottotitolo dell’iniziativa, con un riferimento esplicito alla visione relazionale e unitaria della Natura e che rimanda anche alla necessità di una visione organica del Sapere: “luce e colori stanno in rapporto strettissimo, dobbiamo rappresentarci l’una e gli altri come appartenenti all’intera natura, poiché è proprio essa che tramite loro si svela per intero” (GOETHE, 1999).

La diffusione nel Territorio di iniziative interdisciplinari e culturali può avere un ruolo fondamentale nel creare nella società odierna una coscienza delle problematiche ambientali che vanno affrontate da un punto di vista scientifico senza dimenticare il bisogno di un recupero della dimensione contemplativa della vita. E’ sempre più evidente la necessità di promuovere una cultura della qualità della vita, della

contemplazione (BRESSO, 1993). Nel Manifesto UNESCO (UNESCO, 1995) per le Biblioteche pubbliche si evidenzia il ruolo della Biblioteca, “come forza vitale per l’istruzione, la cultura e l’informazione e come agente indispensabile per promuovere la pace ed il benessere spirituale”.

Per il raggiungimento di tali finalità, la diffusione della cultura del Giardino nelle Biblioteche può svolgere un ruolo straordinario. Si può immaginare di far fiorire un Giardino in una Biblioteca, con le possibilità tecnologiche oggi disponibili, per realizzare Biblioteche che esprimano anche da un punto di vista architettonico un orientamento culturale ben preciso, una sempre maggiore integrazione tra Natura e Cultura, creando strutture luminose adeguate ai bisogni dei lettori ed anche alle esigenze delle piante, che svolgono un ruolo estetico, ma anche didattico. Si può immaginare di creare in una Biblioteca una sezione dedicata ai temi della Natura. Possiamo in definitiva immaginare di far fiorire la cultura della bellezza del Giardino nelle Biblioteche per un rinascimento della cultura, per contribuire a diffondere un messaggio di speranza per il futuro.

#### LETTERATURA CITATA

- BARROW J.D., 2002 – *L’universo come opera d’arte*. Rizzoli, Milano. 345 pp.
- BRESSO M., 1993 – *Per una economia ecologica*. NIS, Roma.
- CICERONE M.T., 2007 – *Epistulae ad Familiares IX*. A cura di A Cavarzere. Collana classici latini e greci, BUR Biblioteca Univ. Rizzoli.
- GOETHE J.W., 1999 – *La Teoria dei Colori*. A cura di R. Troncon. Il Saggiatore, Milano. 260 pp.
- GRIMAL P., 2005 – *L’Arte dei Giardini*. Donzelli (Roma). 107 pp.
- POTTER V.R., 2002 – *Bioetica, la scienza della sopravvivenza*. A cura di F. Bellino. Levante, Bari. 145 pp.
- SOMMA A.R., 2009 – *Manifesto Orti e Giardini Botanici simboli di Vita in Atti del convegno Foggia, per una città giardino*. Biblioteca Provinciale La Magna Capatana. 45 pp.
- UNESCO 1995 – *Manifesto Unesco sulle Biblioteche Pubbliche, Associazione Italiana Biblioteche*.

RIASSUNTO - Da diversi anni la Biblioteca del Consiglio Regionale della Puglia coordina una serie di iniziative dedicate al Territorio quali convegni, seminari, presentazioni di volumi su varie tematiche inerenti la valorizzazione del paesaggio, la biodiversità, i giardini. Una delle tematiche proposte consiste nella relazione fra Biblioteca e Giardino sulla base di un linguaggio in comune fatto di raccolta, classificazione, catalogazione con una forte propensione interdisciplinare ed interculturale e anche una valenza simbolica nel Territorio. Le recenti iniziative sul tema vengono illustrate auspicando la realizzazione di un Giardino in una Biblioteca con moderne possibilità tecnologiche che creino strutture luminose adeguate ai bisogni dei lettori ed anche alle esigenze delle piante.

AUTORE

Annarita Somma ([centrobiofilo@bcr.puglia.it](mailto:centrobiofilo@bcr.puglia.it)), Biblioteca del Consiglio Comunale, Via Giulio Petroni 19A, 70124 Bari

## L'epifluorescenza del succo vacuolare come parametro qualitativo dei prodotti ortofrutticoli

M. FARACO, G. PIRO, G. DALESSANDRO e G-P. DI SANSEBASTIANO

**ABSTRACT** - *The vacuolar sap epifluorescence as a quality parameter of fruits and vegetables* - Phenolic compounds play a major role in the interaction of plants with their environment. Tomatoes are an important part of the human diet because they supply essential nutrients such as vitamins and minerals and they are also considered important to human health and well-being because they contain other necessary compounds such as antioxidants. Consumers are concerned about the quality of the fruits they eat and the quality is linked to the richness in antioxidant compounds. In this work, phenolic antioxidant compounds localization has been studied by using *S. lycopersicum* fruits as experimental system. Metabolites accumulation in the vacuole has been revealed by using confocal laser scanning microscopy. In fact, CLSM provide the opportunity to study tissue localization of phenolic compounds thanks to their epifluorescence. Moreover, CLSM aids in the identification of chemical components using their specific fluorescence characteristics, on the basis of their absorbance and emission behaviour.

*Key words:* CLSM, epifluorescence, phenolic compounds, vacuole

### INTRODUZIONE

I composti fenolici sono i più abbondanti metaboliti secondari prodotti dalle piante: sono coinvolti in molte interazioni tra la pianta e fattori biotici e abiotici. Queste sostanze si accumulano in differenti tessuti e cellule sotto il controllo di molteplici stimoli. I frutti di pomodoro (*Solanum lycopersicum*) sono un'importante fonte di composti antiossidanti non solo fenolici, come licopene,  $\beta$ -carotene, acido ascorbico e polifenoli. La qualità del prodotto finito sul mercato è legata alla presenza di questi composti, normalmente considerati un "valore aggiunto" (DAI, 2010). In questo lavoro è stata analizzata la localizzazione dei composti fenolici nei compartimenti vacuolari di cellule di epidermide di pomodoro. La presenza dei metaboliti è stata rivelata dalle loro caratteristiche di epifluorescenza, attraverso l'utilizzo della microscopia confocale. Infatti molti composti fenolici sono dotati di una spiccata auto-fluorescenza quando irradiati da luce UV o luce blu. L'utilizzo di tale epifluorescenza si è rivelato un ottimo strumento per studiare la localizzazione di questi metaboliti (HUTZLER *et al.*, 1998). L'emissione di auto-fluorescenza nel vacuolo centrale di cellule di epidermide di bacca di pomodoro è stata valutata in seguito ad eccitazione con laser a 488 e 543 nm. Questa

ha generato 3 diversi picchi di emissione a 507, 547 e 627 nm.

Sono stati monitorati 3 cultivar di *S. lycopersicum* (TALENT, CLX19386 e CLX19387) prelevando bacche a diversi stadi di maturazione. L'analisi dell'epifluorescenza è stata concentrata sulle emissioni a 507 e 547 nm. La prima lunghezza d'onda è difficilmente riconducibile a molecole note, interessate per lo più a processi di risposta allo stress; la seconda lunghezza d'onda è invece simile a quella di antocianine di vario tipo, note per il loro valore salutistico. La qualità dei composti accumulati nel vacuolo centrale è stata espressa come rapporto tra il secondo ed il primo valore in modo da correlare l'aumento del parametro con un aumento proporzionale del contenuto in antocianine rispetto ai fenoli in generale. L'analisi di tale parametro ha evidenziato la possibilità di riconoscere differenze varietali nel contenuto di composti fenolici. Il parametro appena descritto e graficizzato in Fig. 1 varia durante la maturazione e risulta di facile valutazione. La sua definizione rappresenta un risultato metodologico rilevante poiché fornisce uno strumento di analisi rapido e a basso costo. Un esteso studio capace di fornire un'approfondita valutazione statistica potrebbe anche rendere

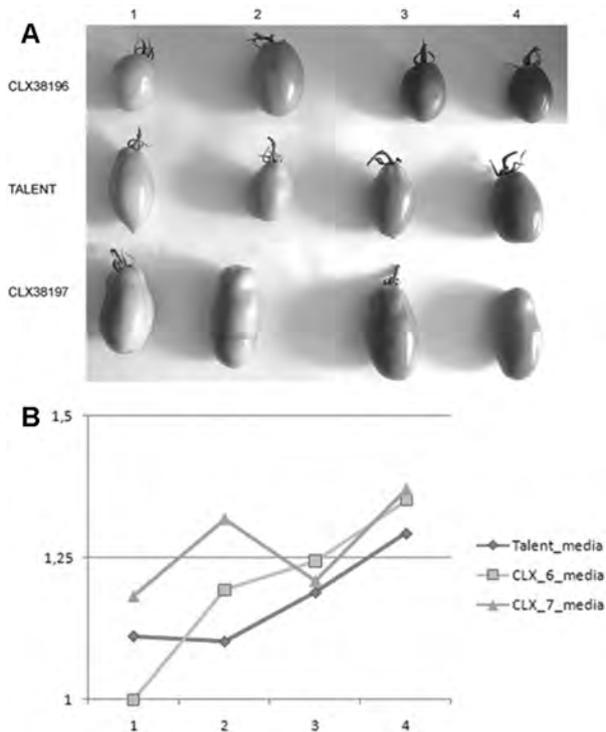


Fig. 1

A) Bacche di pomodoro appartenenti a 3 varietà nei 3 stadi di maturazione analizzate. B) Grafico dell'aumento del parametro basato sull'epifluorescenza in concomitanza con la maturazione.

A) Tomato fruits belonging to three different cultivar during three different ripening stages studied B) Epifluorescence grows with ripening.

tale parametro misurabile (con il dovuto sviluppo tecnologico) con strumenti di analisi portatili da utilizzare in campo.

#### AUTORI

Marianna Faraco ([marianna.faraco@libero.it](mailto:marianna.faraco@libero.it)), Gian Pietro Di Sansebastiano, Gabriella Piro, Giuseppe Dalessandro, Di.S.Te.B.A., Università del Salento, Campus Ecotekne, 73100 Lecce

#### MATERIALI E METODI

Le tre cultivar di *Solanum lycopersicum* (TALENT, CLX19386 e CLX19387) sono state fornite dal S.E.L.G.E. (Reti di Laboratori Pubblici di Ricerca per la Selezione, Caratterizzazione e Conservazione di Germoplasma).

I tessuti sono stati analizzati usando il microscopio confocale a fluorescenza Zeiss LSM 710 equipaggiato con 3 linee laser e capace di acquisizioni simultanee ottimali in 4 canali. Sono state selezionate le lunghezze d'onda di eccitazione a 488 e 543 nm analizzando 3 diversi picchi di emissione a 507, 547 e 627 (μ20) nm.

*Ringraziamenti* - Il lavoro è stato svolto nell'ambito del progetto "Reti di Laboratori Pubblici di Ricerca per la Selezione, Caratterizzazione e Conservazione di Germoplasma 2009".

#### LETTERATURA CITATA

- DAI J., MUMPER R.J., 2010 - *Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties*. *Molecules*, 15: 7313-7352.
- HUTZLER R., FISCHBACH R., HELLER W., JUNGLUT T.P., REUBER S., SCHMITZ R., VEIT M., WEISSENBOCK G., SCHNITZLER J.P., 1998 - *Tissue localization of phenolic compounds in plants by confocal laser scanning microscopy*. *J. Experim. Bot.*, 49: 953-965.

**RIASSUNTO** - I composti fenolici sono i più abbondanti metaboliti secondari prodotti dalle piante: sono coinvolti in molte interazioni tra pianta e fattori biotici e abiotici. I frutti di pomodoro (*S. lycopersicum*) sono un'importante fonte di composti antiossidanti non solo fenolici, come licopene, b-carotene, acido ascorbico e polifenoli. La qualità del prodotto finito sul mercato è legata alla presenza di questi composti, normalmente considerati un "valore aggiunto". In questo lavoro è stata analizzata la localizzazione dei composti fenolici nei compartimenti vacuolari di cellule di epidermide di pomodoro. La presenza dei metaboliti è stata rivelata dalle loro caratteristiche di epifluorescenza, attraverso l'utilizzo della microscopia confocale.