

SOCIETÀ BOTANICA ITALIANA

SEZIONE PUGLIESE

RIUNIONE SCIENTIFICA

ABSTRACTS DELLE RELAZIONI

Bari
19 gennaio 2007

Riunione scientifica della Sezione Pugliese della Società Botanica Italiana Bari, 19 gennaio 2007

Presenza di acidi idrossicinnamici in esopolisaccaridi di *Leptolyngbya* VRUC 135

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

I cianobatteri rappresentano microrganismi fotoautotrofi in grado di colonizzare una grande varietà di ambienti, compresi quelli estremi (ghiacciai, deserti, ambienti ipersalini e termali). Sono caratterizzati da una parete cellulare pluristratificata composta in massima parte da peptoglicani (o mureina) e da un rivestimento di lipopolisaccaridi (SELTMANN, HOLST, 2002). In alcuni casi la parete è circondata da una guaina esterna, più o meno spessa, di materiale mucillaginoso fondamentale per la formazione di colonie e per la sopravvivenza dell'organismo. Questa permette, infatti, l'adesione al substrato, in alcune specie rende possibile il movimento, funziona come riserva idrica, ostacola la predazione e soprattutto determina la formazione di biofilm (o feltri). Questa capsula esterna è composta principalmente da polisaccaridi polianionici caratterizzati da zuccheri neutri e acidi uronici (MORVAN *et al.*, 1997; DE PHILIPPIS, VINCENZINI, 1998).

Nonostante l'importanza fisiologica ed ecologica degli esopolisaccaridi (EPs) cianobatterici ed un loro utile riscontro in campo biotecnologico, le informazioni biochimiche a disposizione sono ancora lontane dal fornire un quadro completo della loro complessità strutturale. I pochi dati disponibili indicano una certa analogia con i biopolimeri che costituiscono la parete cellulare delle piante superiori. Polisaccaridi simili a pectine, xiloglucani e cellulosa sono stati riscontrati in diverse specie di cianobatteri (FREY-WYSSLING, STECHER, 1954; SUTHERLAND, TAIT, 1992; HOICZY, 1998). Nelle piante superiori, gli acidi idrossicinnamici estere legati ai polisaccaridi di parete sono coinvolti nella formazione di legami crociati covalenti per accoppiamento ossidativo di due (diferulati) o più monomeri di acido ferulico, ad opera delle perossidasi, in presenza di H₂O₂. Perossidasi sono state trovate anche nella parete di cianobatteri (TEL-OR *et al.*, 1986), probabilmente con la funzione di potenziare le capacità di adattamento di questi microrganismi agli ambienti più estremi. Sebbene una piccola quantità di polisaccaridi sia rilasciata nel mezzo di coltura (RPs), la maggior parte resta saldamente associata ai rivestimenti esterni ed alla parete dei cianobatteri, lasciando ipotizzare la presenza di una qualche forma di interazione

polimerica. Scopo di questo lavoro è stato quello di verificare, *in vivo*, la presenza di acidi idrossicinnamici estere legati ai polisaccaridi sintetizzati da *Leptolyngbya* VRUC 135, un cianobatterio isolato da affreschi della *Domus aurea* a Roma (ALBERTANO, 1991) e l'eventuale loro coinvolgimento nella formazione di legami crociati. Nelle piante l'acido cinnamico porta alla sintesi, in forma di precursori attivati, di tutti i composti fenolici che si vanno a legare ai polimeri di parete e rappresenta pertanto un ottimo marcatore per studiare l'accoppiamento ossidativo (FRY *et al.*, 2000). Dopo 6 ore di incubazione, *Leptolyngbya* VRUC 135 dimostra di essere in grado di assumere acido E-[U-¹⁴C]cinnamico dal mezzo di coltura (~42% dell'uptake), trasformarlo in metaboliti radioattivi che si legano in maniera estere sia agli EPs (0,61% dell'uptake) che agli RPs (0,05% dell'uptake) in modo verosimilmente analogo a quello delle piante superiori. Nella separazione cromatografica dei composti radioattivi rilasciati mediante saponificazione dei polisaccaridi, è evidente la presenza, oltre all'acido cinnamico, anche del ferulico e tracce di cumarico. Si nota, inoltre, l'esistenza in quantità rilevante, di un metabolita radioattivo ignoto, verosimilmente non aromatico. Negli EPs sono inoltre presenti tracce di composti con mobilità cromatografica paragonabile a quelle dei più comuni diferulati riscontrati nelle piante. Qualora tali composti si dimostrassero essere realmente dei prodotti di accoppiamento, essi potrebbero giocare un ruolo strutturale primario nell'assemblaggio della parete cellulare e nell'organizzazione dei rivestimenti esterni di questo cianobatterio. Il loro coinvolgimento nell'aumentare la forza coesiva degli strati extracellulari potrebbe indurre a considerarli come nuovo *target* su cui rivolgere l'attenzione nel tentativo di ridurre la capacità di insediamento sulle superfici murali non solo di questo cianobatterio, ma anche di altri microrganismi che utilizzano i biofilm come substrato di attacco, rendendo più disagiati le delicate opere di restauro.

LETTERATURA CITATA

- ALBERTANO P. 1991 – *Effects of monochromatic lights on four species of Leptolyngbya*. Arch. Hydrobiol., Algol. Studies, 64: 199-214.
- DE PHILIPPIS R., VINCENZINI M., 1998 - *Exocellular polysaccharides from cyanobacteria and their possible applications*. FEMS Microbiol. Rev., 22: 151-175.
- FREY-WYSSLING A., STECHER H., 1954 – *Über den Feinbau des Nostoc-Schleimes*, Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. Abt. Histochem., 39: 515-519.
- FRY S.C., WILLIS S.C., PATTERSON A.E.J. 2000 – *Intraprotoplasmic and wall-localised formation of arabi-*

- noxytan-bound diferulates and larger ferulate coupling-products in maize cell-suspension cultures*. *Planta*, 211: 679-692.
- HOICZYK E., 1998 – *Structural and biochemical analysis of the sheaths of Phormidium uncinatum*. *J. Bacteriol.*, 180: 3923-3932.
- MORVAN H., GLOAGUEN V., VEBRET L., JOSET F., HOFFMANN L., 1997 - *Structure-function investigations on capsular polymers as a necessary step for new biotechnological applications: the case of the cyanobacterium Mastigocladus laminosus*. *Plant Physiol. Biochem.*, 35: 671-683.
- SELTMANN G., HOLST O., 2002. *The bacterial cell wall*. Eds.: Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- SUTHERLAND R.I., TAIT M.I., 1992 – *Biopolymers*. In: J. LEDERBERG, *Encyclopedia of microbiology*, vol. 1: 339-349. Academic Press, San Diego, Calif.
- TEL-OR E., HUFLEJT M.E., PARKER L., 1986 – *Hydroperoxide metabolism in cyanobacteria*. *Arch. Biochem. Biophys.*, 246: 396-402.

Analisi dei polisaccaridi di parete in varietà di pomodoro tradizionali e ad alto contenuto di licopene

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

Tra gli innumerevoli fattori che concorrono nel determinare le caratteristiche qualitative degli alimenti d'origine vegetale, i polisaccaridi di parete (pectine, emicellulose e cellulosa) svolgono un ruolo decisivo nel definire le caratteristiche di consistenza dei prodotti freschi e processati, influenzandone l'aspetto e la percezione sensoriale durante la masticazione. Inoltre, in qualità sia di fibre alimentari sia di composti bioattivi, essi possiedono importanti proprietà salutistiche contribuendo alla riduzione dell'incidenza di numerose malattie metaboliche, alla regolazione delle funzioni gastrointestinali e svolgendo attività antitumorali, antivirali, e antibatteriche (WALDRON *et al.*, 2003).

I processi biochimici che occorrono durante la maturazione a carico dei polisaccaridi di parete sono alla base dei cambiamenti di consistenza di molti frutti. In questo lavoro è stata analizzata la composizione polisaccaridica delle pareti cellulari di quattro varietà di pomodoro a quattro successivi stadi di maturazione: 20, 35, 40 e 45 giorni dopo l'antesi (DPA). Due delle varietà sotto esame (Donald e Incas) sono varietà tradizionali di pomodoro da industria; le altre due (Kalvert e Hly 18) sono, invece, ottenute mediante tecniche di selezione convenzionale per l'alto contenuto di licopene.

Le pareti cellulari purificate delle quattro varietà, ai quattro differenti stadi di maturazione, sono state sottoposte ad un'analisi quali-quantitativa degli zuccheri rilasciati in soluzione mediante digestione con una miscela di endo- ed eso-glicosidasi (Driselasi) in grado di degradare indistintamente tutti i polisaccaridi di parete (FRY, 2000).

Nel corso della maturazione sono state evidenziate solo modeste variazioni nel contenuto totale di zuccheri sia nelle varietà controllo sia in quelle ad alto contenuto di licopene. Glucosio, acido galatturonico, galattosio, mannosio, arabinosio, ramnosio e piccole quantità di altri mono- e disaccaridi sono, in ordine decrescente, i principali prodotti d'idrolisi; essi indicano la presenza di sostanze pectiche del tipo degli omogalatturonani e ramnogalatturonani con catene laterali di arabani, galattani ed arabino-galattani, di polisaccaridi del tipo delle emicellulose e di cellulosa.

La consistente riduzione dell'acido galatturonico e del galattosio, osservata nel corso della maturazione delle bacche di pomodoro, suggerisce una progressiva depolimerizzazione dei polisaccaridi pectici. Le modificazioni a livello di parete cellulare primaria e di lamella mediana durante la maturazione del pomodoro includono, infatti, la solubilizzazione di polisaccaridi ricchi in acido galatturonico e la riduzione di galattosio da frazioni pectiche. Questi cambiamenti contribuiscono alla dissoluzione della lamella mediana ed al rigonfiamento della parete cellulare che comporta il softening del pericarpo e l'aumentata separazione tra le cellule di questo tessuto (SEYMOUR *et al.*, 1990; REDGWELL *et al.*, 1997).

Di minor entità sono le variazioni del contenuto degli zuccheri (xilosio, xilobiosio ed isoprimerosio) costituenti i polisaccaridi di parete del tipo degli xilani e xiloglucani, principali componenti delle emicellulose nelle bacche di pomodoro. L'alto contenuto di mannosio, in tutte le varietà ma, soprattutto, nelle bacche mature della varietà Donald, conferma l'esistenza di un' apprezzabile percentuale di mannani e galattomannani, probabilmente in relazione allo sviluppo dei semi. I galattomannani sono abbondanti nella parete cellulare primaria di solanacee, ma si accumulano anche nell'endosperma dei semi di pomodoro costituendo un importante polisaccaride di riserva (CARRINGTON *et al.*, 2002; O'NEILL, YORK, 2003).

Al progredire della maturazione in tutte le varietà di pomodoro, è stato evidenziato un aumento del glucosio probabilmente determinato da un incremento della quantità di cellulosa.

La valutazione comparativa del contenuto totale degli zuccheri tra le differenti varietà, per ciascuno stadio di maturazione, e le variazioni riscontrate nei singoli zuccheri suggeriscono che il contenuto totale di polisaccaridi nella parete delle bacche di pomodoro non varia durante la maturazione; è, tuttavia, evidente un cambiamento nei rapporti tra le diverse tipologie di polisaccaridi. La riduzione della quantità di polisaccaridi pectici sembra essere compensata da un aumento nella quantità di cellulosa. Ulteriori studi, mirati ad idrolizzare in modo selettivo i polisaccaridi di matrice (pectine ed emicellulose) e la cellulosa, sono necessari per avvalorare questa ipotesi.

È possibile inoltre concludere che le varietà ad alto contenuto di licopene prese in considerazione in questo studio non evidenziano alcuna differenza nella composizione polisaccaridica della parete cellu-

lare rispetto alle varietà controllo e di conseguenza nel loro valore nutrizionale relativo all'apporto di fibre alimentari. Inoltre, è stato evidenziato che, durante la maturazione, i processi metabolici che determinano il rimodellamento strutturale dei polisaccaridi di parete seguono un corso pressoché identico nelle quattro varietà analizzate.

LETTERATURA CITATA

- CARRINGTON C.M.S., VENDRELL M., DOMINGUEZ-PUIGJANER E., 2002 – *Characterisation of an endo-(1,4)-b-mannanase (LeMAN4) expressed in ripening tomato fruit*. *Plant Sci.*, 163: 599-606.
- FRY S.C., 2000 – *The growing plant cell wall: chemical and metabolic analysis*. The Blackburn Press, Caldwell, New Jersey.
- O'NEILL M.A., YORK W.S., 2003 – *The composition and structure of plant primary cell walls*. In: ROSE J.K.C. (Ed.), *The plant cell wall*: 1-54. Blackwell, Oxford, U.K.
- REDGWELL R.J., MACRAE E., HALLETT I., FISHER M., PERRY J., HARKER R., 1997 – *In vivo and in vitro swelling of cell walls during fruit ripening*. *Planta*, 203: 162-173.
- SEYMOUR G.B., COLQUHOUN I.J., DUPONT M.S., PARSELY K.R., SELVENDRAN R., 1990 – *Composition and structural features of cell wall polysaccharides from tomato fruits*. *Phytochem.*, 29: 725-731.
- WALDRON K.W., PARKER M.L., SMITH A.C., 2003 – *Plant cell walls and food quality*. *CRFSFS*, 2: 101-119.

Questo lavoro è stato finanziato con fondi MIUR 7885/55 PAR 2001 e del Progetto Co.Al.Ta.

Produzione di bioetanolo dai reflui dei processi di trasformazione del pomodoro

M. DURANTE, M. LENUCCI, A. CACCIOPPOLA, L. SERRONE, G. PIRO e G. DALESSANDRO. Di.S.Te.B.A., Università del Salento.

A livello mondiale è ormai diffusa la consapevolezza della necessità di trovare forme alternative di energia. L'utilizzo delle biomassa come fonte di energia rappresenta un *target* di primaria importanza; questa fonte di energia alternativa andrebbe ad aggiungersi a quella solare, eolica e a quella che sfrutta il movimento delle maree. Diversi sono i punti che sostengono lo sviluppo di programmi di energia alternativa ottenuta attraverso la trasformazione delle biomasse: a) le biomasse sono sempre localmente disponibili; b) l'allestimento di colture per la produzione di biomassa crea nuove opportunità di lavoro nelle aree rurali; c) l'utilizzo di residui agro-industriali in bioprocessi contribuisce a risolvere, in parte, il problema dei rifiuti; d) la bioenergia può contribuire ad uno sviluppo sostenibile (MONIQUE *et al.*, 2003). L'utilizzo più rapido delle biomasse consiste nella loro fermentazione ad etanolo. Negli Stati Uniti è abbastanza diffusa la produzione di etanolo dalla fermentazione del glucosio sfruttando la grande percen-

tuale di biomassa non utilizzata delle piantagioni di mais, mentre in Brasile è più diffuso l'utilizzo del saccarosio estratto dalla barbabietola da zucchero. La tecnologia di base per la fermentazione delle biomasse ad etanolo è, per molti aspetti, ben nota anche se il sistema si presta a notevoli possibilità di miglioramento in funzione dei progressi della ricerca in campo microbiologico, molecolare e tecnologico. Recentemente, la nostra attenzione è stata rivolta alla produzione di una matrice biologica ottenuta da bacche di pomodoro idonea all'estrazione del licopene con CO₂ supercritica. La preparazione di questa matrice comporta la produzione di alcune tipologie di reflui con grandi potenzialità di utilizzo biotecnologico. È ben noto che le bacche di pomodoro sono caratterizzate da un elevato contenuto di acqua (-93%), carboidrati (-3%), proteine (-1%), polisaccaridi (-1,8%) e grassi (-0,2%). Proteine e grassi sono fondamentalmente localizzati nei semi. Durante la preparazione della matrice biologica liofilizzata da utilizzare per l'estrazione con CO₂ supercritica è indispensabile sottoporre l'omogenato di pomodoro a centrifugazione per separare gli aggregati cellulari dalla frazione solubile. Quest'ultima rappresenta circa l'80% in peso dell'omogenato totale e risulta fondamentalmente ricca di zuccheri, acidi organici e sali minerali. Attraverso HPAE-PAD (High pH Anion Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detector) è stata effettuata un'analisi quali-quantitativa degli zuccheri presenti nella frazione solubile. Le indagini sono state condotte su due cv di pomodoro: sulla cv Donald, normalmente utilizzata per la trasformazione industriale del pomodoro, e la cv Hly 18, caratterizzata da un elevato contenuto di licopene. Le due cv non differiscono significativamente nel contenuto di zuccheri totali che sono pari a circa 17 mg/ml nella cv Donald e a circa 20 mg/ml nella cv Hly 18. Gli zuccheri identificati sono glucosio e fruttosio, presenti in concentrazioni pressoché simili.

La frazione solubile di ciascuna cv è stata sottoposta a fermentazione utilizzando *Saccharomyces cerevisiae* immobilizzato su una matrice di alginato di sodio (ZAYED, 1997). Il *time course* del consumo di zuccheri determinati attraverso l'analisi del substrato ha evidenziato che il glucosio viene metabolizzato più velocemente del fruttosio. Il consumo totale degli zuccheri si ha approssimativamente tra le 12 e 15 ore di fermentazione. La frazione solubile ottenuta con la cv Hly 18 richiede un tempo di fermentazione maggiore rispetto alla cv Donald forse per la presenza di specifici metaboliti che interferiscono con i processi fermentativi. Sui fermentati il contenuto di alcool teorico è dell'1,1% nella cv Donald e dell'1,29% nella cv Hly 18. Ricerche sono in corso per ottimizzare il sistema.

LETTERATURA CITATA

- MONIQUE H., FAAIJ A., VAN DEN BROEK R., BERNDES G., GIELEN D., TURKENBURG W., 2003 – *Exploration of the ranges of the global potential of biomass for energy*. *Biomass Bioenergy*, 25: 119-133.

ZAYED G., 1999 – *Production of alcohol from sugar beet molasses without heat or filter sterilization*. J. Indust. Biotechnol., 19: 39-42.

Questo lavoro è stato finanziato con fondi MIUR 7885/55 PAR 2001

Valutazione del contenuto di licopene e β -carotene in bacche di pomodoro

A. CACCIOPPOLA, M. DURANTE, L. SERRONE, G. PIRO e G. DALESSANDRO. Di.S.Te.B.A., Università del Salento.

Il consumo di pomodoro e dei suoi derivati nella dieta umana viene associato con la riduzione del rischio di insorgenze di alcune forme tumorali, malattie dell'apparato cardiovascolare, diabete, sclerosi multipla, artride reumatoide, morbo di Parkinson, morbo di Alzheimer. Tali proprietà benefiche sono associate all'elevato contenuto di carotenoidi nelle bacche di pomodoro, in particolare di β -carotene e licopene, che svolgono un ruolo importante nell'inibire le reazioni mediate dalle specie reattive dell'ossigeno (ROS), coinvolte nelle patologie sopraelencate (CLINTON, 1998).

Il licopene è il carotenoide che conferisce il caratteristico colore rosso alle bacche di pomodoro mature. È stato dimostrato che questo carotenoide ha il più alto potere di *quencing* dei radicali liberi e per questa ragione ha la più alta attività antiossidante tra gli antiossidanti assunti con la dieta (GEORGE *et al.*, 2004).

Il β -carotene svolge la sua attività antiossidante come precursore della vitamina A, importante per la prevenzione di patologie legate alla vista (SIES, KRINSKY, 1995).

Oggetto di questa ricerca è stata la valutazione della variazione del contenuto di licopene e β -carotene durante la maturazione delle bacche di pomodoro. Le analisi sono state condotte su bacche della cv Donald prelevate a quattro differenti stadi di maturazione: 20 DPA (*Day Post Anthesis*), 35 DPA, 40 DPA e 45 DPA, che indicano rispettivamente la maturazione dopo 20, 35, 40 e 45 giorni dalla fioritura della pianta. Nello stadio 20 DPA il contenuto di licopene nelle bacche è molto basso, $0,21 \pm 0,04$ mg/kg matrice fresca, nello stadio di maturazione 35 DPA il valore è di $8,95 \pm 0,18$ mg/kg matrice fresca, per aumentare a un valore pari a $102,52 \pm 1,76$ mg licopene/kg matrice fresca a completa maturazione (45 DPA).

Parallelamente al contenuto di licopene, è stata valutata la variazione nella quantità di β -carotene, negli stessi stadi di maturazione delle bacche. A 20 DPA il valore di β -carotene è pari a $1,15 \pm 0,07$ mg/kg matrice fresca e non subisce evidenti variazioni a 35 DPA ($1,09 \pm 0,02$ mg/kg matrice fresca); i valori di β -carotene iniziano ad aumentare a 40 DPA ($1,87 \pm 0,01$ mg β -carotene/kg matrice fresca) e a 45 DPA ($3,58 \pm 0,06$

mg β -carotene/kg matrice fresca).

Dai dati riportati si evince che la biosintesi e l'accumulo di licopene aumentano durante la maturazione delle bacche di pomodoro di circa 500 volte, mentre il contenuto di β -carotene, rimane a livelli più bassi pur aumentando di circa tre volte nello stadio di completa maturazione.

Maggiori conoscenze su biosintesi e accumulo di licopene durante gli eventi di maturazione rappresentano un parametro importante che, se riportato come valore caratteristico per le diverse cultivar, può indirizzare la scelta del momento più idoneo per la trasformazione industriale delle bacche al fine di ottenere prodotti (passate, pelati, sughi) con maggiore valore nutrizionistico.

LETTERATURA CITATA

CLINTON S.K., 1998 - *Lycopene: chemistry, biology, and implication for human health and disease*. Nutr. Rev. 56: 35-51.

GEORGE B., KAUR C., KHURDIYA D.S. e KAPOOR H.C. 2004 - *Antioxidant in tomato (Lycopersicon esculentum) as a function of genotype*. Food Chem., 84: 45-51.

SIES H., KRINSKY N.I., 1995 - *Antioxidant vitamins and β -carotene in disease prevention*. Am. J. Clin. Nutr., 62: 1299S-1540S.

Questo lavoro è stato finanziato con fondi MIUR 7885/55 PAR 2001

Isolamento e caratterizzazione di plastidi isolati da bacche di pomodoro

L. SERRONE, A. CACCIOPPOLA, M. DURANTE, G. PIRO e G. DALESSANDRO. Di.S.Te.B.A., Università del Salento.

Il processo di maturazione del pomodoro comporta una serie di variazioni morfologiche, fisiologiche e biochimiche tra le quali l'ammorbidimento del frutto dovuto alla parziale idrolisi dei componenti polisaccaridici della parete cellulare e l'alterazione del metabolismo di acidi organici e zuccheri. Durante la maturazione della bacca di pomodoro si osserva il viraggio di colore dal verde al rosso dovuto alla conversione dei cloroplasti in cromoplasti. Questa conversione determina drastici cambiamenti morfologici e funzionali che implicano il disassemblaggio delle membrane tilacoidali, la perdita della clorofilla e la sintesi e l'accumulo di carotenoidi, in particolare di licopene (ALEXANDER, GRIERSON, 2002; WATERS *et al.*, 2004). Scopo di questa ricerca è stato quello di isolare e caratterizzare i plastidi a differenti stadi di maturazione delle bacche di pomodoro. Le indagini sono state condotte sulla cv Incas, tradizionalmente utilizzata per scopi industriali. In base al colore delle bacche sono stati individuati quattro stadi di maturazione: verde, verde-arancio, arancio-rosso, rosso; per ogni stadio è stato valutato il contenuto di lipidi e di carotenoidi ed analizzato il profilo proteico.

L'analisi dei lipidi neutri (trigliceridi, digliceridi e acidi grassi) ha evidenziato che, durante la conversione da cloroplasto a cromoplasto, il contenuto di trigliceridi si riduce notevolmente passando da $197,94 \pm 46,56 \mu\text{g}/\text{mg}$ di proteine plastidiali nella bacca verde a $63,93 \pm 4,14 \mu\text{g}/\text{mg}$ di proteine plastidiali nella bacca rossa. Il contenuto di digliceridi aumenta del 43% tra lo stadio verde e quello verde-arancio e rimane pressoché costante negli ultimi due stadi. Gli acidi grassi mostrano una riduzione del 40% tra il primo e il secondo stadio di maturazione per poi ritornare al valore iniziale negli stadi arancio-rosso e rosso. L'analisi qualitativa al gas-cromatografo ha evidenziato che, in tutti e quattro gli stadi, i plastidi contengono acidi grassi del tipo: C:14, C:16, C:18:0, C:18:1, C:18:2, C:18:3. Tra questi, maggiormente rappresentati sono i C:16, C:18:0, C:18:2, che rappresentano rispettivamente il 34%, 21% e 20% nello stadio verde; il 41%, 16% e 14% nello stadio verde-arancio; il 50%, 24% e 20% nello stadio arancio-rosso e, nello stadio rosso, il 46%, 24% e 20%. Il contenuto di fosfolipidi aumenta progressivamente con la maturazione del pomodoro passando da $39,34 \pm 5,00 \mu\text{g Pi}/\text{mg}$ a $296,51 \pm 18,00 \mu\text{g Pi}/\text{mg}$ di proteine plastidiali. Il contenuto di steroli è pari a $31,52 \pm 2,93 \mu\text{g}/\text{mg}$ di proteine plastidiali stadio verde, aumenta di circa due volte tra lo stadio verde e quello verde-arancio, rimane pressoché costante tra lo stadio verde-arancio e arancio-rosso, ed aumenta del 40% nello stadio rosso.

Su tutti e quattro gli stadi di maturazione è stato determinato il contenuto di licopene, β -carotene e luteina. Il licopene aumenta progressivamente passando da $0,06 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{mg}$ di proteine plastidiali nello stadio verde a $154,70 \pm 14,95 \mu\text{g}/\text{mg}$ di proteine plastidiali nello stadio rosso. β -carotene e luteina sono presenti in quantità più basse rispetto al licopene; vengono accumulati fondamentalmente nello stadio verde-arancio con valori rispettivamente di $6,37 \pm 0,67$ e di $7,10 \pm 0,99 \mu\text{g}/\text{mg}$ di proteine plastidiali.

Nei quattro stadi di maturazione è stato analizzato il profilo proteico plastidiale mediante SDS-PAGE. I quattro pattern proteici evidenziano variazioni qualitative e quantitative delle diverse bande proteiche. In particolare, due bande di 68,0 kDa e 12,3 kDa sono tipiche dello stadio verde; una banda di 58,2 kDa è tipica degli stadi verde e verde-arancio mentre una banda di 41,6 kDa è caratteristica degli stadi arancio-rosso e rosso. Una banda di 43,0 kDa e quelle comprese nel range di 20,0 kDa e 17,0 kDa mostrano una marcata riduzione passando dallo stadio verde al rosso; le bande di 37,4 kDa, di 16,5 kDa e quelle comprese tra 15,0 kDa e 13,0 kDa vengono conservate durante la conversione dallo stadio verde al rosso. La riduzione di alcune bande proteiche potrebbe indicare che si tratti di proteine residuali dell'apparato fotosintetico. Le bande proteiche che invece vengono conservate durante il differenziamento dei cloroplasti in cromoplasti potrebbero essere coinvolte nella sintesi dei carotenoidi che ha inizio già nel cloroplasto.

Dalle varie analisi effettuate è emerso che, durante la

maturazione del pomodoro, si ha una modulazione, a livello plastidiale, del contenuto lipidico e proteico ed un notevole aumento nella sintesi ed accumulo di licopene.

LETTERATURA CITATA

- ALEXANDER L., GRIERSON D., 2002 – *Ethylene biosynthesis and action in tomato: a model for climacteric fruit ripening*. J. Experim. Bot. Fruit Development and Ripening Special Issue, 53: 2039-2055.
WATERS M.T., FRAY R.G., PYKE K.A., 2004 – *Stromule formation is dependent upon plastid size, plastid differentiation status and the density of plastids within the cell*. Plant J., 39: 655-667.

Questo lavoro è stato finanziato con fondi MIUR 7885/55 PAR 2001

Regolazione dello stato redox in bacche di pomodoro che esprimono il gene per la stilbene sintasi di vite

A. PARADISO¹, G. GIOVINAZZO² e L. DE GARA¹.
¹Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale, Università di Bari; ²CNR-ISPA, Lecce.

Tra i phytochemicals negli ultimi anni ha riscosso particolare interesse il resveratrolo (3,4',5 triidrossi-stilbene), uno stilbene sintetizzato dalla vite, soprattutto in risposta ad alcune condizioni di stress. La via biosintetica del resveratrolo si inserisce nella complessa rete metabolica dei fenoli: l'ultima tappa della sintesi del resveratrolo è catalizzata dalla stilbene sintasi (StSy) che utilizza lo stesso substrato della calcione sintasi (CSH), enzima della catena biosintetica dei flavonoidi. Poiché il resveratrolo è prodotto a concentrazioni interessanti solo nella vite, è stato posto l'obiettivo di manipolare il metabolismo secondario del pomodoro, per arricchirlo anche di resveratrolo, a beneficio della salute dei consumatori.

Le piante di pomodoro non esprimono la stilbene sintasi, per cui sono prive di resveratrolo; tuttavia sintetizzano il substrato di questo enzima, che è anche substrato per la calcione sintasi (CHS). Usando un cDNA per la stilbene sintasi isolato dalla vite sono state ottenute piante di pomodoro in grado di sintetizzare resveratrolo (GIOVINAZZO *et al.*, 2005). Nella costruzione del plasmide sono stati utilizzati due tipi di promotori: uno costitutivo (35S del virus del mosaico del cavolfiore) ed uno maturazione dipendente (Lox, promotore per la lipossigenasi). Dalle piante di entrambe le linee sono stati raccolti i frutti nelle diverse fasi della maturazione. Analisi in HPLC hanno evidenziato che entrambe le linee trasformate sono capaci di sintetizzare resveratrolo ma, mentre nelle bacche delle piante 35S la sintesi è significativa sin dall'inizio della maturazione, nella linea trasformata Lox l'accumulo dello stilbene avviene in una fase ritardata e con valori assoluti minori. Considerate le proprietà antiossidanti del resveratro-

lo sono stati studiati gli antiossidanti tipicamente presenti nel pomodoro: questo tipo di approccio oltre a fornire parametri utili per valutare l'efficacia dell'intervento biotecnologico, permette di ampliare le conoscenze sul controllo dello stato redox cellulare. I dati ottenuti dimostrano che la presenza di resveratrolo conferisce al frutto una maggiore proprietà antiossidante totale, che è dovuta in parte al resveratrolo stesso, in parte agli aumentati livelli di ascorbato e glutazione presenti nei frutti delle piante trasformate. Le variazioni a carico del sistema ascorbato-glutazione sono proporzionali al resveratrolo sintetizzato: sono significative in tutte le fasi di maturazione delle bacche della linea 35S; nella linea Lox si registrano delle variazioni rispetto al wt solo a maturazione avviata, quando inizia la sintesi del resveratrolo. Il meccanismo con cui il resveratrolo interferisce sul metabolismo degli antiossidanti primari della cellula non sono ancora chiari: tra le vie biosintetiche del resveratrolo e quelle dell'ascorbato o del glutazione non esistono punti di interconnessione che possano suggerire che l'alterazione del flusso di intermedi nelle vie biosintetiche dei fenoli possa determinare, in modo più o meno diretto, una alterazione della biosintesi di ascorbato o di glutazione. È più probabile che la presenza di un antiossidante normalmente non presente nei frutti, quale è il resveratrolo, limiti l'utilizzo (e quindi il consumo) di ascorbato e glutazione in reazioni non enzimatiche. Un'altra spiegazione che tiene conto anche delle alterazioni osservate nelle attività di enzimi coinvolti nei meccanismi di difesa, è che le cellule trasformate percepiscano la presenza di resveratrolo come un segnale di stress. A tale proposito è interessante osservare che un aumento di glutazione potrebbe essere anche collegato alla necessità di traslocare il resveratrolo nel vacuolo. È infatti noto che uno dei meccanismi di difesa attivato dagli organismi vegetali quando molecole estranee vengono assorbite dalle loro cellule è la compartimentalizzazione nel vacuolo della molecola estranea. Questo processo richiede la coniugazione della molecola con il glutazione e l'attivazione di opportuni trasportatori che traslocano il glutazione legato ad altre molecole nel vacuolo. Le correlazioni ottenute tra i livelli di resveratrolo e l'entità di aumento dei livelli di ASC e GSH supportano l'ipotesi che le alterazioni indotte sui sistemi antiossidanti siano realmente la conseguenza della sintesi di resveratrolo e non semplicemente la conseguenza di una alterazione genica aspecifica, determinata dall'inserimento di un vettore, contenente il gene della stilbene sintasi, in una particolare regione del genoma di pomodoro.

LETTERATURA CITATA

GIOVINAZZO G., D'AMICO L., BELLOMO M.P., PARADISO A., BOLLINI R., SPARVOLI F., DE GARA L., 2005 – *Antioxidant metabolite profiles in tomato fruits constitutively expressing grapevine stilbene synthase gene*. Plant Biotech. J., 3: 57-69.

Metabolismo dei fruttani durante il corso della maturazione della cariosside di frumento

E. GRECO¹, A. PARADISO¹, M.G. D'EGIDIO² e L. DE GARA¹. ¹Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale, Università di Bari. ²Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura, Roma.

I fruttani sono polisaccaridi costituiti prevalentemente da fruttosio; la loro struttura è specie specifica e le molecole si differenziano per il tipo di legame glicosidico tra le diverse unità di fruttosio (tipo β 2-1 o β 2-6), per il grado di polimerizzazione e per la presenza/assenza di ramificazioni laterali.

I fruttani sono classificati come prebiotici poiché, arrivando intatti all'intestino, promuovono la crescita di batteri benefici quali *Lattobacilli* e *Bifidobatteri*. Il ruolo dei fruttani nel metabolismo vegetale non è ancora totalmente chiaro: sicuramente rappresentano una forma di riserva di carboidrati più versatile rispetto all'amido e al saccarosio ma sembrano anche essere legati alla tolleranza allo stress (YANG *et al.*, 2004). In condizioni di stress termico i fruttani, interagendo con le membrane, le stabilizzano mediante meccanismi non ancora noti; in condizioni di stress idrico assumono una funzione importante come osmoliti. Un ruolo chiave, in questo caso, è svolto dall'enzima fruttano esoidrolasi (FEH) che, idrolizzando in modo specifico i legami presenti tra le unità di fruttosio, modula il grado di polimerizzazione dei fruttani, contribuendo così all'osmoregolazione.

Il nostro gruppo di ricerca sta studiando il metabolismo dei fruttani nella cariosside di frumento. I risultati finora ottenuti indicano che durante le prime fasi della maturazione le cariossidi sono particolarmente ricche in fruttani. Con il procedere della maturazione e del processo di disidratazione la cariosside subisce profonde modificazioni metaboliche (DE GARA *et al.*, 2003) che riguardano anche il contenuto dei fruttani: si osserva, infatti, oltre ad un drastico calo del pool totale di fruttani anche un cambiamento nel loro grado di polimerizzazione.

Al fine di ottenere maggiori informazioni sui meccanismi che portano a tale decremento è stata analizzata l'attività degli enzimi coinvolti nel metabolismo dei fruttani, in particolare quella della 1-fruttano esoidrolasi. La 1-FEH sembra avere attività differenziate a seconda dello stato di maturazione della cariosside. I cambiamenti osservati nell'attività possono in parte spiegare le differenze nei livelli di fruttani nelle varie fasi della maturazione della cariosside.

In questo lavoro è stata anche valutata l'attività di sintesi dei fruttani. I dati ottenuti indicano che la cariosside è capace di sintetizzare autonomamente fruttani e che l'attività biosintetica è più elevata durante le prime fasi della maturazione per poi calare negli stadi più avanzati.

Risulta necessario uno studio più approfondito delle componenti metaboliche che portano alla sintesi e all'accumulo di fruttani, al fine di ottimizzarne la resa e la qualità.

LETTERATURA CITATA

- DE GARA L., DE PINTO M.C., MOLITERNI V.M., D'EGIDIO M.G., 2003 - *Redox regulation and storage processes during maturation in kernels of Triticum durum*. J. Exp. Bot., 53: 249-258.
- YANG J., ZHANG J., WANG Z., ZHU Q., LIU L., 2004 - *Activities of fructan and sucrose metabolizing enzymes in wheat stems subject to water stress during grain filling*. Planta, 220: 331-343.

Ruolo degli isoenzimi di ascorbato perossidasi nella risposta allo shock termico

M.C. DE PINTO¹, V. LOCATO¹, M. VISICCHIO¹ e L. DE GARA^{1,2}. ¹Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale, Università di Bari. ²Interdisciplinary Center for Biomedical Research (CIR) Università Campus Biomedico.

Le piante frequentemente sono sottoposte a condizioni ambientali che incidono negativamente sul loro sviluppo e produttività, quali fattori chimico-fisici presenti sfavorevoli, presenza di organismi patogeni o predatori. Un aspetto comune ad un ampio numero di condizioni di stress consiste in un'augmentata produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) nelle cellule vegetali che determina uno stress ossidativo (MITTLER *et al.*, 2004). Secondo la situazione affrontata dalla pianta, i cambiamenti nella produzione di ROS possono attivare delle risposte contrastanti: un aumento o una diminuzione nei sistemi di eliminazione di ROS; attraverso queste risposte viene garantita la sopravvivenza delle cellule o ne viene indotta la morte (MITTLER, 2002).

Tra i sistemi enzimatici di rimozione delle ROS attivi nelle cellule vegetali un ruolo chiave è svolto dall'ascorbato perossidasi (APX) (SHIGEOKA *et al.*, 2002). Questo enzima elimina il perossido di idrogeno utilizzando come donatore di equivalenti riducenti l'ascorbato.

Stiamo attualmente studiando le variazioni degli isoenzimi di APX (citosolici, plastidiali e mitocondriali) in colture cellulari di tabacco della linea Bright Yellow-2 sottoposte a diverse condizioni di shock termico.

Per l'induzione dello shock termico le cellule che normalmente crescono a 27°C sono state esposte per 10 minuti a 35°C o a 55°C e successivamente riportate alla loro normale temperatura di crescita.

L'esposizione delle cellule a 35°C non ne altera la vitalità cellulare mentre già dopo due ore dallo shock termico a 55°C le cellule presentano una riduzione statisticamente significativa della loro vitalità, che risulta del 50 % dopo 24 ore dall'inizio del trattamento. Inoltre, le cellule che sono andate incontro a morte presentano caratteristiche tipiche della morte cellulare programmata (PCD), quali restringimento del protoplasto, condensazione della cromatina e presenza di DNA laddering.

Nelle due condizioni di shock termico il comporta-

mento dell'APX è diverso: l'esposizione a 35°C ne determina un aumento, evidente soprattutto nelle prime 4 ore che seguono il trattamento, mentre dopo il trattamento a 55°C vi è un rapido calo della sua attività.

Il calo di attività dell'APX nelle cellule esposte a 55°C potrebbe quindi contribuire all'induzione della PCD, permettendo il burst ossidativo che si verifica come evento precoce. L'aumento di attività di questo enzima dopo l'esposizione a 35°C potrebbe, invece, essere finalizzato a mantenere bassi i livelli cellulari di ROS e rappresentare un meccanismo di difesa che le cellule mettono in atto per sopravvivere.

Poiché l'APX è presente in diversi organuli cellulari (JESPERSEN *et al.*, 1997) abbiamo analizzato il comportamento dei diversi isoenzimi durante lo shock termico, per determinare il contributo dei diversi compartimenti cellulari in questo processo.

I dati ottenuti mettono in evidenza come l'aumento di attività di APX osservato a 35°C è dovuto solo ad un aumento di attività delle isoforme citosoliche. I nostri risultati quindi, suggeriscono che gli isoenzimi mitocondriali e plastidiali non partecipano a questa risposta di difesa.

Lo shock termico a 55°C invece determina una inattivazione di APX in tutti i compartimenti cellulari analizzati. Abbiamo anche evidenziato che durante la PCD indotta da shock termico a 55°C, l'APX citosolica è regolata a livello trascrizionale, traduzionale e post-traduzionale.

LETTERATURA CITATA

- JESPERSEN H.M., KJAERSGARD I.V.H., OSTERGARD L WELINDER K.G. 1997 - *From sequence analysis of three novel ascorbate peroxidase from Arabidopsis Thaliana to structure, function and evolution of seven types of ascorbate peroxidase*. Biochem J., 326: 305-310.
- MITTLER R. 2002 - *Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance*. Trends Plant Sci., 7: 405-410.
- MITTLER R., VANDERAUWERA S., GOLLERY M., VAN BREUSEGEM F. 2004 - *Reactive oxygen gene network of plants* Trends Plant Sci., 9: 490-498.
- SHIGEOKA S., ISHIKAWA T., TAMOI M., MIYAGAWA Y., TAKEDA T., YABUTA Y., YOSHIMURA K. 2002 - *Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes*. J. Exp. Bot., 53: 1305-1319.

Dati preliminari sulla induzione e sviluppo di gemme laterali durante la micropropagazione di *Ficus lyrata* Warb

C. GADALETA, G. BORRACCINO, F. TOMMASI e L. MASTROPASQUA. Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale, Università di Bari.

Ficus lyrata Warb. è una specie originaria dell'Africa, molto diffusa e pregevole dal punto di vista ornamentale per le sue foglie a forma di lira. Presenta un fusto eretto, non ramificato, che cresce in vaso fino a raggiungere un'altezza di due metri (WAGNER *et al.*, 1999). Le piante durante la crescita perdono le foglie

basali e, a causa della mancanza di ramificazioni del fusto, assumono un aspetto poco gradevole. Viene riprodotta e moltiplicata per talea con impiego notevole di spazi e con lunghi tempi di permanenza in serra. La micropropagazione sicuramente apporterebbe dei vantaggi in termini di tempo e spazio e consentirebbe in futuro di selezionare delle piante con ramificazioni del fusto che ne manterrebbero l'aspetto più gradevole nel tempo, con notevoli vantaggi per la commercializzazione. In letteratura esistono pochi dati relativi alla micropropagazione di questa specie e nessuno di questi riporta l'ottenimento di piante con fusto ramificato (JONA, GRIBAUDO, 1987, 1988). Scopo di questo lavoro è la messa a punto di un protocollo di micropropagazione che consenta di ottenere in tempi brevi: abbondante callo, veloce organogenesi con produzione di germogli multipli e soprattutto piante provviste di gemme ascellari attive, che possano determinare, anche nella giovane pianta, un fusto ramificato. Espianti di varie parti del fusto e della foglia sono stati posti in terreni di coltura con diversi rapporti auxine/citochinine. In accordo con precedenti studi (DEBERGH, 1977), l'organo più idoneo alla callogenesi è risultato essere la foglia e in particolare la parte basale della nervatura centrale. Dati preliminari, invece, riguardano la comparsa di callo, dopo solo 10 giorni e in grande quantità, in materiale cresciuto in presenza di alte concentrazioni di auxine: NAA 26,85 µM o 32,22 µM + BA 3,10 µM o 4,43 µM. Le stesse concentrazioni di NAA con l'aggiunta di Kinetina 4,64 µM o 2iP 4,92 µM stimolano anche una notevole rizogenesi. La formazione di numerosi germogli è stata ottenuta con il trasferimento del callo su terreno arricchito di citochinine. Risulta particolarmente efficace l'aggiunta al mezzo di coltura di BA alla concentrazione di 23 µM. Subculture così ottenute presentano in alcuni casi piantine con fusto ramificato. L'aggiunta di gibberelline, non produce effetti positivi; trattamenti con luce rossa o blu non stimolano né callogenesi né organogenesi.

LETTERATURA CITATA

- DEBERGH P., 1977. – *Mass propagation of Ficus lyrata*. Acta Horticulturae, 78: 361-364.
- JONA R., GRIBAUDO I., 1987. – *Adventitious bud formation from leaf explants of Ficus lyrata*. Hort. Sci., 22: 651-653.
- , 1988. – *Intensive propagation procedure of Ficus lyrata by in vitro culture*. Acta Horticulturae, 227: 390-392.
- WAGNER W.L., HERBST, SOHMER S.H., 1999. – *Manual of the Flowering Plants of Hawaii*. 2° vols. Bishop Museum Special Publication 83, University of Hawaii and Bishop Museum Press, Honolulu, HI.

Dati preliminari sulle risposte di alcuni sistemi antiossidanti in foglie di *Cynara cardunculus* ssp. *scolymus* L. micorrizzato con il fungo *Glomus viscosum* Nicolson

M.P. IPPOLITO, F. TOMMASI, F. CICCARESE e C.

PACIOLLA. Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale, Università di Bari.

Nell'ambito della rizosfera molto diffusi sono i rapporti simbiotici piante-funghi che vanno sotto il nome di micorrize. I funghi micorrizici arbuscolari (MA) stabiliscono simbiosi mutualistiche con la maggior parte delle piante terrestri e sono distribuiti in tutti gli ecosistemi (SMITH, READ, 1996). Le piante ospiti dei funghi MA mostrano non solo maggiore crescita, ma anche una più alta tolleranza agli stress biotici ed abiotici ed un aspetto più rigoglioso rispetto alle piante non micorrizzate (AZCÓN-AGUILAR, BAREA, 1996). Studi recenti hanno dimostrato che l'inoculazione del fungo MA *Glomus viscosum* Nicolson ceppo A6 su plantule di carciofo micropropagate *in vitro* ha aumentato l'attecchimento in campo delle piante e determinato un più rapido accrescimento e maggiore vigore delle stesse con un più alto tasso di emissione di foglie e produzione di capolini. Le piantine inoltre presentano minori rischi di attacchi patogeni fogliari e tale effetto di protezione sembra derivi da cambiamenti di costituenti biochimici che i funghi micorrizici determinano durante la colonizzazione delle radici (CICCARESE *et al.*, 2006). In letteratura non sono presenti dati riguardanti l'analisi di sistemi antiossidanti sulla parte aerea di piante micorrizzate, anche se è noto che in radici di piante di fagiolo (ARINES *et al.*, 1994) e in alcuni frutti di alcune specie arbustive micorrizzate (ALGUACIL *et al.*, 2003) si sono verificate variazioni dei sistemi antiossidanti. Scopo del presente lavoro è stato lo studio dell'effetto della micorrizzazione nei confronti di alcuni sistemi antiossidanti. In particolare abbiamo effettuato l'analisi delle componenti del ciclo ascorbato-glutatione, sistema che riveste un importante ruolo di difesa nella cellula vegetale (NOCTOR, FOYER, 1998), e abbiamo valutato l'attività di altri sistemi antiossidanti enzimatici quali catalasi, superossido dismutasi e perossidasi generiche (POD) in foglie di *Cynara cardunculus* ssp. *scolymus* L. micorrizzato con il fungo MA *Glomus viscosum* N. e foglie dello stesso ortaggio non micorrizzato come controllo. I nostri dati, anche se preliminari, indicano che in tale micorrizzazione c'è un coinvolgimento del ciclo ascorbato-glutatione e di altri sistemi antiossidanti quali le POD. Da quanto analizzato possiamo affermare che *Cynara scolymus*, a seguito della micorrizzazione con il fungo *Glomus viscosum*, mostra un maggior contenuto di glutazione ed un aumento dell'attività di alcuni antiossidanti enzimatici, quali ascorbato perossidasi, glutazione riduttasi, POD. Benché l'interazione pianta-fungo sia complessa e regolata da numerosi fattori, il potenziamento di alcuni antiossidanti determinerebbe un aumento delle capacità di difesa della pianta da stress sia abiotici che biotici. L'incremento di alcuni sistemi antiossidanti da noi riscontrato nelle foglie, potrebbe far pensare ad una risposta della pianta di tipo sistemico in cui potrebbero essere coinvolte le specie reattive dell'ossigeno (ROS) (NOCTOR, FOYER, 1998).

Pertanto, come prossimo obiettivo ci proponiamo di quantificare le ROS per poter riscontrare le loro eventuali variazioni anche a livello fogliare.

LETTERATURA CITATA

- ALGUACIL M.M., HERNANDEZ J.A., CARAVACA F., PORTILLO B., ROLDAN A., 2003 – *Antioxidant enzyme activities in shoots from three mycorrhizal shrub species afforested in a degraded semi-arid soil*. *Physiologia Plantarum*, 118: 562-570.
- ARINES J., QUINTELA M., VILARINO A., PALMA J.M., 1994 – *Protein pattern and superoxide dismutase activity in non-mycorrhizal and arbuscular mycorrhizal Pisum sativum plants*. *Plant Soil*, 166: 37-45.
- AZCÓN-AGUILAR C., BAREA J.M., 1996 – *Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens - An overview of the mechanisms involved*. *Mycorrhiza*, 6: 457-464.
- CICCARESE F., LONGO G., PACIOLLA C., SCHIAVONE D., MORONE FORTUNATO I., 2006 – *Effetto di funghi micorrizici verso la verticilliosi del carciofo*. Il Carciofo: dal laboratorio al mercato. Convegno Conclusivo Progetto MiPAF "Carciofo". Roma, 19-21 Aprile 2006: 82-84.
- NOCTOR G., FOYER C.H., 1998 – *Ascorbate and Glutathione: keeping active oxygen under control*. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 49: 249-79.
- SMITH S.E., READ D.J., 1996 – *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, San Diego, California.

Brevi note sulla biologia dei semi di *Ginkgo biloba* L.

R. REDDAVIDE, M.P. IPPOLITO, C. PACIOLLA e F. TOMMASI. Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale, Università di Bari.

Ginkgo biloba L. è una delle piante più antiche che si conoscano e viene comunemente indicata come "fossile vivente" (MAJOR, 1967). Benché tale specie sia stata oggetto di numerosi studi dalla sua prima descrizione, attribuita a Linneo, numerosi aspetti della sua biologia riproduttiva non sono ancora ben chiari (TOMMASI *et al.*, 2006). Da alcuni autori viene considerata "prefanerogama" o "ovipara" perché tra impollinazione e fecondazione intercorrono mesi e i semi cadono dalla pianta madre non ancora fecondati (EMBERGER, 1942; FAVRE-DUCHARTRE 1943, 1958). Secondo tali autori, la fecondazione avviene lontano dalla pianta madre, lo sviluppo dell'embrione si completa alcuni mesi dopo il distacco da essa e il seme raggiunge la massima capacità germinativa nella primavera successiva alla raccolta, in seguito ad un processo di post-maturazione. Recentemente tuttavia è stato riportato che i semi di *Ginkgo biloba* sono provvisti di embrione completamente formato già al distacco dalla pianta madre, che sono già in grado di germinare anche se la rimozione del sarcotesta e la stratificazione migliorano la loro germinabilità (HOLT, ROTHWELL 1997). I semi di *G. biloba* sono inoltre caratterizzati da elevato contenuto d'acqua e non

mantengono a lungo la capacità germinativa (TOMMASI *et al.*, 2006). Sulla base della loro sensibilità alla disidratazione sono ritenuti, a seconda degli autori, recalcitranti, mediamente recalcitranti o addirittura ortodossi (TOMMASI *et al.*, 2006). Scopo di questo lavoro è stato dunque quello di chiarire alcuni aspetti della fisiologia del seme e, in particolare:

- 1) stabilire se la fecondazione avviene sempre lontano dalla pianta madre;
- 2) se esiste un processo di post-maturazione;
- 3) se il seme è dormiente;
- 4) se e quanto esso è sensibile alla disidratazione.

I dati ottenuti dimostrano che la fecondazione avviene prima del distacco dalla pianta madre e non dopo la raccolta, che l'embrione si accresce moderatamente dopo la raccolta, che scarificazione e stratificazione non aumentano in modo significativo la germinabilità dei semi e che questi sono sensibili alla disidratazione e possono essere considerati recalcitranti. Esiste una relazione fra dimensioni del seme e sensibilità alla disidratazione per cui i semi più piccoli sono più sensibili alla disidratazione e perdono prima la capacità germinativa.

LETTERATURA CITATA

- EMBERGER L., 1942 – *Sur les Pteridospermae et les Cordaitales*. *Bull. Soc. Bot. France*, 89: 202-203.
- FAVRE-DUCHARTRE M., 1943 – *Sur le comportement des ovules de Ginkgo biloba*. *Bull. Soc. Bot. France*, 90 : 111-116.
- , 1958 – *Ginkgo an oviparous plant*. *Phytomorphology*, 8: 377-390.
- HOLT B.F., ROTHWELL G.W., 1997 – *Is Ginkgo biloba (Ginkgoaceae) really an oviparous plant?* *Am. J. Bot.*, 84: 870-872.
- MAJOR R.T., 1967 – *The Ginkgo, the most ancient living tree*. *Science*, 157: 1270-1273.
- TOMMASI F., PACIOLLA C., DE PINTO M.C., DE GARA L., 2006 – *Effect of storage temperature on viability, germination and antioxidant metabolism in Ginkgo biloba seeds*. *Plant Physiol. Biochem.*, 44: 359-368.

Alcuni effetti della sovraespressione di ascorbico ossidasi in *N. tabacum*

V. Ceglie e M.C. DE TULLIO. Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale, Università di Bari.

Ascorbico ossidasi (AAO; EC 1.10.3.3) catalizza la riduzione dell'ossigeno ad acqua. Nel corso della reazione l'acido ascorbico (AA) viene utilizzato come donatore di elettroni ed ossidato ad AFR (ascorbate free radical), che a sua volta disproporziona dando AA e acido deidroascorbico (DHA). Sebbene ben caratterizzato a livello molecolare, il ruolo fisiologico dell'enzima è ancora poco chiaro. Studi precedenti hanno mostrato una localizzazione specifica di AAO nel centro quiescente (CQ) della radice (LISO *et al.*, 2004). Lo sviluppo radicale è stato analizzato in piante di *Nicotiana tabacum* trasformate con il gene codificante per AAO di *Cucumis melo* sotto il con-

trollo del promotore 35S (SANMARTIN *et al.*, 2003). Malgrado l'espressione costitutiva del gene, le radici delle piante trasformate non mostravano alcun aumento dell'attività dell'enzima ed uno sviluppo del tutto paragonabile a quello delle piante WT. È quindi evidente la presenza di un meccanismo specifico di silenziamento genico nelle cellule della radice che potrebbe avere un ruolo chiave nella definizione del CQ. Viceversa, l'attività di AAO nelle foglie di piante transgeniche risultava 10 volte maggiore rispetto al WT. Analisi delle dinamiche stomatiche in queste piante ha mostrato come vi sia una tendenza ad una maggiore apertura degli stomi ed una minore sensibilità al perossido di idrogeno, che notoriamente induce una rapida chiusura degli stomi stessi (BRIGHT *et al.*, 2006). Abbiamo inoltre potuto osservare che anche DHA (1mM) determina la chiusura degli stomi. È noto che DHA viene accumulato nell'apoplasto di piante che sovraesprimono AAO (SANMARTIN *et al.*, 2003). Ciò potrebbe spiegare le alterazioni delle risposte stomatiche osservate in tali piante.

LETTERATURA CITATA

- BRIGHT J., DESIKAN R., HANCOCK J.T., WEIR I.S., NEILL S.J., 2006 - *ABA-induced NO generation and stomatal closure in Arabidopsis are dependent on H₂O₂ synthesis*. Plant J., 45: 113-122.
- LISO R., DE TULLIO M.C., CIRACI S., BALESTRINI R., LA ROCCA N., BRUNO L., CHIAPPETTA A., BITONTI M.B., BONFANTE P., ARRIGONI O., 2004 - *Localization of ascorbic acid, ascorbic acid oxidase and glutathione in roots of Cucurbita maxima L.* J. Exp. Bot., 99: 726-736.
- SANMARTIN, M., DROGOUDI, P. A., LYONS, T., PATERAKI, I., BARNES, J., KANELIS, A. K., 2003 - *Over-expression of ascorbate oxidase in the apoplast of transgenic tobacco results in altered ascorbate and glutathione redox states and increased sensitivity to ozone*. Planta, 216: 918-928.

Note per una storia dei botanici pugliesi

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

Nell'ambito di un più vasto lavoro di ricerca sugli scienziati di Puglia (DE CEGLIA, 2007) si è avuto modo di rilevare il significativo contributo che i botanici pugliesi hanno fornito al progresso della disciplina. Partendo dalle poche informazioni disponibili (PEDROTTI, 1988; ALEFFI, 1989) sono stati finora identificati circa trenta botanici le cui opere meritano senza dubbio un recupero storico ed una accurata analisi critica. Tra questi si distinguono particolarmente Eraclide da Taranto (vissuto intorno al 75 a.C.), autore di trattati sulle piante ed i veleni; Bartolomeo Maranta (Venosa 1520-Molfetta 1571), allievo di Luca Ghini e amico di Ulisse Adrovandi, studioso di Teofrasto e Dioscoride; Vitangelo Bisceglia (Terlizzi 1749-1817), docente di botanica presso l'Università di Altamura, istituzione accademica oggi dimenticata attiva tra il 1748 ed il 1799;

Martino Marinosci (Martina Franca 1786-1866), medico ed autore di una fondamentale *Flora salentina*; Orazio Comes (Monopoli 1848-Portici 1917), che si occupò di diversi aspetti della botanica e fu tra i fondatori dell'Orto Botanico di Portici; Antonio Jatta (Ruvo di Puglia, 1853-1912), ultimo dei grandi lichenologi Italiani dell'Ottocento; Enrico Carano (Gioia del Colle 1877-1943) istologo ed embriologo che insegnò a Firenze e Roma; Gaetano Rodio (Locorotondo 1886-1971), che operò a Napoli e Catania svolgendo ricerche di tipo istologico e fisiologico, ma anche floristico. Al contributo dei botanici nati in Puglia o zone limitrofe (Maranta) si aggiunge l'attività di studiosi che in Puglia hanno lasciato una eredità importante con i loro lavori e la loro scuola. Solo per citare due esempi, Irma Pierpaoli (Roma 1891-Senigallia 1977), autrice di studi sulla flora algologica della zona di Taranto, ed Eleonora Francini Corti (1904-1984), proveniente dalla scuola fiorentina di Carano e Chiarugi, che per oltre un ventennio resse le sorti dell'Istituto Botanico dell'Università di Bari.

L'auspicio è che questo patrimonio di ricordi e conoscenze non vada perduto, ma che si possa costituire un archivio dedicato alla memoria storica della botanica pugliese del passato e contemporanea.

LETTERATURA CITATA

- ALEFFI M., 1989 - *L'attività dei botanici pugliesi nelle accademie e nelle Università*. Umanesimo della Pietra - verde, 4: 13-19.
- DE CEGLIA F.P. (a cura di), 2007 - *Scienziati e scienza di Puglia*. Adda, Bari.
- PEDROTTI F. (a cura di), 1988 - *100 anni di ricerche botaniche in Italia*. Società Botanica Italiana, Firenze.

Studio comparativo su due popolazioni di *Parviphycus felicinii* (*Gelidiales*) lungo il litorale barese

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

Parviphycus felicinii Perrone *et* Delle Foglie è una specie nuova la cui località tipo è la Grotta della Regina, a sud di Bari, nel Comune di Torre a Mare (PERRONE, DELLE FOGLIE, 2006). Recentemente *P. felicinii* è stata segnalata in un'altra località, Cala Colombo, a circa 3 km dalla prima. Si tratta di una specie epilitica che all'interno della grotta è sempre in ombra e forma dense popolazioni su piattaforme rocciose, da 50 a 80 cm sul livello del mare; a Cala Colombo essa risulta sempre esposta alla luce e colonizza circa 0,5 m² di una parete rocciosa a poco più di 2 m sul livello del mare. Osservazioni in campo, condotte per due anni consecutivi, hanno messo in evidenza che entrambe le popolazioni sono costantemente emerse ed appartengono pertanto al piano sopralitorale dove finora non è stata mai segnalata nessuna altra specie macroalgale.

Lo scopo di questa ricerca è quello di confrontare alcune caratteristiche delle due popolazioni e saggiare il comportamento delle piante in coltura. Ogni mese, su talli raccolti nelle due stazioni, sono stati rilevati i valori di biomassa, altezza della fronda e presenza di assi tetrasporiferi. I valori medi di biomassa a Cala Colombo non sono significativamente diversi da quelli misurati per la grotta; anche la crescita degli assi eretti mostra una periodicità simile; assi tetrasporiferi non sono stati mai osservati sui talli raccolti a Cala Colombo, mentre sono prodotti con regolarità, nel periodo gennaio-aprile, sulle piante della grotta più esposte alla luce e più vicine al mare. I risultati delle colture *in vitro*, condotte in sommersione e in costante emersione, hanno messo in evidenza che la prima condizione è quella che determina un maggior sviluppo del tallo ed è indispensabile alla formazione di sori tetrasporangiali ben organizzati. Tutte queste osservazioni ci portano ad ipotizzare che l'habitat sopralitorale in cui vive *P. felicinii*, insolito per una macroalga, sia stato una scelta obbligata a cui la specie sta adattandosi, ma non è facile intuirne le cause: potrebbe essere un modo per sottrarsi ad erbivoria ed epifitismo o semplicemente una competizione per lo spazio. Ciò farebbe supporre che *P. felicinii* sia una specie più recente di quelle che occupano il mesolitorale.

LETTERATURA CITATA

PERRONE C., DELLE FOGLIE C.I., 2006 - *Parviphycus felicinii* sp. nov. (Gelidiales, Rhodophyta) from South-East Italy. *Cryptogamie, Algologie*, 27 (2): 1-12.

Osservazioni sulla zoidiogenesi e lo sviluppo di germlings in *Valonia utricularis* (Chlorophyta, Cladophorophyceae)

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

Nelle specie di *Valonia* la zoidiogenesi, cioè la formazione di zoospore o di gameti, consiste nella trasformazione in cellule riproduttive dell'intero protoplasto (olocarpia) di normali, non predeterminati, cenociti vegetativi. Tale trasformazione, che si compie nell'arco di qualche giorno, è resa riconoscibile dalla comparsa di una caratteristica reticolazione a carico del citoplasma sub-parietale. L'evento, riportato solo in disegno nella vecchia letteratura (FRITSCH, 1948), non risulta che sia stato in seguito descritto in dettaglio. Nella nostra ricerca, già avviata da tempo sulle specie di *Valonia* del Mediterraneo (FELICINI *et al.*, 1997; BOTTALICO, 1999), la zoidiogenesi si è verificata occasionalmente in alcuni anni, nel periodo fra settembre e gennaio, in talli di *V. utricularis* (Roth) C. Agardh raccolti in agosto e fatti crescere in coltura esposta a condizioni naturali. Apposite prove sperimentali sono state indirizzate a far luce sulla eventuale ritmicità del fenomeno e sui meccanismi che lo

regolano. Sebbene i risultati conseguiti fino ad oggi siano semplicemente indicativi, in linea di massima potrebbe essere confermata l'affermazione di FUNK (1955), secondo la quale, in Mediterraneo, questa specie ha riproduzione invernale.

La nostra documentazione fotografica mostra la successione delle tappe di maturazione dei cenociti riproduttivi a partire dallo stadio reticolare, in cui avviene il distacco del citoplasma dalla parete, fino alla presenza di zoospore tetraflagellate liberamente mobili nella cavità vescicolare. Sono anche visibili gli speciali pori della parete, attraverso i quali tali zoospore possono sciamare all'esterno.

È stata anche seguita la trasformazione delle zoospore in *germlings*. Questa si attua con la produzione polarizzata di una struttura sifonale rizoidale che resta indivisa dal corpo della spora e aderisce al substrato mediante protrusioni terminali lobate.

I primi stadi di sviluppo dei *germlings* sono stati osservati in coltura arricchita con differenti composti azotati.

LETTERATURA CITATA

BOTTALICO A., 1999 - *Biologia di due specie mediterranee del genere Valonia C. Agardh* (Chlorophyta, Cladophorophyceae). Tesi Dottorato Ricerca, Univ. Messina.

FELICINI G. P., PERRONE C., BOTTALICO A., 1997 - *Endogenous and in vitro protoplasts of Valonia utricularis and Valonia aegagropila* (Siphonocladales-Cladophorales complex, Chlorophyta). In: BONOTTO S., BERGER S. (Eds.), *Ecology and Biology of Giant Unicellular Algae*, Proc. 5th Int. Phycol. Congress, Symp. 1, Qingdao 1994. *Boll. Mus. Region. Sci. Nat., Torino*, 15: 131-151.

FRITSCH R. E., 1948 - *The structure and reproduction of the algae*. Vol 1. University Press, Cambridge. 751 pp.

FUNK G., 1955 - *Beiträge zur Kenntnis der Meeresalgen von Neapel*. *Pubbl. Staz. Zool. Napoli*, 25(suppl.): 1-178.

Primi dati sul ruolo della temperatura e salinità nella germinazione di *Panocratium maritimum* L.

V. CAVALLARO, L. FORTE, F. MACCHIA, I. VINCITORIO, F. TROVÈ e E. PERRINO. Dipartimento di Scienze delle Produzioni Vegetali, Università di Bari.

Panocratium maritimum L. è specie tipica delle coste sabbiose del Mediterraneo, presente anche su quelle atlantiche dal Portogallo sino in Germania. In Italia si rinviene soprattutto nelle isole, lungo tutte le coste tirreniche, ioniche ed adriatiche dalla Puglia all'Emilia Romagna (TUTIN, 1980; CONTI *et al.*, 2005). Fiorisce in estate e dissemina tra settembre ed ottobre. I semi sono neri, leggeri, per la presenza di un abbondante parenchima aerifero e vengono trasportati dal vento e dal mare (GRASSI *et al.*, 2005). Obiettivo del presente lavoro è valutare gli effetti della temperatura e della salinità sulla germinazione di popolazioni salentine di *P. maritimum* e a tal fine

sono state svolte prove di germinazione su semi freschi provenienti da Alimini (Lecce). I semi sono stati messi a germinare in capsule Petri, al buio, ad umidità costante ed alle temperature di 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 e 24°C ($\pm 1^\circ\text{C}$); inoltre sono state effettuate prove di *chilling* a 3 e 6°C per 15, 30 e 45 giorni con successivo trasferimento a 18°C. Per saggiare gli effetti della salinità, i semi sono stati messi in capsule Petri, al buio, a 21°C con acqua marina filtrata e con soluzioni acquose di NaCl alle concentrazioni di 50, 200, 400 e 600 mM. La significatività delle differenze tra le percentuali di germinazione (esprese come arcoseno della radice quadrata) e tra i tempi medi di germinazione (MTG) (BEWLEY, BLACK, 1986) è stata valutata statisticamente.

Dai dati ottenuti emerge che il fattore temperatura incide in maniera statisticamente significativa sia sulla percentuale di germinazione ($F=197,45$; $p<0,001$) che sugli MTG ($F=752,64$; $p<0,001$). Per le temperature comprese tra 9 e 25°C le percentuali di germinazione oscillano tra 85 e 96% ed i corrispondenti MTG risultano compresi tra 17 e 37 giorni. Viceversa, alle temperature di 3 e 6°C si ha una drastica riduzione delle percentuali di germinazione che risultano rispettivamente del 3 e del 55% e parallelamente si ha un forte aumento degli MTG. Con la prova del taglio, effettuata dopo 200 giorni, i semi non germinati risultavano morti. In tutte le prove di *chilling*, tuttavia, le percentuali di germinazione sono risultate elevate ($>95\%$; $F=1,21$; $p>0,05$), indicando quindi che le basse temperature determinano un forte rallentamento del processo germinativo e solo dopo lunghi periodi la morte dei semi. Nelle prove condotte con 50 e 200 mM di NaCl le percentuali di germinazione sono alte e non differiscono dal controllo a 21°C ($F=0,01$; $p>0,05$), viceversa decrescono fortemente con 400 mM, sino ad essere nulle con 600 mM e con acqua marina. Gli MTG aumentano con l'incremento della concentrazione salina.

Questi risultati concordano pienamente con quelli ottenuti da altri autori con semi di provenienza israeliana (KEREN, EVENARI, 1974); inoltre sia i semi pugliesi che israeliani risultano maggiormente tolleranti alla salinità rispetto a quelli di provenienza toscana (BALESTRI, CINELLI, 2004). Sulla scorta di questi risultati possiamo confermare che le temperature ottimali per la germinazione sono comprese tra 9 e 24°C e pertanto essa avviene in autunno, subito dopo la disseminazione, quando lungo le coste mediterranee si hanno temperature miti e buona disponibilità idrica. I semi inoltre, germinano solo in presenza di acqua dolce o salmastra ma non salata e, quindi, non avviano il processo germinativo durante il loro trasporto in mare.

LETTERATURA CITATA

- BALESTRI E., CINELLI F., 2004 – *Germination and early seedling establishment capacity of *Pancratium maritimum* L. (Amaryllidaceae) on coastal dunes in the north-western Mediterranean*. J. Coastal Res., (20) 3: 761-770.
- BEWLEY J.D., BLACK M., 1986 – *Seed, physiology of deve-*

lopment and germination. Ed. Plenum Press, New York.

- CONTI F., ABBATE G., ALESSANDRINI A., BLASI C., 2005 – *An annotated checklist of the italian vascular flora*. Palombi Editori, Roma.
- GRASSI F., CAZZANIGA E., MINUTO L., PECCENINI S., BARBERIS G., BASSO B., 2005 – *Evaluation of biodiversity and conservation strategies in *Panocratium maritimum* L. for the Northern Tyrrhenian Sea*. Biodiv. Conserv., 14: 2159 – 2169.
- KEREN A., EVENARI M., 1974 – *Some ecological aspects of distribution and germination of *Panocratium maritimum* L.* Israel J. Bot., 23: 202-215.
- TUTIN T.G. 1980 – *Flora Europea*. Cambridge University Press.

Verifica del potere germinativo dei semi di jojoba [*Simmondsia chinensis* (Link) Schneider] dopo sei anni di conservazione

V. GIORGIO, V. CAVALLARO, A. GALLOTTA e C. PACUCCI. Dipartimento di Scienze delle Produzioni Vegetali, Università di Bari.

La jojoba (*Simmondsia chinensis* (Link) Schneider) è originaria dell'area desertica situata a cavallo dei confini tra la California, l'Arizona ed il Messico. Negli ultimi anni si è andata diffondendo, come pianta coltivata, in parecchie zone del mondo caratterizzate da clima sia arido che mediterraneo (A.A.V.V., 1987). La specie sta interessando sempre più anche gli operatori agricoli del nostro Paese perchè vegeta benissimo in zone aride (REINA, GIORGIO, 1985), costiere e tollera anche la salinità del terreno e le eventuali irrigazioni con acque salmastre (BAGORDO, 1986). Altra caratteristica fondamentale è l'estrema variabilità genetica che si manifesta negli individui provenienti da seme; questo ampio grado di variabilità può consentire di identificare gli individui più idonei alle condizioni pedoclimatiche mediterranee in modo da costituire prezioso materiale vegetale sul quale basare le future selezioni (NAQVI, TING, 1990). È una pianta arbustiva, sempreverde, dioica, la fioritura avviene per la prima volta al secondo o terzo anno dalla semina. La capsula contiene da 1 a 3 semi, matura tra giugno ed ottobre evidenziando un viraggio di colore dal verde al bruno (A.A.V.V., 1984).

La propagazione avviene prevalentemente per via gamica e la temperatura del terreno o del letto di semina costituisce uno dei più importanti fattori sia per la percentuale di germinazione che per la velocità della stessa (DUNSTONE *et al.*, 1995).

Obiettivo del presente lavoro è stato, pertanto, quello di verificare il potere germinativo dei semi che non presentavano alterazioni nel colore e nel peso dopo 6 anni di conservazione.

Giovani piante di biotipi Yermanos di provenienza californiana sono state messe a dimora nel 1984 presso il campo sperimentale di Valenzano (Bari). I semi raccolti nel 2000 sono stati conservati per 6 anni a

temperatura ed umidità ambiente e nel 2006 sono state effettuate alcune prove utilizzando solo i semi che non presentavano alterazioni nel colore e nel peso. I semi sono stati posti a germinare in capsule Petri, al buio, ad umidità costante ed alle temperature di 3, 5, 10, 15, 20 °C (± 1 °C). Per tutte le prove sono state eseguite tre ripetizioni di 20 semi ciascuna e calcolati le percentuali di germinazione ed i tempi medi di germinazione (MTG) (BEWLEY, BLACK, 1986).

I risultati ottenuti hanno evidenziato che per le temperature di 15 e 20 °C le percentuali di germinazione sono elevate (tra il 75 ed il 98%) e gli MTG sono stati, rispettivamente, di 19 e 11 giorni. Le temperature di 3, 5 e 10 °C hanno determinato una drastica riduzione delle percentuali di germinazione che sono risultate comprese tra il 10 ed il 35%, parallelamente si è riscontrato un forte aumento dei MTG con valori compresi tra 60 e 72 giorni.

Questi risultati hanno confermato che la temperatura ottimale per la germinazione della *jojoba* è di 20 °C e che con l'abbassarsi delle temperature si osserva un forte decremento della germinazione e allungamento degli MTG. Si può affermare, inoltre, che i semi degli ibridi utilizzati, che non presentano un'alterazione nel colore e nel peso, hanno mantenuto inalterata la vitalità dopo una conservazione a medio termine in condizioni ambiente.

LETTERATURA CITATA

- A.A.V.V., 1984 – *Nuove colture per l'agricoltura italiana: la Jojoba*. ENEA, TECNAGRO. Roma.
- , 1987 – *Prime indicazioni sulla jojoba nel Mezzogiorno d'Italia*. Vol. 2 Colture alternative per l'agricoltura italiana. TECNAGRO. Roma.
- BAGORDO F., 1986 – “*Jojoba*”: una pianta di sicuro avvenire. *Not. Ortofrutt.*, 2: 43-54.
- BEWLEY J.D., BLACK M., 1986 – *Seed, physiology of development and germination*. Ed. Plenum Press, New York.
- DUNSTONE R. L., TONNET M.L., WARDLAW I. F., SHANI A., 1995 – *Effect of temperature on seed development in jojoba (Simmondsia chinensis (Link) Schneider). II. Wax content and composition*. *Australian J. Agric. Res.*, 35 (5): 693-700.
- NAQVI H. H., TING I. P., 1990 – *Variabilità nelle caratteristiche del seme delle popolazioni selezionate e non di jojoba*. *Hort Sci.*, 25 (3): 364.
- REINA A., GIORGIO V., 1985 – *Prime osservazioni sulla coltivazione della jojoba in Puglia*. *Inform. Agr.*, XLI (40): 72-73.

Descrizione delle “spunnulate” della costa ionica salentina e valutazione del loro stato di conservazione attraverso un approccio floristico

P. ERNANDES, S. NAPOLITANO, L. BECCARISI, M. DELLE ROSE e V. ZUCCARELLO. Di.S.Te.B.A., Università del Salento.

Le “spunnulate”, il cui termine deriva dal dialetto locale e sta ad indicare “sprofondate”, sono doline

risultanti dal crollo della volta di una cavità carsica ipogea preesistente il cui spazio interno è spesso occupato da acqua di falda.

Le “spunnulate”, oggetto di studio, sono distribuite lungo una stretta fascia costiera, del territorio jonico salentino, lunga circa 25 km, compresa tra Torre Castiglione e Serra Cicora nei comuni di Porto Cesareo e Nardò.

L'importanza di tali forme carsiche dal punto di vista della biodiversità è stata messa in evidenza da numerosi studi zoologici (BIANCHI *et al.*, 1994; INGUSCIO, 1998; ARIANI *et al.*, 2000) e botanici (CURTI, LORENZONI, 1969; MONTELUCCI, PARENZAN, 1967-1969).

Le spunnulate sono patrimonio speleologico tutelato dalla Regione Puglia (L.R. n. 32 del 3/10/86), rappresentano habitat di notevole importanza naturalistica, ascrivibili, secondo la Direttiva “Habitat” 92/43/CEE: all'habitat prioritario delle “Lagune costiere”, all'habitat d'interesse comunitario delle “Grotte non aperte al pubblico”, e all'habitat delle specie di alcuni vertebrati tra cui la testuggine palustre (*Emys orbicularis*), specie di lista rossa in via d'estinzione.

Gli scopi della ricerca sono stati i seguenti: a) effettuare un aggiornamento della distribuzione spaziale delle spunnulate e un inquadramento geologico; b) caratterizzarle dal punto di vista floristico e valutarne lo stato di conservazione; c) definire il loro grado di antropizzazione utilizzando l'emerochia (JALAS, 1995). Sono state utilizzate informazioni bibliografiche, foto aeree relative agli anni 1955, 1985, 1997, la Carta Tecnica Numerica della Provincia di Lecce scala 1:10000, la Carta Geologica d'Italia in scala 1:100000; sono state redatte delle apposite schede di campionamento per la raccolta dei dati in campo; per l'indice di emerochia è stata utilizzata una scala a sette valori (SUKOPP, 2004) che esprimono il grado di naturalità in base all'influenza antropica; tutti i dati sono stati integrati e gestiti con un software GIS.

In totale sono stati cartografati 117 elementi carsici, tra questi 66 spunnulate che si aprono in corrispondenza di calcareniti del pleistocene superiore, e risultano orientate secondo le principali linee di fratturazione tettonica dell'area di studio.

Esse sono raggruppate, in base alla loro localizzazione territoriale, in 5 sistemi: Torre Castiglione-Torre Lapillo, Porto Cesareo, S. Isidoro, Palude del Capitano, Serra Cicora.

Al loro interno sono state censite in totale 252 specie. I risultati ottenuti evidenziano come l'impatto antropico influenzi decisamente il sistema floristico e di habitat presente nelle spunnulate: i dati dell'istogramma di frequenze relativo ai gradi di emerochia calcolati sul totale delle spunnulate mostrano come il grado di emerochia più rappresentato sia il secondo (30%) ovvero il seminaturale seguito dal grado 1, il naturale, (21%) e dal 3, vicino al naturale, (11%). Se si confrontano nel tempo (1955, 1985, 1997) le percentuali d'area occupate dai differenti gradi di emerochia nell'intorno delle spunnulate (Tab. 1) si nota un aumento del grado 6 (artificiale) a scapito del grado 2 (seminaturale) a causa dell'aumento della

pressione antropica nella zona costiera attuata negli ultimi 50 anni.

TABELLA 1

Calcolo dei gradi di emerobia per i tre periodi nell'intorno geografico delle spunnulate (i valori relativi alle superfici sono espressi in %).

Calculating the degrees of hemeroby in the geographic boundary of "spunnulate", for three periods (the values are expressed in %).

	1	2	3	4	5	6
1955	10%	25%	25%	35%	-	5%
1985	8%	18%	14%	33%	-	27%
1997	9%	15%	16%	30%	-	30%

Alla luce dei risultati ottenuti in questo studio, si può affermare che le spunnulate possono essere considerate dei geositi che presentano delle specie e delle situazioni ecologiche di grande pregio ed interesse naturalistico; esse si sviluppano in una zona ad elevato impatto antropico che influenza marcatamente il mosaico ambientale presente. Sono evidenziati, però, zone e settori in cui il rischio di alterazione è differente ed essi devono essere soggette a regimi di protezione differenti, attraverso azioni adeguate di geoconservazione e di bioconservazione, attuando una strategia generale che potrebbe definirsi di "oloconservazione".

LETTERATURA CITATA

- ARIANI A., CAMASSA M. M., WITTMANN K. J., 2000 – *The dolinas of Torre Castiglione (Gulf of Tarent, Italy): environmental and faunistic aspects of a semi-hypogean water system*. Mem. Biospel., 27: 1-14.
- BIANCHI C. N., BOERO F., FORTI S., MORRI C., 1994 – *La Palude del Capitano: un ambiente salmastro costiero della Penisola Salentina d'interesse idrobiologico e speleologico*. Ist. It. Speleol., Mem. 6, S. II: 99-106.
- CURTI L., LORENZONI G.G., 1969 – *Considerazioni sulla vegetazione delle "spunnulate" di Castiglione (Lecce)*. Thalassia salentina, 3: 47-66.
- INGUSCIO S., 1998 – *Misidiacei stigobionti di Puglia*. Ideemultimediali. Nardò. 95 pp.
- JALAS J., 1955 - *Hemerobe und hemerochrome Pflanzarten. Ein terminologischer Reformversuch*. Acta Societatis Pro Fauna et Flora Fennica, 72: 1-15.
- MONTELUCCI G., PARENZAN P., 1967-1969 – *Primo contributo allo studio botanico della costa neretina (prov. di Taranto e di Lecce)*. Thalassia salentina, 2: 42-107.
- SUKOPP H., 2004 – *Human-caused impact on preserved vegetation*. Landsc. Urban Plann., 68: 347-355.

Osservazioni sulla distribuzione delle pteridofite nella Puglia meridionale

L. BECCARISI. Di.S.Te.B.A., Università del Salento.

In Puglia sono segnalate 42 specie di pteridofite, la cui presenza è considerata certa in 39 casi, da ricon-

fermare in 2 e dubbia in 1 caso (CONTI *et al.*, 2005). L'area di studio della presente ricerca è limitata ai territori delle provincie di Lecce, Brindisi e Taranto. Lo scopo della ricerca è quello di interpretare la distribuzione geografica ed ecologica, all'interno dell'area di studio, delle singole specie, partendo dalle seguenti ipotesi di lavoro che radicano nel quadro teorico dell'Ecologia delle pteridofite:

- 1) La distribuzione dipende principalmente dalle precipitazioni; secondo GIACOMINI (in FIORI, 1943) "il fattore precipitazioni si può considerare la prima causa limitante l'area geografica delle felci."
- 2) La dispersione può avvenire a lunga distanza, almeno per quanto concerne le felci isosporee che occupano ambienti aperti (GIACOMINI, in FIORI 1943; JERMY, 1984; BARRINGTON, 1993; KATO, 1993)
- 3) Le specie ermafrodite autocompatibili ed apomittiche hanno una maggiore capacità di dispersione rispetto ad altre (BAKER, 1955; VOGEL *et al.*, 1999).

Il campionamento, di tipo stratificato, consiste nella raccolta di dati di presenza/assenza relativi alle specie di pteridofite. L'area di studio è stata suddivisa in 8 zone geografiche a cui è stata sovrapposta la carta geologica del Sistema Informativo Geografico della Regione Puglia (disponibile sul sito web www.cartografico.puglia.it) per la definizione degli strati. I dati sono stati analizzati statisticamente con una metodologia articolata che prevede l'utilizzo della regressione logistica come metodo statistico principale. Le variabili ambientali utilizzate sono in numero di 30: le precipitazioni e le temperature medie annuali, le precipitazioni e le temperature medie di ogni mese, la litologia superficiale, pendenza ed esposizione del piano topografico, distanza dalla linea di costa. Il modello statistico è stato successivamente utilizzato come funzione di classificazione per l'elaborazione di un modello geografico predittivo per ogni specie.

Sulla base dei seguenti 3 parametri:

- rarità della specie su scala regionale,
- sensibilità della specie a gradienti ambientali imposti sulla scala regionale,
- marginalità geografica dei popolamenti rispetto all'areale di distribuzione della specie,

è stato possibile raggruppare le 26 specie campionate in 4 tipi di distribuzione:

1. specie rare, localizzate ai limiti del proprio areale di distribuzione,
2. specie rare, non localizzate ai limiti del proprio areale di distribuzione, presenti nell'area di studio con popolamenti eterotopici,
3. specie relativamente comuni, sensibili ai gradienti ambientali imposti su scala regionale,
4. specie relativamente comuni, non o poco sensibili ai gradienti ambientali imposti su scala regionale.

Esempi del tipo 1 sono rappresentati da *Asplenium marinum* L. (di cui è nota una sola stazione presso Leuca) e *Thelypteris palustris* Schott (di cui è nota una sola stazione presso Otranto). Esempi del tipo 2 sono rappresentati da specie orofile, presenti nell'area

di studio solo all'interno di grotte carsiche: *Polystichum aculeatum* (L.) Roth e *Dryopteris affinis* (Lowe) Fraser-Jenk. subsp. *borreri* (Newman) Fraser-Jenk. (quest'ultima è apomittica). Esempi del tipo 3 sono rappresentati da *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn subsp. *aquilinum*, che mostra una significativa sensibilità al gradiente delle precipitazioni invernali del mese di gennaio, in un range di precipitazioni compreso nell'intervallo [35, 101] mm. In maniera meno netta, anche la distribuzione di *Ceterach officinarum* Willd. subsp. *officinarum* ha una risposta positiva al gradiente delle precipitazioni invernali, relativamente però al mese di dicembre, in un range di precipitazioni compreso nell'intervallo [44, 108] mm. Un esempio del tipo 4 è rappresentato da *Selaginella denticulata* (L.) Spring che non mostra sensibilità nei confronti dei gradienti ambientali regionali; piuttosto, sembra che siano i fattori locali ad essere determinati per la distribuzione della specie all'interno dell'area di studio.

LETTERATURA CITATA

- BAKER H.G., 1955 – *Self-compatibility and establishment after "long-distance" dispersal*. *Evolution*, 9(3): 347-349.
- BARRINGTON D.S., 1993 – *Ecological and historical factors in fern biogeography*. *J. Biogeogr.*, 20 (3): 275-280.
- CONTI F., ABBATE G., ALESSANDRINI A., BLASI C. (eds.), 2005 – *An annotated checklist of the Italian vascular flora*. Palombi Editori, Roma.
- FIORI A., 1943 – *Flora Italica Cryptogama. Pars V: Pteridophyta*. Società Botanica Italiana.
- JERMY A.C., 1984 – *Origin and distribution of Pteridophytes in the Mediterranean area*. *Webbia*, 38: 397-416.
- KATO M., 1993 – *Biogeography of ferns: dispersal and vicariance*. *J. Biogeogr.*, 20(3): 265-274.
- VOGEL J.C., RUMSEY F.J., RUSSEL S.J., COX C.J., HOLMES J.S., BUJNOCH W., STARK C., BARRETT J.A., GIBBY M., 1999 – *Genetic structure, reproductive biology and ecology of isolated populations of Asplenium csiki* (Aspleniaceae, Pteridophyta). *Heredity*, 83: 604-612.

Indagini sull'attività biofungicida di *Aphanocladium album*

I. GARUCCIO e G. CECI. Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale, Università di Bari.

Indagini volte all'individuazione di nuovi antagonisti microbici da impiegare nella lotta biologica hanno evidenziato su alcune piante di melanzana un inconsueto micelio bianco candido che si estendeva sul feltro nerastro di epifiti agenti di fumaggine. I successivi isolamenti hanno prodotto colonie di un fungo che è stato riferito ad *Aphanocladium album* (Preuss).W. Gams. L'isolato individuato è stato designato con la sigla Mx-93 (CICCARESE *et al.*, 1997). La capacità antagonista di *A. album* è stata saggiata in prove di lotta contro *Oidium lycopersici* su pomodoro e contro *Sphaerotheca fuliginea* su zucchini. In

entrambe le prove i trattamenti con l'isolato Mx-93 di *A. album* hanno messo in evidenza significative capacità di contenimento dell'oidio (CICCARESE *et al.*, 2001; LONGO *et al.*, 2001). Pertanto esso si propone come limitatore biologico dei patogeni fogliari fungini e i suoi meccanismi di iperparassitismo lo rendono particolarmente idoneo a questa applicazione. A tale proposito *A. album* è dotato di attività micoparassitica necrotrofica legata alla produzione di enzimi idrolitici: proteasi, glucanasi e soprattutto chitinasi (KUNZ *et al.*, 1992) i quali agiscono degradando la parete cellulare di molti funghi fitopatogeni. In particolare la chitinasi agisce sulla chitina (componente della parete cellulare) idrolizzando il legame di β 1-1,4 N-acetil-D-glucosammina e liberando una serie di monomeri e dimeri utilizzati da *A. album* come sostanze nutritive (KOC *et al.*, 1981; SRIVASTANA *et al.*, 1985; KUNZ *et al.*, 1992).

Obiettivo del presente lavoro è valutare l'attività chitinolitica dell'isolato Mx-93 di *A. album* e dell'isolato 411.34 fornito dal Dipartimento di Fitomedicina di Zurigo al fine di caratterizzare i meccanismi di iperparassitismo dell'isolato autoctono Mx-93.

Entrambi gli isolati sono stati allevati su substrato liquido costituito da brodo di patata e saccarosio. Il terreno di coltura (50 ml) è stato distribuito in beute da 100 ml che previa sterilizzazione è stato sottoposto ad inoculazione con una sospensione conidica dell'antagonista. L'incubazione è stata effettuata su agitatore oscillante orbitale a 120 giri/min al buio e alla temperatura di 24° C. Al filtrato del brodo colturale (10 ml) sono stati aggiunti 15 ml di acetone puro e la miscela è stata raffreddata a 20° C per 30 minuti. Successivamente la miscela è stata centrifugata per tre volte a 10.000 rpm ed il pellet (estratto crudo proteico) è stato sospeso in un tampone sodio acetato. 100 μ l dell'estratto crudo proteico di ogni campione sono stati posti ad incubare a 37° C per un ora con tampone fosfato e chitina. Dopo l'incubazione ogni campione è stato addizionato con 100 μ l di HCl 1N ed è stato sottoposto a centrifugazione a 10.000 rpm per 5 minuti. Successivamente è stata effettuata la lettura spettrofotometrica a 550 nm. Una aliquota di estratto crudo proteico è stata utilizzata per saggiare le proteine totali determinate spettrofotometricamente a 595 nm seguendo la procedura Bradford. L'attività della chitinasi è stata calcolata matematicamente utilizzando i dati ottenuti dalla lettura spettrofotometrica e dal saggio delle proteine totali. I saggi sull'attività enzimatica dei due isolati di *A. album* sono stati effettuati a 3, 5 e 6 giorni di crescita del micelio.

L'attività della chitinasi rilevata nell'isolato Mx-93 di *A. album* è risultata di 0,2, 0,325 e 1,88 nkat/ml rispettivamente dopo 3, 5 e 6 giorni dall'inseminazione del substrato. Nell'isolato 411.34 di *A. album* l'attività chitinolitica rilevata negli stessi intervalli di tempo è stata rispettivamente di 0,085, 0,16 e 1,45 nkat/ml. Da queste indagini preliminari emerge che tra le popolazioni di *A. album* esiste variabilità di comportamento per attività chitinolitica e l'elevata attività enzimatica osservata nell'isolato Mx-93 di *A.*

album convalida i positivi risultati ottenuti nelle prove di lotta biologica contro gli agenti di oidio di piante ortive. *A. album* esplica la sua attività di antagonista senza la produzione di sostanze che possono alterare l'equilibrio ambientale e destare preoccupazioni di natura tossicologica ed ecologica.

LETTERATURA CITATA

- CICCARESE F., AMENDUNI M., SCHIAVONE D., AMBRICO A., 1997 - *Aphanocladium album*, a new promising biocontrol agent against *Oidium lycopersici*. In: Proc. 10° Congr. M.P.U. Montpellier (France), June 1997: 559-562.
- CICCARESE F., LONGO O., AMBRICO A., SCHIAVONE D., 2001 - *Aphanocladium album*: un promettente limitatore biologico dell'oidio del pomodoro e dello zucchini. Not. Malattie Piante: 69-71.
- KOC N.K., FORRER H. R., KERN H., 1981 - *Studies on the relationship between Puccinia graminis and the hyperparasite Aphanocladium album*. Phitopath. Z., 101: 131-135.
- KUNZ C., SELLAM O., BERTHEAU Y., 1992 - *Purification and characterization of a chitinase from the hyperparasitic fungus Aphanocladium album*. Phys. Mol. Plant Path., 40: 117-131.
- LONGO O., AMBRICO A., SCHIAVONE D., CICCARESE F., 2001 - *Aphanocladium album*: un limitatore biologico di malattie fogliari fungine. In: *Innovazioni nella difesa delle malattie di piante agrarie e forestali con mezzi di lotta biologica ed integrata*, Programma Operativo Multiregionale (POM) cod. A 24, Pubb. n. 27: 61-69.
- SRIVASTANA A. K., DEFAGO G., BOLLER T., 1985 - *Secretion of chitinase by Aphanocladium album, a hyperparasite of wheat rust*. Experientia, 41: 1612-1613.

Indagine floristica di Lama Belvedere (Monopoli-Bari)

V. CAVALLARO, F. ANGIULLI, L. FORTE e F. MACCHIA.
Dipartimento di Scienze delle Produzioni Vegetali,
Università di Bari.

Nel territorio di Monopoli (Bari) vi sono due lame che risultano di grande interesse storico-archeologico: lama Belvedere e lama San Donato. Esse infatti hanno favorito il formarsi dei primi nuclei abitativi che in seguito hanno dato origine a Monopoli. La città medioevale era compresa tra le due lame (PAGLIARULO, 2000) e successivamente, a partire dal XVIII secolo, è iniziata una graduale ma inesorabile occupazione di lama Belvedere da parte del centro abitato, che porterà alla situazione attuale in cui il tratto a valle della ferrovia e sino alla foce è completamente occupato dall'abitato (PICCINATO, 1974).

Il presente studio è stato condotto al fine di analizzare la componente floristica di Lama Belvedere, oggi individuata come area d'interesse naturalistico, ambientale e paesaggistico della Regione Puglia (L.R. n. 19 del 24 luglio 1997, integrata da L.R. n. 16 del 24 luglio 2001).

Con l'analisi floristica sono state censite 160 entità

subgeneriche; lo spettro biologico è risultato essere dominato dalle terofite (37%) e geofite (20%) seguite dalle emicriptofite (18%), fanerofite (16%), nanofanerofite (5%) e camefite (4%). I corotipi più rappresentati sono lo stenomediterraneo (25,7%) e l'eurimediterraneo (18,2%); inoltre, discretamente elevata è la presenza di entità cosmopolite e sub-cosmopolite (13,2%) mentre risulta particolarmente bassa quella delle endemiche (1,2 %). Queste ultime sono rappresentate da *Crocus longiflorus* Rafin., entità subendemica diffusa nell'Italia Meridionale ed in Dalmazia (PIGNATTI, 1982) e da *Serapias orientalis* Nelson ssp. *apulica* Nelson, endemica pugliese presente in diverse stazioni della Puglia meridionale (SCOPPOLA, SPAMPINATO, 2005). Quest'ultima entità secondo CONTI *et al.* (2005), tuttavia, dovrebbe essere inclusa in *Serapias vomeracea* (Burm. f.) Briq. subsp. *orientalis* Greuter e quindi non apparterebbe al contingente endemico. Il rinvenimento della stazione di Lama Belvedere costituisce un nuovo dato distributivo, il più settentrionale tra quelli attualmente noti (SCOPPOLA, SPAMPINATO, 2005).

Sono state inoltre rinvenute alcune specie inserite nella Red List delle piante d'Italia (CONTI *et al.*, 1997) quali *Asyneuma limonifolium* (L.) Janchen, *Allium atroviolaceum* Boiss., la già menzionata *Serapias orientalis* ssp. *apulica* e *Asphodelus tenuifolius* Cav. Quest'ultima, affine al più comune *Asphodelus fistulosus* L. dal quale tuttavia differisce in maniera significativa (RUIZ REJON *et al.*, 1990), è specie rara in Italia, a status CR e a distribuzione molto localizzata in Sicilia, Basilicata e Puglia (PIGNATTI, 1982; CONTI *et al.*, 2005). In quest'ultima regione era nota un'unica stazione nei pressi di Vieste (SCOPPOLA, SPAMPINATO, 2005) e, pertanto, il rinvenimento a Lama Belvedere costituisce la prima segnalazione per il territorio di Monopoli e la seconda per la Puglia. Nell'elenco floristico sono presenti, inoltre, numerose specie ruderali ed antropocore, un discreto numero di specie esotiche ornamentali, quali *Mirabilis jalapa* L., *Pittosporum tobira* (Thunb.) Aiton fil., *Ligustrum japonicum* Thunb., e specie coltivate quali *Prunus dulcis* (Miller) D.A., *Malus domestica* Borkh. e *Prunus domestica* L.

Dai risultati ottenuti emerge una flora caratterizzata biologicamente e corologicamente in senso mediterraneo, in accordo con la posizione geografica costiera del territorio della lama, e che presenta sia alcuni elementi di particolare pregio e sia numerose specie legate alla secolare utilizzazione della lama da parte dell'uomo.

LETTERATURA CITATA

- CONTI F., ABATE G., ALESSANDRINI A., 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*. WWF Italia, Società Botanica Italiana, Univ. Camerino. Camerino. 139 pp.
- PAGLIARULO G., 2000 - *La storia dei luoghi*. Urbanistica Dossier, Anno XXX, n. 39: 21-22. Edizioni INU.
- PICCINATO L., 1974 - *Relazione illustrativa del P.R.G. del Comune di Monopoli*. Comune di Monopoli.
- PIGNATTI S., 1982 - *Flora d'Italia*. Edagricole, Bologna.

RUIZ REJON C., BLANCA G., CUETO M., LOZANO R., RUIZ REJON M., 1990 - *Asphodelus tenuifolius* and *A. fistulosus* (Liliaceae) are morphologically, genetically, and biologically different species. *Plant Syst. Evol.*, 169 (1-2): 1-12.

SCOPPOLA A., SPAMPINATO G., 2005 - *Atlante delle specie a rischio di estinzione*. Versione 1.0. CD-Rom allegato al volume: "Stato delle conoscenze sulla flora vascolare d'Italia", a cura di A. SCOPPOLA e C. BLASI. Palombi Editori, Roma, 2005.

La "Banca del Germoplasma del Museo Orto Botanico" dell'Università di Bari per la conservazione *ex situ* della flora spermatofitica spontanea pugliese

L. FORTE, F. CARRUGGIO, F. CURIONE, F. MANTINO, G. SIGNORILE e F. MACCHIA. Dipartimento di Scienze delle Produzioni Vegetali, Museo Orto Botanico, Università di Bari.

La "Banca del Germoplasma del Museo Orto Botanico" dell'Università di Bari nasce nell'ambito di una delle azioni previste dal progetto LIFE03 NAT/IT/000134 "Conservazione dell'habitat *Thero-Brachypodietea* Sic Area delle Gravine", volto alla conservazione e al recupero dell'habitat prioritario "Pseudo-steppe with grasses and annuals of the *Thero-Brachypodietea*" (All. I – Dir. 92/43/CEE "Habitat") presente nel territorio compreso tra le Gravine di Palagianello e di Castellaneta (Taranto). Con questo progetto Life si è perseguita sia la conservazione *in situ* che quella *ex situ* dell'habitat considerato, attraverso azioni mirate alla tutela dei *pool* genici delle popolazioni locali delle specie della flora vascolare spontanea (FORTE *et al.*, 2006). L'azione di conservazione *ex situ* realizzata con l'implementazione della Banca del Germoplasma è stata finalizzata, in particolare, alla salvaguardia non solo di molte delle specie vegetali dell'habitat prioritario considerato, ma anche di altre di particolare importanza conservazionistica presenti nel territorio; l'area delle Gravine dell'Arco Jonico, infatti, è di notevole rilievo nel contesto fitogeografico dell'Italia meridionale orientale (FRANCINI CORTI, 1966).

La "Banca del Germoplasma del Museo Orto Botanico" è stata configurata come una *Seed Bank* e l'implementazione attuata per fasi (ELLIS *et al.*, 1985): 1) raccolta del materiale vegetale delle popolazioni locali da parte di collezionatori esperti secondo criteri scientifici (BROWN, MARSHALL, 1995) e compilazione di una scheda di raccolta (posizione geografica, caratteri stazionali, tipo di habitat, numero di individui da cui è stato raccolto il materiale, etc.); 2) trattamenti di pulizia e selezione del materiale vegetale raccolto (vagliatura, in corrente d'aria, etc.), differenziati a seconda della specie e spesso seguiti da una

seconda selezione con l'ausilio del microscopio stereoscopico binoculare; 3) caratterizzazione delle accessioni (peso fresco, peso dei mille semi, etc.) ed esecuzione di *test* di germinazione (4 repliche da 100 semi in capsule Petri, T 15°C e buio) e vitalità (*cut-test*); 4) disidratazione per almeno due mesi in apposita camera dotata di controllo di temperatura ed umidità (deumidificatore ad assorbimento chimico; T di 15 °C e RH pari al 15%); 5) confezionamento in buste trasparenti (costruso di polietilene ad alta densità e nylon) con gel di silice virante e sigillatura termica previa leggera riduzione del contenuto d'aria; 6) conservazione a lungo termine a bassa temperatura (camera di conservazione di 12 m³, T -20 °C), preceduta da un periodo di *test* a -5 °C per il controllo della correttezza del processo di disidratazione. Tutti i dati relativi al processo di conservazione, dalla raccolta sino alla conservazione a freddo (protocolli specie-specifici di conservazione), sono stati riportati in un *database* opportunamente predisposto.

Alcune delle specie presenti nella banca sono di particolare interesse conservazionistico: *Aurinia saxatilis* (L.) Desv. ssp. *megalocarpa* (Hauskn) T.R. Dudley, *Phlomis fruticosa* L., *Scrophularia lucida* L., *Asyneuma limonifolium* (L.) Janchen (di interesse fitogeografico); *Cytisus spinescens* C. Presl, *Thymus spinulosus* Ten., *Helianthemum jonium* Lacaita, *Iris pseudopumila* Tineo, *Crocus thomasi* Ten. (endemiche); *Acinos suaveolens* (Sm.) Loudon, *Aegilops biunciale* (Vis.) K. Richter (specie delle Red List); *Stipa austroitalica* Martinovsky ssp. *austroitalica* (All. II – Dir. 92/43/CEE "Habitat"). L'implementazione della "Banca del Germoplasma del Museo Orto Botanico" ha condotto alla conservazione *ex situ* di circa 100 specie, cioè poco meno di un terzo delle entità costituenti la Flora del territorio interessato dal progetto LIFE03 NAT/IT/000134 (FORTE *et al.*, 2006). L'obiettivo futuro di questa banca è quello di conservare non solo il germoplasma di specie spontanee rare o minacciate di estinzione, ma anche delle popolazioni locali di specie più comuni e rappresentative di diversi ambienti pugliesi.

LETTERATURA CITATA

- BROWN A.H.D., MARSHALL D.R., 1995 - *A basic sampling strategy: theory and practice*. In: GUARINO L., RAMANATHA RAO V., REID R. (1995), *Collecting Plant Genetic Diversity, Technical guidelines*. CAB International.
- ELLIS R., HONG T.D., ROBERTS E.H., 1985 - *Handbook of seed technology for genebanks*. Vol. I. *Principles and methodology*. Rome: Intern. Board Plant Genetic Resources.
- FORTE L., MACCHIA F., CARRUGGIO F., MANTINO F., 2006 - *Gli interventi di conservazione dell'habitat prioritario "Pseudo-steppe with grasses and annuals of the Thero-Brachypodietea" nell'area delle Gravine dell'Arco Jonico (Puglia)*. Progetto LIFE 03 NAT/IT/000134. 3° Conv. Naz. Piante Mediterranee (in stampa).
- FRANCINI CORTI E., 1966 - *Aspetti della vegetazione pugliese e contingente paleogeico meridionale nella Puglia*. Ann. Accad. Ital. Sci. For., 15: 137-193.