

**PREMIO TESI DI LICHENOLOGIA
2005**

Il premio 2004 è stato assegnato per la categoria "Laurea Specialistica – Vecchio Ordinamento" alla dott.ssa Lucia Muggia per la dissertazione Variabilità genetica e morfologica nei licheni endolitici di Caloplaca sect. Pyrenodesmia (Teloschistales, Ascomycota) in Italia. Per la categoria "Laurea Triennale" il premio è stato assegnato al dott. Luigi Leandrin che ha presentato la tesi Revisione sistematica dei licheni epifiti del genere Punctelia Krog in Italia.

Complimenti ai neo-dottori !

**VARIABILITÀ GENETICA E MORFOLOGICA NEI LICHENI ENDOLITICI DI
CALOPLACA SECT. PYRENODESMIA (TELOSCHISTALES, ASCOMYCOTA) IN
ITALIA.**

Lucia MUGGIA

Università degli Studi di Trieste

In questo lavoro è stata studiata la variabilità genetica e morfologica dei taxa endolitici del genere *Caloplaca* Th. Fr. sezione *Pyrenodesmia* (A.Massal.) Boist. presenti in Italia. Per testare l'origine monofiletica di *Pyrenodesmia* è stata condotta un'analisi filogenetica, cercando al contempo di risolvere i complessi problemi nomenclaturali e di delimitazione su base fenetica delle specie endolitiche appartenenti a questa sezione. A tale fine è stato effettuato un campionamento in 16 stazioni disposte lungo un gradiente latitudinale, dal promontorio del Gargano alle Prealpi Sud-orientali, tra i 200 m e i 2000 m di altitudine, che ha portato alla raccolta di 204 campioni, che sono stati analizzati sia dal punto di vista morfo-anatomico che genetico. Sono state quindi effettuate:

1. osservazioni quantitative allo stereomicroscopio e al microscopio ottico relative a 21 caratteri, tra cui dimensione e forma di apoteci, asco- e coniospore, forma e grado di ramificazione delle parafisi, presenza di cristalli nell'epitecio e loro permanenza dopo lavaggio con acido acetico 5%, reazione degli apoteci dopo lavaggio con acido nitrico 1N;
2. estrazioni del DNA (Cubero & Crespo 1999); amplificazione della regione nucleare ITS1-5,8rDNA-ITS2 del micobionte mediante i primer ITS1F e ITS4 (Gardes & Bruns 1993); purificazione dei prodotti di PCR e loro sequenziamento, per un totale di 130 sequenze;
5. analisi multivariata dei dati morfoanatomici con il programma Cocesig (Lagonegro 1991);
6. "assembling" ed allineamento delle sequenze ottenute con il programma BioEdit;
7. analisi aplotipica delle sequenze di DNA utilizzando il programma TCS;
8. analisi filogenetica dei dati molecolari utilizzando i programmi PAUP 4.0, Modelst, MrBayes, Tree View, includendo anche sequenze di altre specie di *Caloplaca* ottenute dalla banca dati NCBI.

I risultati ottenuti dimostrano che:

1. I taxa considerati presentano un'elevata variabilità morfologica. L'analisi fenetica ha messo in evidenza tre morfotipi principali, due dei quali corrispondono a *Caloplaca erodens*, una specie descritta solo recentemente, e ad una specie nuova per la scienza, *C. sp1*. Il terzo morfotipo comprende campioni piuttosto omogenei, che si possono suddividere in sottogruppi solo con una certa difficoltà.

2. L'elevata variabilità morfologica trova riscontro in un'altrettanto elevata, quanto inedita variabilità genetica, con ben 86 aplotipi su 130 sequenze analizzate.
3. L'analisi filogenetica ha messo in evidenza diversi cluster ben supportati, con valori di PP superiori all'80%. Alcuni di questi corrispondono alle specie morfologiche di cui al punto 1 (*C. erodens*, *C. sp.1*), altri a due specie epilittiche (*C. variabilis* e *C. chalybaea*), spesso considerate conspecifiche, altri due infine, che presentano i caratteri del terzo morfotipo, sono stati ritenuti corrispondere a *C. alociza* e *C. agardhiana*
5. L'analisi filogenetica dei rappresentanti di *Pyrenodesmia* con altre specie del genere *Caloplaca* supporta l'origine monofiletica della sezione.

Ogni specie riconosciuta è stata quindi dettagliatamente descritta e commentata con note critiche relative a distribuzione, variabilità genetica e aspetti nomenclaturali. Da questo studio sono emersi diversi aspetti critici da approfondire nel corso di ulteriori ricerche: l'analisi morfologica e genetica di altri campioni di *Caloplaca variabilis* e di specie calcicole epilittiche che attualmente non sono note per la Flora Italiana e l'analisi molecolare di un diverso locus genico per verificare se viene riscontrata una eguale elevata variabilità genetica.

COSA INFLUENZA LA DIVERSITÀ LICHENICA SU TRONCHI DI CONIFERE SANE E DANNEGGIATE? TRA VECCHIE E NUOVE IPOTESI

Elisa BARAGATTI

Università degli Studi di Sier

Alcuni studi effettuati in boschi di conifere dell'Europa centrale e dell'America settentrionale danneggiati dalle piogge acide hanno evidenziato una diversità lichenica epifita più elevata su tronchi di alberi morti o danneggiati piuttosto che su tronchi di alberi sani o meno danneggiati. Per spiegare tale apparente anomalia, sono state avanzate varie ipotesi.

La spiegazione tradizionale è basata sul fatto che la diminuzione o la mancanza degli aghi consentirebbe una maggiore illuminazione, promuovendo così quelle specie favorite da tali situazioni. Un'altra possibile spiegazione ipotizza che la maggiore capacità della scorza degli alberi morti di trattenere acqua potrebbe avere creato un ambiente più favorevole per i licheni. Ipotesi più recenti indicano che la mancanza degli aghi, considerati importanti nell'intercettazione degli inquinanti atmosferici, potrebbe aver portato ad una minore presenza di sostanze fitotossiche in particolare nello stemflow, ma anche nella scorza degli alberi.

Per verificare queste ipotesi, ma anche per avvanzarne altre, è stato effettuato uno studio in un rimboschimento di *Pinus pinaster* in un'area del Chianti lontana da fonti di inquinamento. L'area non risulta essere stata interessata da piogge acide, nemmeno in passato, ma è possibile trovarvi un'ampia casistica di pini morti o danneggiati a causa di agenti biogeni (per lo più processionaria) frammiste a piante sane. Un indice di diversità lichenica (IDL) è stato misurato sia sul lato nord che su quello sud del tronco di alberi aventi una trasparenza della chioma (rilevata tramite confronto con standard fotografici di riferimento) <25% oppure >75%, ovvero alberi che basandosi sulla defoliazione vengono classificati rispettivamente come "sani" oppure come "seriamente danneggiati" o "morti". Oltre alla diversità lichenica è stato misurato il flusso luminoso, la temperatura e l'umidità relativa, sotto chioma nelle due esposizioni. Sono stati prelevati, sempre in entrambe le esposizioni, campioni di scorza per la determinazione di ritenzione idrica, pH, conducibilità, concentrazione di ione ammonio e vari elementi (Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na).

La vegetazione lichenica si presentava ricca in elementi acidofili quali *Parmelia caperata*, *Hypogymnia physodes*, *Lecanora strobilina*, *Lepraria lobificans*. I risultati hanno evidenziato che la trasparenza della chioma non influisce sulla diversità lichenica epifita, ma che piuttosto è l'esposizione che gioca un ruolo fondamentale, facendo registrare nella porzione di tronco esposta a Nord una maggiore presenza di specie rispetto a quella esposta a Sud. Le variabili misurate a Sud sugli alberi con una maggiore trasparenza e

quelle misurate a Nord degli alberi con minore trasparenza, sono risultate le più differenti. La luminosità e le concentrazioni di Fe nella scorza sono risultate statisticamente più elevate nel primo gruppo, mentre il pH e le concentrazioni di Ca nella scorza sono risultate rispettivamente più basse e più alte negli alberi con minore trasparenza. Tuttavia, le concentrazioni degli elementi ritrovati non spiegano l'andamento della diversità lichenica. In luoghi pressoché naturali, dove l'inquinamento e l'intervento dell'uomo sono minimi, la distribuzione delle specie licheniche epifite è essenzialmente determinata da fattori microclimatici, come la luminosità, la temperatura e l'umidità e da caratteristiche fisiche della scorza come la ritenzione idrica.

EFFETTI DELLA FRAMMENTAZIONE DELL' HABITAT SULLA DIVERSITÀ DELLE COMUNITÀ LICHENICHE EPIFITE

Elisa CALVINI

Università degli Studi di Firenze

La frammentazione è il processo mediante cui un habitat naturale o seminaturale che occupa con continuità una vasta area viene suddiviso in piccole porzioni e diminuisce di superficie (Reed *et al.*, 1996). Tale processo porta al progressivo degrado degli ambienti naturali, compromettendone innanzitutto la biodiversità, e la minaccia è talmente reale che uno dei temi prioritari delle azioni di programmazione a livello internazionale e comunitario è divenuto da tempo la "conservazione della biodiversità" (es. Convenzione di Rio sulla Diversità, 1992).

Nel 1958 Barkman ipotizza che, per quanto riguarda i licheni epifiti, la frammentazione ambientale può avere effetti diversi a seconda del tipo di comunità interessata. Il presente lavoro si propone di fornire ulteriori dati a favore di questa ipotesi, coscienti del fatto che gli effetti diretti e indiretti della frammentazione sono ancora in parte sconosciuti, mentre la velocità con cui questo fenomeno si espande richiederebbe maggiori studi in proposito, soprattutto se si considera che senza adeguate conoscenze poco può essere fatto in termini di conservazione (Murcia, 1995).

La raccolta dei dati è stata effettuata lungo un gradiente altitudinale che va da 0-1000 m, in quattro aree con diversa tipologia vegetazionale, assoggettate a diverse forme di governo e trattamento. La strategia di campionamento utilizzata è di tipo randomizzato semplice. L'individuazione delle unità di campionamento (OGUs) è stata effettuata su scala 1:25000. Le OGUs sono state quantificate, numerate e selezionate in numero proporzionale all'estensione delle aree di studio. Utilizzando un retino da campionamento (ANPA, 2001), laddove le circostanze lo hanno consentito, sono stati monitorati tre alberi per stazione, con preferenza per esemplari di *Castanea sativa* e specie appartenenti al genere *Quercus*. Successivamente sono state calcolate la BL di ogni rilievo e la diversità lichenica di ciascuna stazione. I rilievi a Vinca e a Macchia Antonini sono stati condotti rispettivamente in vecchi castagneti da frutto, con esemplari di notevoli dimensioni, e in una cerreta che, dopo intensa attività di disboscamento, è stata riconvertita ad alto fusto (ormai costituita da esemplari con circonferenza superiore a 100 cm). Entrambe le aree si trovano ad una altitudine media che va dai 900 ai 1000 m, e presentano condizioni macroclimatiche simili, in cui le attività antropiche sono riconducibili alla sola gestione forestale. Nelle aree di Pistoia e Cerbaie invece, l'alto grado di frammentazione ambientale che si registra è dovuto sostanzialmente agli insediamenti urbani, alle colture intensive e ai vivai, e un forte fattore

limitante è costituito anche dall'inquinamento atmosferico. Le stazioni qui monitorate raggiungono altitudini massime pari a 90 m, e le condizioni ecologiche sono simili. Vista l'elevata frammentazione la vegetazione di Pistoia è limitata a piccoli nuclei o formazioni lineari, quella di Cerbaie è costituita da lembi di vegetazione planiziale.

Le differenze nella composizione specifica delle varie comunità monitorate sono state messe in evidenza raccogliendo per ciascuna specie i valori ecologici che la caratterizzano rispetto alle altre e organizzando questi dati in grafici che mostrano la distribuzione percentuale delle specie individuate in ciascuna area secondo i parametri ecologici considerati.

Comparando i dati è possibile evidenziare come la frammentazione degli habitat influisca in modo diverso sulle differenti comunità licheniche. Le stazioni monitorate a Pistoia, dove sarebbe lecito aspettarsi valori di BL piuttosto bassi dato l'alto grado di disturbo antropico, presentano mediamente indici di diversità simili, sebbene estremamente poco uniformi, rispetto a quelle di Vinca, dove i livelli di antropizzazione sono molto meno evidenti. Un tale risultato può essere giustificato accettando l'ipotesi che le comunità costituite da specie pioniere non siano danneggiate ma piuttosto avvantaggiate dalla frammentazione dell'habitat (Barkman, 1958), e in effetti l'alterazione dei parametri ecologici provocata da tale fenomeno (si verifica in particolare un aumento di intensità di luce e di eutrofizzazione contro una diminuzione di della disponibilità idrica; Murcia, 1995, Essen & Renhorn, 1998) si confà perfettamente alle esigenze ecologiche mostrate da comunità di questo tipo. Al contrario, quelle associazioni specifiche che richiedono per il loro sviluppo condizioni ambientali costanti per lunghi periodi di tempo e che presentano particolari esigenze di luce e di apporto idrico (come per esempio quelle monitorate a Vinca), sono molto vulnerabili di fronte a fenomeni di frammentazione, e sono le prime a scomparire. Alla luce di ciò ritengo che da un punto di vista conservazionistico sia molto importante dedicare quanto più spazio possibile allo studio delle previsioni di quelle che potrebbero essere le conseguenze delle nostre azioni.

**INFLUENZA DELLA GESTIONE FORESTALE SULLA DISTRIBUZIONE DI
LOBARIA POLMONARIA (L.) HOFFM. NELL'APPENNINO SETTENTRIONALE**

Alessia SAMARI FAPPIANO

Università degli Studi di Firenze

Lobaria pulmonaria (L.) Hoffman, lichene folioso epifita, comune nel periodo pre-industriale nelle regioni boreali umido-temperate e nelle regioni più fredde dei tropici, è attualmente in forte declino in tutta l'Europa Nord-occidentale (Scheidegger *et al.*, 1998). Alcuni autori hanno individuato come cause della riduzione della sua distribuzione tanto gli effetti dell'inquinamento atmosferico, principalmente sotto forma di piogge acide, quanto l'impatto antropico esercitato dalla gestione forestale o dal definitivo abbattimento di antiche foreste. Da numerosi studi, tutti relativi al Nord Europa, risulta che *Lobaria pulmonaria*, oltre ad un limitato range ecologico nel quale è capace di sopravvivere, presenta sia una limitatissima capacità di dispersione delle spore, stimata in un range di 100 m (Werth *et al.*, 2004), sia una certa difficoltà a colonizzare le cortecce di giovani alberi con nuovi talli (Scheidegger, 1995).

Lo scopo di questo lavoro è stato in primo luogo quello di indagare la distribuzione di *Lobaria pulmonaria* nell'Appennino Settentrionale e nelle Alpi Apuane per verificare e testare i principali fattori d'influenza sul suo sviluppo e diffusione, secondariamente constatare se queste osservazioni concordavano con quelle effettuate a latitudini maggiori nelle foreste boreali dagli altri autori. Per raggiungere questo obiettivo, nel periodo compreso tra Novembre 2002 e Novembre 2004, sono stati effettuati 270 rilievi in 57 stazioni distribuite sull'Appennino Settentrionale e sulle Alpi Apuane. L'installazione delle stazioni è avvenuta attuando un campionamento stratificato; i rilievi sono stati perciò ripartiti e distribuiti proporzionalmente alle superfici occupate dalla tipologia vegetazionale e dalla pratica selvicolturale.

Dai risultati è emerso una differenza altamente significativa della presenza della specie nelle diverse tipologie vegetazionali; ma soprattutto, la presenza di *Lobaria pulmonaria*, è legata al tipo di governo del bosco. In particolare la presenza di questa specie è correlata a quella di alberi con grosso diametro. Per questo *Lobaria* è maggiormente presente nei boschi ad alto fusto, dove ha la possibilità di disperdere le proprie spore in maniera efficace e successivamente avere il tempo di colonizzare i tronchi limitrofi, mentre è assente o rarissima nei cedui dove non è capace né di insediarsi né di perpetuarsi. In conclusione si può affermare che anche nell'area mediterranea, come nel Nord Europa, le comunità di *Lobaria pulmonaria* sono in declino, soprattutto per la veloce e progressiva scomparsa degli habitat in cui la specie può svilupparsi e riprodursi: questa scomparsa è dovuta

principalmente a pratiche selvicolturali quali la ceduzione che modifica drasticamente gli habitat originari rendendoli incompatibili alla presenza di questa specie.

**BIODETERIORAMENTO DEI MONUMENTI: IL RUOLO DEI LICHENI. CASO DI
SANTA MARIA DELLA SERRA- MONTALTO UFFUGO (Cs)**

Maria MACCHIONE

Università degli Studi della Calabria

Questo studio tratta i fenomeni alternativi relativi all'azione della flora lichenica impiantata su un edificio monumentale presente a Montalto Uffugo in provincia di Cosenza.

Sulla base delle osservazioni visive è stata rilevata una estesa colonizzazione ad opera di diverse specie licheniche, soprattutto riguardante il basamento del Duomo particolarmente ricoperto di vegetazione lichenica. In particolare, è stata posta attenzione soprattutto ad un particolare tipo di degrado biologico che si è attivato e sviluppato sulle superfici esterne della Chiesa di S. Maria della Serra a Montalto (CS). Pertanto è stata predisposta una metodologia specifica che, a partire dai primi sopralluoghi, si è man mano sempre più definita ed articolata.

Il degrado operato dai licheni sulle superfici è dovuto a processi di tipo fisico (biogeofisici) e chimico (biogeochimici).

L'obiettivo principale è consistito nel cercare di capire l'interazione tra la specie ed il supporto roccioso. A tal fine si è programmato un monitoraggio del monumento per osservare la variazione e la vitalità vegetativa dei licheni. Sono stati infatti effettuati diversi sopralluoghi scanditi nel tempo, durante l'arco temporale di circa un anno, al variare delle stagioni. Durante ciascun sopralluogo sono stati effettuati dei prelievi di campioni composti da licheni ancorati al supporto roccioso, seguendo le indicazioni riportate nelle raccomandazioni Normal con particolare riferimento alla Normal-3/80 Materiali Lapidei: Campionamento.

Tale Normal indica appunto le modalità da seguire nel prelievo di campioni per lo studio dei processi di alterazione ed il controllo degli interventi conservativi. I campioni di materiale prelevati dal monumento in studio sono stati osservati mediante diverse tecniche di laboratorio. Per caratterizzare adeguatamente sia i licheni che il substrato lapideo, sono state svolte delle appropriate analisi di laboratorio (in particolare, per quanto riguarda i licheni, le fasi di trattamento e preparazione dei campioni hanno seguito un protocollo che ha necessitato un adeguamento specifico delle metodologie tradizionali).

Per analizzare i campioni sono state preliminarmente preparate delle sezioni sottili seguendo un protocollo standard codificato da esperti del settore, prestando particolare attenzione all'interfaccia "aria-licheni/roccia". In particolare, i campioni utilizzati a realizzare le sezioni sottili riguardanti l'interfaccia roccia-lichene sono stati preliminarmente trattati con gluteraldeide al fine di garantire la visibilità e quindi l'osservazione della parte organica.

Gli aspetti morfologici dell'interazione lichene-substrato sono stati osservati al microscopio elettronico a scansione (SEM), mentre per lo studio dell'identificazione dei minerali presenti nel campione è stata svolta l'analisi diffrattometrica ai raggi X. Tenendo sempre conto dell'interfaccia lichene-substrato le sezioni sottili sono state anche osservate al microscopio a polarizzatori incrociati, permettendo di osservare il degrado dei minerali per opera dei licheni.

Osservazioni allo stereofotomicroscopio hanno permesso inoltre di esaminare i campioni con le loro valenze cromatiche reali nonché la struttura biologica dei licheni.

Per identificare i licheni è stato fatto uno studio floristico che si è concentrato solo sulle due specie crostose maggiormente presenti sul manufatto lapideo: *Caloplaca flavescens* e *Caloplaca coronata*.

Le due specie sono presenti sia sul lato destro che sinistro della Chiesa ed in parte anche sulla gradinata.

Occorre dire che il prospetto principale della Chiesa è comunque caratterizzato anche da altri tipi di degrado infatti nelle zone più oscure e riparate è presente il fenomeno dello shaw-out, dovuto alla difficoltà dell'acqua a scivolare sulle superfici con conseguente formazione di accumuli che originano delle croste nere (è stato possibile notare anche il pitting).

L'intento dello studio è stato quello di dare un contributo conoscitivo di base per chi volesse approfondire l'azione di attacco dei licheni ai manufatti di valore artistico-monumentale.

**EFFETTI DEI CAMBIAMENTI CLIMATICI SU ALCUNI PARAMETRI
ECOFISIOLOGICI DEI LICHENI: PRIMI DATI PER LA MESSA A PUNTO DI UN
SISTEMA DI MONITORAGGIO BIOLOGICO**

Tommaso PISANI

Università degli Studi di Siena

Lo scopo della presente tesi è stato quello di studiare l'effetto di variazioni climatiche indotte sull'ecofisiologia dei licheni. Gli effetti della temperatura, dell'intensità luminosa e dell'umidità relativa sono stati indagati su tre specie di licheni epifiti. In un primo esperimento sono stati indagati sperimentalmente gli effetti di elevate temperature sulla quantità di pigmenti fotosintetici e sull'integrità della clorofilla e delle membrane cellulari in *Evernia prunastri*, mentre in un secondo esperimento è stata confrontata la quantità di pigmenti fotosintetici e la degradazione della clorofilla in campioni di *Xanthoria parietina*, *Flavoparmelia caperata* e di *E. prunastri* raccolti nel mese di Agosto su due opposti versanti (nord e sud) e in due gruppi di campioni esposti sperimentalmente per un mese, sempre in Agosto, uno verso nord e l'altro verso sud. In questo ultimo caso, metà dei talli di ciascun gruppo sono stati irrorati ogni giorno con acqua deionizzata per valutare le differenze tra campioni idratati e campioni asciutti.

Il primo esperimento non ha mostrato alterazioni nei pigmenti fotosintetici né danneggiamenti alle membrane cellulari nei campioni tenuti a 40° C per 24 ore, mentre sono stati registrati effetti negativi per il trattamento a 80° C per 24 ore. Il passaggio graduale da 40 a 80° C in 96 ore ha evidenziato effetti simili al trattamento diretto a 80° C. Un trattamento prolungato (48-96 ore) a 40° C non degrada la clorofilla e non causa alterazioni nella conducibilità elettrica ma provoca una riduzione delle concentrazioni dei pigmenti fotosintetici. Il principale responsabile di questo effetto non sembra la temperatura ma piuttosto il prolungato periodo di buio al quale sono stati sottoposti i campioni durante il trattamento in stufa. La conducibilità elettrica si è rivelata invece un buon indicatore degli effetti di elevate temperature.

Per quanto riguarda l'effetto dell'esposizione, nei campioni raccolti su due opposti versanti, N e S, è stata osservata una significativa degradazione della clorofilla solo nei campioni di *E. prunastri* raccolti a sud. Una maggiore concentrazione di clorofilla e carotenoidi è stata riscontrata in *X. parietina* rispetto a *F. caperata* ed *E. prunastri*. Dall'esperimento di trapianto risulta che la variabile che più di ogni altra è responsabile di differenze significative è la specie. Per tutti i parametri, *X. parietina* assume i valori più alti ed *E. prunastri* i più bassi. Confrontando i trapianti di ogni singola specie si osserva che in *X. parietina* e in *F. caperata* non ci sono differenze significative tra N e S mentre per *E. prunastri* tutti i parametri assumono valori significativamente più bassi a S, anche rispetto ai controlli. Tra i campioni bagnati e quelli non

bagnati non sono state registrate nel complesso differenze significative. *E. prunastri* è risultata la specie più sensibile, in grado di evidenziare differenze nei parametri climatici considerati.

**LA DIVERSITÀ LICHENICA COME INDICATORE DI QUALITÀ AMBIENTALE A
GORGONZOLA (MI): CONFRONTO CON DATI PREGRESSI**

Mauro RIGAMONTI

Università degli Studi di Pavia

Questo lavoro di tesi presenta i risultati di uno studio di biomonitoraggio eseguito, mediante l'utilizzo di licheni epifiti, a Gorgonzola, cittadina dell'hinterland di Milano.

Lo scopo è quello di valutare la qualità dell'aria nel Comune, già monitorato in anni precedenti, così da poter seguire l'evoluzione temporale della qualità ambientale.

Tra gli indicatori biologici i licheni, ed in particolare quelli epifiti, si sono rivelati ampiamente idonei a causa dell'elevata sensibilità nei confronti dell'inquinamento atmosferico in particolare, data la stretta dipendenza del loro metabolismo dall'atmosfera.

Tra i molti fattori che influenzano la vita di questi organismi, il clima è senz'altro molto importante; per tale ragione in questa indagine di biomonitoraggio si è altresì attuato uno studio approfondito della situazione climatica, dell'umidità atmosferica e dei venti dell'area in esame: le caratteristiche climatiche sono essenzialmente temperato continentali con affinità di tipo padano.

Sono stati condotti rilevamenti lichenologici in tredici stazioni, delle quali nove di Tiglio (*Tilia spp.*) e cinque di Pioppo nero (*Populus nigra*), per un totale di quaranta rilievi.

Per i rilievi, finalizzati alla valutazione della qualità dell'aria, è stato utilizzato il metodo di Nimis (1999), basato sul calcolo della frequenza dei licheni epifiti autoctoni mediante applicazione di un apposito indice di biodiversità lichenica (BLs).

Dall'analisi dei dati ottenuti, confrontati con quelli precedenti, emerge un miglioramento piuttosto marcato delle condizioni della qualità dell'aria nell'area di Gorgonzola.

Effettivamente si osserva che tutte e 13 le stazioni esaminate nel corso degli anni fanno registrare una ripresa degli indici di BLs ed una progressiva diminuzione delle stazioni con inquinamento alto che passano dalle 4 del 1999/2000 ad 1 nel 2002 e nel 2004.

Possiamo inoltre sottolineare che nel 2004 il maggior numero di stazioni presenta inquinamento moderato a differenza di quanto avveniva negli anni passati quando in molte stazioni i bassi indici di BLs indicavano situazioni di inquinamento da medio alto ad alto.

Dobbiamo infine segnalare che, nel 2004, una stazione presenta un valore di BLs molto alto (maggiore di 50), che ci fornisce un'ulteriore conferma del miglioramento della qualità dell'aria.

Da questa indagine emerge dunque una situazione complessa, in continua evoluzione e che, ci sembra, meriti di essere ulteriormente indagata, ripetendo le osservazioni nelle zone più critiche, individuando nuovi punti di rilevamento ed, eventualmente, i punti più idonei per la collocazione di centraline di rilevamento automatico.

Da ultimo crediamo che sarebbe molto utile integrare questo studio con l'uso di bioaccumulatori, siano essi licheni oppure altri organismi come, ad esempio, le briofite, che offrono il vantaggio di un'ampia distribuzione nell'emisfero boreale, caratteristica che li rende facilmente utilizzabili come accumulatori naturali in una varietà di habitat e siti differenti.

Bibliografia:

NIMIS P.L., 1999 - Linee-guida per la bioindicazione degli effetti dell'inquinamento tramite la biodiversità dei licheni epifiti. Atti del Workshop "Biomonitoraggio della qualità dell'aria sul territorio nazionale", >Roma 26-27 novembre 1998 Anpa, Atti 2/1999: 267-277

**TECNICHE ISTOCHIMICHE PER LO STUDIO DELLA LOCALIZZAZIONE DI
METALLI PESANTI IN *PSEUDEVERNIA FURFURACEA***

Simona RININO

Università degli Studi di Genova

La conoscenza dei modelli di localizzazione dei contaminanti inorganici nel tallo lichenico può contribuire ad una migliore comprensione della capacità di accumulo e della tossitolenza delle diverse specie.

I diversi metodi di indagine finora impiegati comprendono la tecnica delle eluizioni sequenziali, la microscopia a raggi X e l'istochimica; in questa tesi si è cercato di adattare i classici test istochimici, utilizzati per la localizzazione di elementi minerali, utilizzati in istopatologia umana, alle condizioni del tallo lichenico. A questo scopo si è resa indispensabile una modificazione del normale protocollo descritto in letteratura, in quanto l'applicazione delle tecniche istochimiche è spesso problematica a causa della solubilità e della non reattività dei minerali prima della reazione, dell'alterazione dei siti di localizzazione e della solubilità dei prodotti colorati.

Le modificazioni apportate riguardano i processi di fissazione, l'inclusione dei campioni in resina per ottenere sezioni sottili e la modificazione delle temperature di reazione che permettono una migliore penetrazione del colorante nel campione incluso in resina.

Talli di *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf var. *furfuracea* raccolti su larice nelle Alpi Carniche, sono stati immersi per tre giorni in soluzioni 100µg/ml di differenti sali a pH 5.5 al fine di introdurre nel tallo alcuni cationi: Al³⁺, Cd²⁺, Cu²⁺, Fe³⁺, Fe²⁺, Hg²⁺, Mn²⁺, Ni²⁺, Pb²⁺, Zn²⁺

Dopo immersione i campioni sono stati fissati in formalina tamponata che, tra tutti i fissativi utilizzati, è stato quello che ha fornito i risultati migliori e successivamente disidratati in una serie alcolica e infine inclusi in una resina di glicole metacrilato.

Le sezioni ottenute tagliando i campioni con un ultramicrotomo a lama di vetro sono state poi colorate mediante l'uso di diversi test istochimici.

I dati mostrano che in *Pseudevernia furfuracea* Al³⁺ e Hg²⁺ vengono accumulati all'interno delle cellule corticali, algali e medullari, Pb²⁺ e Zn²⁺ vengono complessati extracellularmente a livello dello scleroplectenchima superiore ed inferiore, e Mn²⁺ viene accumulato principalmente all'esterno delle cellule benché sia visibile una debole reattività anche nel lume delle cellule corticali e del fotobionte. Gli altri metalli vengono complessati sia all'interno che all'esterno delle cellule. I miei dati rilevano inoltre che le melanine che ricoprono la superficie corticale dei lobi tallini più giovani e l'apice degli isidi, svolgono un ruolo importante come ligandi extracellulari per gli ioni ferrici, ferrosi e rameici.

**REVISIONE SISTEMATICA DEI LICHENI EPIFITI DEL GENERE *PUNCTELIA*
KROG IN ITALIA**

Luigi LEANDRIN

Università degli Studi di Trieste

Lo studio consiste nella revisione sistematica delle specie epifite appartenenti al gruppo *Punctelia* Krog presenti sul territorio italiano. Inoltre è stata valutata la loro frequenza nella regione Friuli - Venezia Giulia per interpretarne l'ecologia. Le specie oggetto dello studio sono *Punctelia borrieri* (Sm.) Krog, *P. perreticulata* (Räsänen) G. Wilh. & Ladd., *P. subrudecta* (Nyl.) Krog e *P. ulophylla* (Ach.) van Herk & Aptroot. A causa di una notevole somiglianza morfologica, nel corso degli anni, la suddivisione sistematica di queste quattro specie ha subito numerose controversie. L'interesse di questa ricerca deriva dal fatto che le specie in questione, in particolare *P. borrieri* e *P. subrudecta*, sono estremamente comuni in ambienti semi-naturali e antropizzati, e sono spesso riportate in lavori di biomonitoraggio ambientale basati sulla stima della biodiversità lichenica (I.B.L., Indice di Biodiversità Lichenica, vedi Nimis 1999). Perciò una loro identificazione, basata su caratteri diacritici di facile visualizzazione anche in campo, è di fondamentale importanza. Per eseguire la revisione critica sono stati analizzati un totale di 1000 campioni raccolti in Italia e conservati presso i maggiori istituti scientifici italiani ed esteri, erbari privati e campioni raccolti in campo. È stata valutata la capacità discriminante dei caratteri normalmente riportati nelle chiavi di identificazione (ad es. presenza di pruina sul tallo, osservazione del colore al centro del cortex inferiore, disposizione dei sorali), confrontandola con quella di caratteri osservabili al SEM (ad es. osservazione della morfologia dei cristalli di pruina e misura del diametro dei soredi) o ottenibili mediante test cristallografici o cromatografici (ad es. presenza di acido giroforico e acido lecanorico). Nella seconda parte del presente lavoro è stata studiata la distribuzione di frequenza in Friuli - Venezia Giulia delle tre specie presenti (*P. borrieri*, *P. subrudecta*, *P. ulophylla*). Sono state scelte 8 aree di campionamento con condizioni ecologiche diverse. Per la presenza in Friuli - Venezia Giulia di ambienti estremamente diversificati, che vanno dalle zone costiere, alla fascia delle risorgive, alla zona prealpina è stato possibile eseguire i campionamenti in aree con caratteristiche diverse ed aumentare così le conoscenze sulle esigenze ecologiche delle specie. Nella parte finale del lavoro, oltre ad una scheda riassuntiva delle caratteristiche di ciascuna specie, si riportano i dati dei campioni esaminati, e una chiave di identificazione.

**RISPOSTA DEI LICHENI EPIFITI AI CONTAMINANTI DA TRAFFICO VEICOLARE
CON PARTICOLARE RIFERIMENTO AI COMPOSTI AZOTATI**

Elisa CAPRASECCA

Università degli Studi di Siena

È stato effettuato uno studio di biomonitoraggio lungo un tratto rettilineo della strada statale ad alto traffico (ca. 10.000 veicoli/d) Siena–Grosseto in un sito nel Comune di Campagnatico (GR). L'area indagata, essendo relativamente lontana da altre fonti inquinanti di ossidi di azoto e ammoniaca, è stata scelta al fine di isolare gli effetti delle sostanze azotate emesse dal traffico veicolare sulla vegetazione lichenica epifita.

In corrispondenza del versante orientale della strada, è stata delimitata un'area di campionamento di 600×400 m all'interno della quale sono stati individuati 3 plot, posizionati a distanza crescente dalla strada (rispettivamente 0, 150, 300 m). All'interno di ogni plot, sono stati effettuati: 1) campionamenti della diversità lichenica, 2) analisi di pH, conducibilità e concentrazione di NH_4^+ in campioni di scorza, 3) misure di NH_3 e NO_2 in atmosfera tramite campionatori passivi, 4) accumulo di azoto, metalli pesanti e platinoidi in trapianti del lichene *Evernia prunastri*, 5) analisi dell'integrità delle membrane cellulari e della degradazione dei pigmenti fotosintetici in trapianti del lichene *Evernia prunastri*.

Le concentrazioni di NO_2 sono risultate inversamente correlate con la distanza dalla strada, individuando nel traffico veicolare un'importante fonte di emissione. Le concentrazioni di NH_3 sono risultate basse e comprese nel range di background regionale. Nonostante sia stato osservato un aumento nel numero di specie all'aumentare della distanza dalla strada, nessuno degli indici di diversità lichenica calcolati ha mostrato differenze significative fra i 3 plot. Il lichene *Evernia prunastri* ha accumulato azoto rispetto al bianco ma non sono state misurate concentrazioni significativamente diverse fra i 3 plot. Gli unici elementi che sono stati accumulati nel periodo di esposizione sono Fe, Sb e Ti in tutti e 3 i plot, Mn nel plot 3 e Zn nel plot 2; ciò fa ipotizzare che il flusso di traffico della strada non sia tale da determinare un apporto di elementi in traccia significativo durante i 2 mesi di esposizione. L'analisi del contenuto di pigmenti fotosintetici ha mostrato una diminuzione delle clorofille con la distanza dalla strada, ma non una degradazione a feofitina.

**CORRELAZIONE TRA INCIDENZA DI TUMORE ALLE VIE RESPIRATORIE E
BIODIVERSITÀ DEI LICHENI EPIFITI: UN CASO STUDIO NELLA PROVINCIA DI
GROSSETO.**

Giovanni EVANGELISTI

Università degli Studi di Siena

Lo scopo di questa tesi è stato quello di evidenziare le possibili correlazioni tra l'utilizzo della biodiversità dei licheni epifiti licheni come indicatori della qualità dell'aria e l'incidenza dei casi di carcinoma maligno delle vie respiratorie nella Provincia di Grosseto.

In 63 stazioni selezionate con un disegno di campionamento sistematico è stato misurato un indice di diversità lichenica (IDL). I valori di questo indice sono stati elaborati in ambiente GIS con metodi di interpolazione in modo da derivare delle mappe "al continuo" da dati discreti puntuali. La tecnica usata è l'*inverse distance weighting* (IDW), basata sull'assunto che i valori di punti più vicini spazialmente siano più simili di quelli di zone più distanti (autocorrelazione spaziale). L'interpolazione ottenuta è stata poi correlata con le classi di uso del suolo al fine di evidenziare l'influenza delle varie attività umane con la presenza di zone più o meno inquinate. I risultati ottenuti mostrano come l'IDL risulta essere più elevato nelle zone naturali come boschi o foreste, mentre i valori tendono a diminuire nelle zone più antropizzate come terreni agricoli o centri urbani.

Un'ulteriore analisi è stata effettuata scorporando i valori dell'IDL secondo le varie tipologie di specie presenti (nitrofile, acidofile, strettamente nitrofile, strettamente acidofile e non nitrofile), ottenute in base a fattori che ne determinano lo sviluppo. Correlando i valori così scorporati alle classi di uso del suolo è stato possibile evidenziare come i valori più elevati di correlazione siano tra le classi "nitrofile" e "strettamente nitrofile" e i territori modellati artificialmente o agricoli. I risultati ottenuti sono stati poi confrontati con i dati relativi alla mortalità per tumore alle vie respiratorie dei comuni del grossetano dal 1987 al 2001. Questo ha evidenziato come gli IDL delle *specie acidofile* e delle *non nitrofile* possano essere considerati indicatori della qualità dell'aria migliori dell'IDL totale e siano risultati negativamente correlati con l'incidenza di casi di tumore delle vie respiratorie.

**ANALISI DI BIODIVERSITÀ IN LICHENI DI AMBIENTI OFIOLITICI:
APPLICAZIONE DEL METODO BIOSISTEMATICO IN *CLADONIA POCILLUM*
(ACH.) O.J. RICH.**

Marta GALVAGNO

Università degli Studi di Pavia

Il Parco Naturale Mont Avic, è situato nella porzione sud-orientale della Valle d'Aosta, presso i comuni di Champdepraz e di Champorcher. Nella primavera del 2003 il Parco è stato ampliato arrivando ad occupare un territorio di 5.247 ettari. Sviluppato quasi interamente su substrati serpentinitici, ospita una flora fanerogamica influenzata dalle caratteristiche principali di questi suoli: bassa concentrazione di sostanza organica ed elevate concentrazioni di metalli pesanti, soprattutto nichel e cromo. Lo scopo di questo studio è stato quello di analizzare la biodiversità in popolazioni di licheni terricoli che crescono su tali substrati, per comprendere se anche la flora lichenica possa essere differenziata sulla base dei diversi fattori che caratterizzano i suoli serpentinitici.

Ciò che contraddistingue il lavoro svolto è il tentativo di utilizzare un metodo che si orienti verso un approccio di tipo biosistemico, mediante metodologie biomolecolari, nell'analisi della variabilità tra le popolazioni. Tale impostazione, garantisce la possibilità di effettuare uno studio concreto sulla variabilità genetica di una popolazione, ponendola in relazione all'habitat in cui essa vive, e di conseguenza ai fattori ecologici che lo caratterizzano.

Attualmente esistono molte ricerche incentrate nel comprendere l'azione del nichel come inquinante, ma non altrettanto per verificare se questo o altri metalli pesanti, naturalmente presenti in concentrazioni elevate ma variabili negli ambienti serpentinitici, possano avere effetti che comportino una differenziazione a livello dei talli lichenici. Vista la particolarità dell'ambiente di indagine, si è stabilito di sfruttare i valori delle concentrazioni dei metalli pesanti nel suolo, come fonte di possibile variabilità intraspecifica in popolazioni licheniche. La localizzazione dei siti di campionamento è stata guidata da dati, già esistenti, relativi a tali valori. E' stata sottoposta ad analisi molecolari la specie *Cladonia pocillum* (Ach.) O.J. Rich., perché la più rappresentata in un sottogruppo di tre siti di prelievo, caratterizzati dalla maggior eterogeneità dei valori di concentrazione di nichel, cromo e rame.

La tecnica utilizzata per le analisi molecolari è la PCR-RAPD (*Randomly Amplified Polymorphic DNA*), particolarmente utile perché può essere sfruttata quando non siano note informazioni sul genoma della specie studiata, perché permette una notevole rapidità di esecuzione e l'uso di una quantità limitata di DNA. Dal momento che si è trattato di analisi preliminari su un organismo particolare, è stato necessario fare alcune considerazioni e risolvere alcuni problemi nel corso del lavoro, prima di ottenere dei buoni

risultati; questi aspetti non sono stati tralasciati, con lo scopo di evidenziare i vari fattori che possono influenzare l'esito di analisi molecolari in ambito lichenologico. Sono stati eseguiti diversi passaggi per arrivare alla messa a punto di un protocollo per RAPD che operasse in modo corretto su *Cladonia pocillum*.

L'impiego di un DNA meno concentrato rispetto a quello derivante dall'estrazione è risultato un passo fondamentale nel conseguimento di un buon risultato. La ragione per cui l'applicazione di diluizioni al DNA è stata utile sta nel fatto che la presenza nel tallo di polisaccaridi, polifenoli, pigmenti o di alcune sostanze licheniche, può inibire il corretto processo di amplificazione.

I risultati ottenuti consentono di affermare che le differenze riscontrate tra i campioni evidenziano una marcata variabilità intraspecifica, questo fatto fornisce un forte stimolo per procedere in questo studio, nella prospettiva di arrivare a chiarire quanto effettivamente la variabilità emersa sia dovuta alle particolari caratteristiche del suolo. Sicuramente questo studio mostra che la RAPD-PCR può essere uno strumento utile nello studio della biodiversità nei licheni.

**MONITORAGGIO BIOLOGICO DELLE EMISSIONI DELLA CENTRALE
GEOTERMoeLETTRICA "TRAVALE-3" (COMUNE DI MONTIERI, GROSSETO)
TRAMITE LA DETERMINAZIONE DEI TRACCIANTI DELL'ATTIVITÀ GEOTERMICA
IN LICHENI EPIFITI**

Alice SEVERI

Università degli Studi di Siena

Nel presente lavoro è stata determinata la concentrazione dei principali traccianti dell'attività geotermica – boro, mercurio, arsenico, antimonio – in campioni di licheni raccolti in otto stazioni situate attorno alla centrale "Travale-3", allo scopo di effettuare un monitoraggio biologico delle emissioni in atmosfera attorno alla centrale stessa.

I risultati hanno mostrato che la concentrazione degli elementi indagati diminuiscono sensibilmente con la distanza dalla centrale. Tuttavia, i livelli di contaminazione nelle varie stazioni sono comunque risultati bassi, tali da non destare immediate preoccupazioni ambientali.

Un confronto con le concentrazioni degli stessi elementi determinate in licheni raccolti nelle medesime stazioni nel 2000 ha consentito di evidenziare come la situazione sia leggermente peggiorata durante gli ultimi tre anni di esercizio della centrale.