



**APAT**

Agenzia per la protezione  
dell'ambiente e per i servizi tecnici

# I ginepri come specie forestali pioniere: efficienza riproduttiva e vulnerabilità

---

---

### **Informazioni legali**

L'Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici o le persone che agiscono per conto dell'Agenzia stessa non sono responsabili per l'uso che può essere fatto delle informazioni contenute in questo rapporto.

**APAT** - Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici  
Via Vitaliano Brancati, 48 - 00144 Roma  
[www.apat.it](http://www.apat.it)

© APAT, Rapporti 40/2004

ISBN 88-448-0121-3

Riproduzione autorizzata citando la fonte

### **Elaborazione grafica**

APAT

*Grafica di copertina:* Franco Iozzoli

### **Coordinamento tipografico**

APAT - Servizio di Supporto alla Direzione Generale  
Settore Editoria, Divulgazione e Grafica

### **Impaginazione e stampa**

I.G.E.R. srl - Viale C. T. Odescalchi, 67/A - 00147 Roma

Stampato su carta TCF

Finito di stampare Marzo 2004

---

---

**Autori:**

**Serena Mugnaini, Massimo Nepi, Ettore Pacini, Luisa Sapia**

Dipartimento di Scienze Ambientali "G. Sarfatti"

Università di Siena

Via Mattioli 4, 53100 Siena

**Beti Piotto**

APAT Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici

Dipartimento Difesa della Natura

Via Curtatone 3, 00185 Roma

Edito da Ettore Pacini e Beti Piotto

In copertina immagine delle strutture riproduttive di *Juniperus communis* L. fatta eseguire da Federico Cesi (1585-1630), fondatore dell'Accademia dei Lincei, in seguito alle osservazioni effettuate con il microscopio donatogli da Galileo Galilei. Il 23 settembre 1624, nella lettera di accompagnamento di un 'occhialino' inviato in dono al Principe Cesi, Galilei scriveva: *'...Invio a V.S. un occhialino per veder da vicino le cose minime, del quale spero che ella sia per prendersi gusto e trattenimento non piccolo, che così accade a me...V.E. haverà campo larghissimo di osservar mille e mille particolari, de i quali prego a darmi avviso delle cose più curiose... è da contemplare infinitamente la grandezza della natura e quanto sottilmente ella lavora...'*

Tavola ad acquarello presente nel volume *Plantae et Flores*, ms 976, c. 137, Fonds Benjamin Delessert, Biblioteca dell'Institut de France, Parigi. Foto eseguita da P. Ragazzini per l'Accademia Nazionale dei Lincei (1986).

---



---

## Presentazione

L'APAT svolge istituzionalmente i compiti e le attività tecnico scientifiche di interesse nazionale per la protezione dell'ambiente, per la tutela delle risorse idriche e della difesa del suolo. In tale ambito il Dipartimento Difesa della Natura ha un ruolo essenziale. Le funzioni affidate all'APAT, inoltre, danno valido supporto agli impegni assunti ufficialmente dal governo italiano attraverso la ratifica delle grandi convenzioni globali (Cambiamenti Climatici, Biodiversità e Desertificazione).

Un argomento cui il Dipartimento Difesa della Natura cura con attenzione, di concerto con altri soggetti del sistema agenziale APAT-ARPA-APPA, ma anche con Enti di ricerca, è quello che riguarda il recupero delle aree soggette a degrado. Ciò significa individuare strategie da applicare, sia in modo diretto sia indiretto. Di particolare interesse sono gli ambienti costieri perché tra i più esposti a erosione e/o desertificazione; perché sono luoghi dove insistono alcuni dei più bei parchi italiani e perché sono il substrato per lo sviluppo della redditizia, ma non sempre rispettosa, industria turistica.

Tra le piante più rappresentative dell'habitat costiero i ginepri sono al primo posto in quanto hanno una enorme valenza ecologica: alcuni caratterizzano fortemente determinati ambienti mentre altri, più plastici, riescono a vivere in situazioni quanto mai variegata. Di assoluta importanza è il ruolo che svolgono come piante pioniere e determinanti nel trattenere e migliorare il suolo.

L'APAT ha svolto uno studio, con la preziosa collaborazione del Dipartimento di Scienze Ambientali dell'Università di Siena, teso a indagare l'efficienza riproduttiva dei ginepri spontanei della flora italiana. I risultati delle ricerche condotte, di notevole interesse, sono presentati in questa pubblicazione che certamente sarà d'aiuto per suggerire delle strategie per l'impiego di queste entità vegetali nel recupero di aree degradate.

Giorgio Cesari  
Direttore Generale APAT

---



---

## Presentazione

Nell'ambito del Dipartimento Difesa della Natura dell'APAT, tra gli altri compiti istituzionali, sono previsti studi e sviluppi di metodiche finalizzate alla tutela della biosfera, compresa ovviamente la componente vegetazionale.

Il progetto di ricerca illustrato in questo volume ha come argomento lo studio dell'efficienza riproduttiva e della vulnerabilità dei ginepri, specie di alto valore ecologico per la loro condizione di piante pioniere. Pioniere perché sono spesso le prime che si insediano nei campi abbandonati, sulle scarpate, sulle aree costiere dove, insieme ad alcune piante erbacee, contribuiscono a trattenere un suolo 'giovane' e particolarmente esposto all'erosione. Pur tuttavia, i ginepri spontanei in Italia hanno una limitata capacità di espansione nel territorio.

Abbiamo voluto studiare il perché di queste limitazioni biologiche con ricerche sul campo, osservando il naturale progredire delle fasi della riproduzione, e in laboratorio, simulando l'influsso delle condizioni ambientali. È stato messo in evidenza che una delle fasi più deboli del ciclo riproduttivo dei ginepri è la impollinazione. Il particolato atmosferico ed altre sostanze simili determinano una diminuzione della durata della recettività femminile che si potrebbe ripercuotere sia sulla formazione di semi vitali, sia sulla bassa germinabilità dei semi. Inoltre, il meccanismo dell'impollinazione sembra essere non specifico per cui il polline di specie affini o particole di dimensioni equiparabili al grano di polline *ingannano* il fiore femminile con conseguenze negative per la produzione dei semi.

Le ricerche svolte con il Dipartimento di Scienze Ambientali dell'Università di Siena hanno consentito di chiarire alcuni meccanismi fondamentali responsabili delle limitazioni dell'efficienza riproduttiva di queste specie.

Marisa Amadei  
Responsabile Dipartimento  
Difesa della Natura

---





---

## INDICE

<b>Premessa</b> .....	pag. 13
<b>1. Introduzione</b> .....	» 15
1.1 Il genere <i>Juniperus</i> e la sua distribuzione in Italia .....	» 15
1.2 Importanza ecologica dei ginepri .....	» 16
1.3 <i>Juniperus oxycedrus</i> e l'ambiente dunale .....	» 18
1.4 <i>Juniperus communis</i> e il ripristino di aree degradate .....	» 18
1.5 Difficoltà riproduttive .....	» 19
1.6 Scopi primari del progetto .....	» 20
<b>2. Le stazioni studio</b> .....	» 23
2.1 Stazioni con presenza di <i>J. communis</i> .....	» 24
2.2 Stazioni con presenza di <i>J. oxycedrus</i> .....	» 25
2.3 Raccolta di semi in altre stazioni .....	» 28
2.4 Fasce altitudinali .....	» 28
<b>3. Valutazione dell'efficienza riproduttiva di <i>Juniperus communis</i> e <i>Juniperus oxycedrus</i></b> .....	» 31
3.1 Ciclo riproduttivo .....	» 32
3.1.1 Ciclo riproduttivo di <i>J. oxycedrus</i> .....	» 32
3.1.1.1 Sviluppo dei coni maschili .....	» 32
3.1.1.2 Sviluppo dei coni femminili .....	» 33
3.1.1.3 Impollinazione, fecondazione e processi postfecondativi .....	» 35
3.1.2 Ciclo riproduttivo di <i>J. communis</i> .....	» 36
3.2 Produzione delle galbule .....	» 38
3.2.1 La presentazione delle galbule .....	» 38
3.2.2 Permanenza delle galbule sulla pianta madre .....	» 41
3.3 Produzione dei semi .....	» 43
3.3.1 Numero di semi per gruppi di 50 galbule .....	» 43
3.3.2 Numero di semi per galbula .....	» 44

---

---

3.4	Qualità dei semi: dimensioni, peso, vitalità .....	»	44
3.4.1	Dimensioni dei semi .....	»	45
3.4.2	Peso dei semi .....	»	45
3.4.3	Vitalità dei semi .....	»	46
<b>4.</b>	<b>Individuazione delle cause della bassa efficienza riproduttiva dei ginepri .....</b>	<b>»</b>	<b>49</b>
4.1	Effetto dei parassiti sulla produzione dei semi .....	»	49
4.1.1	Il ciclo vitale di <i>Carulaspis juniperi</i> .....	»	50
4.1.2	Il ciclo vitale di <i>Megastigmus bipunctatus</i> .....	»	50
4.1.3	Quantificazione della presenza dei parassiti .....	»	50
4.1.4	Effetto dei parassiti sulla produzione e sulla vitalità dei semi .....	»	51
4.2	Produzione e qualità del polline .....	»	52
4.2.1	Rapporto tra i sessi .....	»	52
4.2.2	Quantità di polline prodotta dai coni .....	»	53
4.2.3	Morfologia, vitalità e germinazione del polline .....	»	56
4.3	Impollinazione .....	»	59
4.3.1	Modalità di impollinazione in <i>Juniperus</i> .....	»	59
4.3.2	La goccia micropilare .....	»	60
4.3.2.1	Composizione della goccia micropilare .....	»	61
4.3.3	Prove di impollinazione .....	»	62
<b>5.</b>	<b>L'impollinazione assistita ed i suoi effetti sulla produzione di galbule e semi .....</b>	<b>»</b>	<b>69</b>
5.1	Produttività delle galbule .....	»	70
5.2	Numero di semi .....	»	72
5.3	Peso dei semi .....	»	72
5.4	Vitalità dei semi .....	»	73
<b>6.</b>	<b>Rimozione della dormienza .....</b>	<b>»</b>	<b>75</b>
6.1	La struttura del seme .....	»	75
6.2	L'utilizzo delle tecniche di propagazione <i>in vitro</i> .....	»	76
6.3	I risultati delle prove di germinazione .....	»	79

---

---

<b>7. Discussione generale</b> .....	»	83
<b>Bibliografia</b> .....	»	87
<b>Analisi statistica</b> .....	»	93
<b>Glossario</b> .....	»	95
<b>Riassunto</b> .....	»	103
<b>Abstract</b> .....	»	104

---



---

## Premessa

La presente pubblicazione riguarda i principali risultati ottenuti nell'ambito del progetto "Miglioramento dell'efficienza riproduttiva di alcune piante arboree italiane protette e ottenimento di semi più vigorosi tramite competizione assistita con particolare riferimento alle specie presenti in aree costiere soggette ad erosione" finanziato dall'APAT e svolto nel periodo Settembre 2000-Settembre 2002.

Questo tipo di ricerca, poiché si prefigge come scopo ultimo la tutela dell'ambiente, si inquadra nei compiti istituzionali dell'APAT e rientra negli obiettivi della maggior parte delle organizzazioni nazionali e internazionali che si occupano di problemi ambientali globali.

Lo studio, che attraverso la messa a punto di tecniche biologiche persegue la protezione delle zone costiere erose, in via di erosione o in via di desertificazione, risulta pertanto in accordo alle esigenze di ottemperare ai vari impegni assunti ufficialmente dal governo italiano (Convenzione delle Nazioni Unite per la lotta alla desertificazione, Decisione del Consiglio d'Europa n. 2179/98 che all'articolo 10 incoraggia 'misure nelle aree vulnerabili in armonia con la Convenzione sulla lotta alla desertificazione', Delibera CIPE del 21/12/99 'Programma di Azione Nazionale per la lotta alla siccità e alla desertificazione') in merito alla lotta alla desertificazione.

Le specie pioniere sono quelle che risultano particolarmente efficaci per la difesa del suolo, a condizione che riescano a 'conquistare' il territorio cioè a stabilirsi e diffondersi. Le specie del genere *Juniperus*, sono pioniere anche se hanno una limitata potenzialità di espansione nelle zone circostanti il loro areale naturale (Gellini e Grossoni, 1996).

Scopo primario di questo progetto è la valutazione dell'efficienza riproduttiva di due specie appartenenti al genere *Juniperus*: *J. oxycedrus* e *J. communis*, la prima di estrema importanza negli ambienti di dune sabbiose costiere; la seconda di grande interesse come pianta pioniera per la ricolonizzazione di aree degradate. *J. communis*, insieme a *Spartium junceum*, è una delle specie che dal bosco o dalla macchia colonizza per prima i campi abbandonati e i prati aridi, contribuendo quindi alla successione vegetazionale (Pignatti, 1995). Anche per il ripopolamento di aree costiere è importante la combinazione di *J. communis* e *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa* in associazione a bulbose ed erbacee alofile.

L'efficienza con cui una pianta è in grado di colonizzare il territorio dipende dalla sua capacità di generare nuovi individui e dalla capacità che questi hanno di disperdersi nel territorio, ovvero dall'efficienza dei processi riproduttivi. Le strategie riproduttive messe in atto dalle piante si distinguono, a seconda delle modalità con cui avvengono, in riproduzione vegetativa e riproduzione sessuata. La prima avviene spesso attraverso organi specializzati (rizomi, stoloni) e genera un clone di individui con scarsa diversità genetica che rimangono comunque in prossimità della pianta che li ha generati. La riproduzione sessuale, invece, genera una progenie assai diversificata dal

---

punto di vista genetico e, in più, assicura un maggiore allontanamento dei nuovi individui tramite la dispersione dei semi. È quindi facilmente comprensibile come quest'ultima modalità di riproduzione sia di fondamentale importanza per assicurare la presenza di una determinata specie in un ampio areale. Lo studio approfondito dei meccanismi riproduttivi delle piante, quindi, riveste un ruolo chiave nel comprendere la loro capacità di diffusione. Mentre per quanto riguarda le Angiosperme esiste un'ampia letteratura sulla loro biologia riproduttiva, non altrettanto si può dire per le Gimnosperme in cui tale argomento mostra ancora delle ampie lacune (Owens *et al.*, 1998).

Lo studio dei processi riproduttivi delle conifere potrebbe inoltre fornire spiegazioni ad un problema che accomuna molte di queste piante, ovvero la produzione di semi vuoti o scarsamente vitali (Owens *et al.*, 1991; Arista e Talavera, 1996).

Uno dei principali fenomeni caratterizzante il processo riproduttivo delle Gimnosperme è rappresentato dal particolare tipo di impollinazione (detta micropilare) per cui il polline atterra su una secrezione, la goccia micropilare, la cui retrazione determina il suo trasporto in prossimità del gametofito femminile (Gelbart e von Aderkas, 2002). Si tratta di un tipo di impollinazione assai meno specifico rispetto a quello che si attua nelle Angiosperme, ma i suoi meccanismi ed i fattori che la possono influenzare sono quasi del tutto sconosciuti. Per questa serie di motivi una buona parte delle ricerche è stata incentrata su prove di impollinazione al fine chiarire alcuni aspetti dei meccanismi riproduttivi del ginepro e delle conifere in generale.

---

## 1. INTRODUZIONE

### 1.1 Il genere *Juniperus* e la sua distribuzione in Italia

Il genere *Juniperus* comprende circa 60 specie, diffuse nelle regioni temperate e subtropicali dell'emisfero boreale, in una fascia compresa all'incirca fra il 15° ed il 70° parallelo Nord, con l'eccezione di *Juniperus procera*, indigeno dell'Africa orientale, diffuso nella zona subequatoriale di Etiopia e Tanzania (Young e Young, 1992; Gellini e Grossoni, 1996).

La nomenclatura utilizzata in questa ricerca si basa su Pignatti (1982), in base alla quale i ginepri italiani sono distinti nelle seguenti 7 specie: *Juniperus communis* L., *Juniperus hemisphaerica* Presl., *Juniperus nana* L., *Juniperus oxycedrus* L., con le due sottospecie *J. oxycedrus oxycedrus* e *J. oxycedrus macrocarpa*, *Juniperus phoenicea* L., *Juniperus sabina* L. e *Juniperus thurifera* L..

I ginepri italiani sono piante dal portamento arbustivo o prostrato, dotate di foglie persistenti, aghiformi nelle forme giovanili e poi aghiformi o squamiformi nelle forme adulte (Gellini e Grossoni, 1996). A differenza della maggior parte delle conifere, la loro espressione sessuale è dioica, con l'eccezione di *J. phoenicea* che è una specie monoica.

Il genere *Juniperus* si estende su tutto il territorio nazionale, ma le singole specie occupano aree diverse e di estensione variabile (Pignatti, 1982) (Tab.1.1).









*J. communis* è ampiamente diffuso in tutta la penisola italiana, ed ha un areale che si estende dal livello del mare a circa 1500 m di altitudine, grazie alla sua ampia adattabilità ad ambienti diversi.

*J. nana* e *J. hemisphaerica* colonizzano entrambi zone di altitudine elevata, comprese fra 1500-2500 m, ma prediligono ambienti rispettivamente diversi, infatti *J. nana* è diffuso nelle Alpi e nell'Appennino settentrionale e meridionale, mentre *J. hemisphaerica* abita i monti della Sicilia e dell'Appennino meridionale in Campania e Calabria. *J. oxycedrus* è diffuso in tutta l'area mediterranea ed occupa ambienti aridi costieri e di macchia.

*J. sabina* vive su rupi e pendii soleggiati, nelle valli interne delle Alpi e nell'Appennino centrale, ad un'altitudine di 1300-2000 m.

*J. thurifera* predilige i pendii soleggiati, ed è presente soltanto nelle Alpi occidentali, sul confine nazionale, ed in Corsica.

Tab. 1.1 Tabella riassuntiva della diffusione delle varie specie di *Juniperus* nella penisola italiana.

	Zona alpina scoperta (1600-2300 m)	Zona subalpina o degli arbusti alpini (1400-2000 m)	Zona montana delle conifere e del faggio (900-2000 m)	Zona sub-montana del castagno e del rovere (100-1000 m)	Zona padana o di transizione (0-300 m)	Zona mediterranea sempreverde (0-900 m)	Distribuzione In Italia
<i>J. communis</i>			*	*	*	*	
<i>J. nana</i>	*	*					
<i>J. hemisphaerica</i>	*	*					
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>oxycedrus</i>						*	
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>macrocarpa</i>						*	
<i>J. phoenicia</i>						*	
<i>J. thurifera</i>				*			
<i>J. sabina</i>				*			

## 1.2 Importanza ecologica dei ginepri

Varie specie di *Juniperus* sono piante pioniere, fra le prime a comparire negli ecosistemi costieri marini, grazie ad una serie di caratteristiche morfologico-funzionali che le rendono adatte alla sopravvivenza in condizioni selettive, quali aridità, insolazione elevata e variazione di salinità (Tab.1.2). Infatti, la struttura squamiforme delle foglie ed il loro rivestimento ceroso, assicurano una riduzione delle perdite idriche do-



vute alla traspirazione, e contemporaneamente garantiscono la tolleranza allo spray marino (Martin e Young, 1997). I ginepri hanno inoltre un'elevata capacità di assorbire acqua anche in ambienti soleggiati e privi di copertura vegetazionale, dove il calore elevato aumenta l'evaporazione e la rimozione dell'acqua dagli strati superficiali del terreno. Sono infatti dotati di un sistema radicale particolarmente sviluppato, che consente l'approvvigionamento idrico sia dagli strati superficiali che da quelli profondi del suolo (Krämer *et al.*, 1996; Breshears *et al.*, 1997).

Tab. 1.2 Caratteristiche morfologico-funzionali dei ginepri e loro significato funzionale ed ecologico.

<b>Caratteristiche morfologico-funzionali</b>	<b>significato funzionale ed ecologico</b>
<b>Foglie squamiformi</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• controllo della traspirazione</li> </ul>
<b>Rivestimento ceroso delle foglie</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• controllo della traspirazione</li> <li>• tolleranza allo spray marino</li> </ul>
<b>Sviluppo del sistema radicale</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• approvvigionamento idrico, resistenza all'aridità</li> <li>• trattenimento del terreno</li> </ul>

Grazie a questo insieme di caratteristiche, i ginepri svolgono un ruolo ecologico fondamentale come piante pioniere, capaci di colonizzare ambienti sfavorevoli, quali le dune costiere e le aree degradate o sottoposte a stress (Falinski, 1980; Krämer *et al.*, 1996; Martin e Young, 1997). In questi habitat, particolarmente impoveriti e sottoposti a continue pressioni destabilizzanti, sia antropiche che naturali, i ginepri compaiono nelle prime fasi della colonizzazione vegetale, subito dopo una prima invasione da parte di licheni e terofite (Falinski, 1980), e perdurano durante tutto l'evolversi delle successioni ecologiche, svolgendo un ruolo di consolidamento continuo (Falinski, 1980). Il sistema radicale, estremamente sviluppato, realizza infatti un efficace trattenimento del terreno (Garcia *et al.*, 1999), che aiuta la progressione delle fasi di formazione del suolo e dell'insediamento di specie vegetali meno resistenti (Falinski, 1980; Pignatti, 1995), che trovano così un substrato più stabile ed una protezione dal vento e da alcuni predatori grazie alla folta e pungente chioma dei ginepri (Johnson, 1995). Tutto ciò facilita l'instaurarsi di una graduale evoluzione da condizioni difficili e semplificate, verso una maggiore stabilità dell'ecosistema, grazie all'accumulo di materia organica, ai processi di formazione del suolo ed alla differenziazione della comunità vegetale (Falinski, 1980; Pignatti, 1995).

Nell'ambito della conservazione, i ginepri possono venire utilizzati nelle strategie di ripopolamento e recupero, proprio grazie alle caratteristiche fisiologico-ecologiche sopra elencate.

---

### **1.3 *Juniperus oxycedrus* e l'ambiente dunale**

Le dune sabbiose costiere sono un habitat molto peculiare in quanto caratterizzato da un substrato povero ed incoerente, da uno scarso trattenimento dell'acqua e quindi da aridità, dall'esposizione allo spray marino e quindi ad alte concentrazioni saline. Nell'ambiente dunale costiero si ritrovano in particolare individui appartenenti alla specie *oxycedrus*, con le due sottospecie *J. oxycedrus oxycedrus* e *J. oxycedrus macrocarpa*. Si tratta di entità tipicamente mediterranee, presenti nelle aree costiere di tutto il bacino, e diffuse in Italia in tutte le regioni, ad eccezione di Piemonte, Valle d'Aosta e Trentino (Ciampi, 1958; Roques *et al.*, 1984; Gellini e Grossoni, 1996). Le zone in cui *Juniperus oxycedrus* è diffuso sono ambienti aridi, quali spiagge sabbiose e rocciose, nelle quali può spingersi fino alla riva, dove assume talvolta portamento prostrato, oppure zone di macchia mediterranea, dove può formare fitte fasce di vegetazione. Nelle zone ad esposizione soleggiata può spingersi verso l'entroterra, fino a raggiungere la fascia submontana (Ciampi, 1958; Pignatti, 1982; Gellini e Grossoni, 1996).

Le due sottospecie non sono univocamente classificate, poiché mancano chiari caratteri distintivi e, a seconda degli Autori, vengono prese in considerazioni caratteristiche diverse. Ai fini di questo lavoro sono comunque state prese in considerazione le definizioni di Ciampi (1958) e Pignatti (1982). Le foglie sono in entrambe le sottospecie aghiformi, leggermente più lunghe e sottili in *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* e dotate di un apice acuto in *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* ed ottuso in *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa*. Le galbule sono di forma sferica e piuttosto grandi, soprattutto se confrontate con quelle di *J. communis*, infatti hanno diametro di circa 8-15 mm in *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa* e 7-10 mm in *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*. Esse hanno inoltre una colorazione vivace, brunastro pruinosa in *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa* e rosso-brune, lucide, non o appena pruinose in *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*, ed un odore pungente. Queste ultime caratteristiche rendono le galbule attrattive per alcuni mammiferi, quali la volpe, il tasso ed il cinghiale, che se ne nutrono abbondantemente, costituendo, così, i principali vettori di dispersione per i semi dei ginepri.

### **1.4 *Juniperus communis* e il ripristino di aree degradate**

*J. communis* è una specie dalla diffusione molto ampia, che si ritrova abbondantemente in habitat ed in condizioni climatiche ed edafiche variegata.

Anche l'habitus è molto vario nelle popolazioni naturali, dove può assumere portamento prostrato o eretto a seconda delle caratteristiche dell'ambiente colonizzato (Van der Merwe *et al.*, 2000). È stata una delle prime specie a colonizzare molti ambienti in epoca postglaciale, tuttavia ha conservato la sua presenza in molte aree anche dopo il cambiamento delle condizioni climatiche (Van der Merwe *et al.*, 2000).

Gli individui di *J. communis* si presentano come un cespuglio, e sono dotati di foglie

---

aghiformi, appuntite e coriacee. Le galbule sono di dimensioni ridotte e colorazione verde nel primo periodo di sviluppo, per diventare poi nero-violacee a maturità; inoltre sono dotate di una quantità limitata di polpa. Queste caratteristiche fanno sì che le galbule del *J. communis* vengono preferenzialmente predate da uccelli, soprattutto tordi (*Turdus torquatus* L. e *Turdus viscivorus* L.) e in alcune regioni anche roditori, quale *Apodemus sylvaticus* L. (Garcia *et al.*, 2001). Tali animali, soprattutto i volatili, rappresentano quindi i vettori preferenziali per la dispersione dei semi di *J. communis* (Garcia *et al.*, 2001; Chambers *et al.*, 1999).

*J. communis*, insieme a *Spartium junceum*, è una delle specie che dal bosco o dalla macchia colonizza per primo i campi abbandonati e i prati aridi, contribuendo quindi alla successione vegetazionale (Pignatti, 1995). Esso può infatti adattarsi a terreni denudati, poveri di sostanza organica e favorire l'insediamento successivo di altre piante. Per questo motivo viene usato come pianta per il ripristino ambientale di aree degradate, in particolare cave e discariche abbandonate.

### **1.5 Difficoltà riproduttive**

Nonostante l'elevata diffusione delle popolazioni naturali di *Juniperus*, la sua rigenerazione naturale è scarsa ed ostacolata da numerosi fattori. Infatti, negli ambienti mediterranei le popolazioni sono dominate da individui adulti e senescenti, caratteristica sintomatica di una difficoltà al rinnovamento ed allo stabilirsi di individui giovani (Garcia *et al.*, 1999), tanto che la permanenza delle popolazioni è spesso dovuta alla longevità degli individui, più che alla nascita di nuove piante. I fattori che contribuiscono a determinare questa situazione sono molteplici.

Innanzitutto bisogna considerare la possibilità di fallimento riproduttivo a livello del seme. Infatti in *Juniperus* si verifica di frequente la comparsa di semi esternamente normali, ma privi di embrione ed endosperma al loro interno, oppure semi dotati di queste strutture, ma non vitali (Ortiz *et al.*, 1998; Chambers *et al.*, 1999; Garcia *et al.*, 1999; Garcia *et al.*, 2000). In particolare, in *J. communis* si può trovare un numero molto elevato di semi vuoti o che presentano uno sviluppo embrionale incompleto, la loro percentuale può superare il 60% (Ortiz *et al.*, 1998; Piotto *et al.*, 2001). D'altra parte, l'aborto degli ovuli e la contemporanea riduzione del numero di semi vitali prodotti è un problema che esiste non solo in *Juniperus*, ma nella maggior parte delle conifere (Ortiz *et al.*, 1998; Owens *et al.*, 1991). Un altro fattore da considerare è anche l'estrema variabilità della capacità germinativa delle specie di *Juniperus*, che differisce anche a seconda della regione di provenienza o della pianta madre o, addirittura, all'interno dello stesso lotto (prodotto da una stessa pianta madre) (Jones, 1989; Zine el Abidine *et al.*, 1996; Piotto *et al.*, 2001).

È necessario considerare vari fattori esogeni. I fattori abiotici hanno un'importanza primaria, visto che i ginepri colonizzano ambienti altamente stressanti e spesso poveri di risorse: basta pensare all'aridità dell'ambiente mediterraneo, tipica dei mesi

---

estivi che può costituire un impedimento alla sopravvivenza delle giovani plantule, in particolare di *J. oxycedrus* (Garcia *et al.*, 1999). Inoltre, le galbule ed i semi sono preda, durante il periodo di permanenza sulla pianta madre, di parassiti o altri predatori, che possono, con la loro azione, determinare una riduzione dell'integrità, della vitalità o del numero dei semi (Roques *et al.*, 1984; Garcia, 1998; Garcia *et al.*, 1999). Infine, bisogna ricordare che, spesso, le popolazioni di *J. communis* del bacino del mediterraneo mostrano una scarsa capacità di resilienza dopo una perturbazione dovuta ad attività antropica (Zamora *et al.*, 1996). Ad esempio la costruzione di infrastrutture rimuove o uccide i semi custoditi nel suolo, che costituiscono banchi di semi da cui può avere inizio la rigenerazione di una specie (Garcia *et al.*, 1999). L'influenza dei fattori abiotici può essere più determinante se si tiene conto del lungo ciclo riproduttivo dei ginepri (1-3 anni, vedi paragrafo 2.1) nel corso del quale eventuali stress ambientali possono determinare un mancato o anormale sviluppo del seme.

### **1.6 Scopi primari del progetto**

La presente ricerca, vista l'importanza ecologica delle specie oggetto di studio ed anche le problematiche legate alla loro rigenerazione, ha i seguenti obbiettivi primari:

- Valutazione dell'efficienza riproduttiva di *J. communis* e *J. oxycedrus* nel loro ambiente naturale, tramite l'osservazione e l'analisi dei parametri che influenzano la riproduzione. Questa valutazione comporta: analisi quantitative e qualitative sulle galbule, i semi ed il polline prodotti. Uno studio simile, compiuto su popolazioni spagnole delle due sottospecie di *J. oxycedrus* (*macrocarpa* e *oxycedrus*) da Oritz *et al.* (1998), ha evidenziato una scarsa produzione di semi vitali.
- Individuazione delle cause della bassa efficienza riproduttiva. In particolare, la focalizzazione degli effetti degli insetti parassiti nonché i vari aspetti delle dinamiche dell'impollinazione, quali produzione del polline, sua qualità e vitalità.
- Efficacia dell'impollinazione assistita sulla produzione di galbule e semi e sulla vitalità di questi ultimi. L'impollinazione assistita consiste nella deposizione manuale di un quantitativo elevato di polline proveniente da differenti popolazioni sui coni femminili maturi di una determinata popolazione. Tale operazione ha lo scopo di evitare uno scarso o nullo carico pollinico sul cono femminile e di aumentare la diversità genetica dei granuli pollinici giunti sul cono. In tal modo si induce un aumento della competizione tra i granuli di polline per la fecondazione del gametofito femminile determinante per assicurare un maggiore vigore della progenie (Mulcahy *et al.*, 1996).  
La tecnica dell'impollinazione assistita è stata scelta perché essendo i ginepri

---

piante dioiche la presenza di individui maschili può non essere sufficiente ad assicurare una buona fecondazione dei coni femminili. Inoltre le popolazioni naturali dei ginepri sono spesso andate incontro a fenomeni di frammentazione che hanno portato ad una minore ricombinazione genica tra le popolazioni stesse. Quest'ultimo evento potrebbe determinare il così detto fenomeno di "depressione da in-incrocio".

- Rimozione della dormienza dei semi, tramite l'utilizzo di vari pretrattamenti, per individuare quelli più utili all'impiego a livello vivaistico. L'allevamento in vivaio avviene spesso per via vegetativa in quanto la germinazione dei semi di *Juniperus* è estremamente difficoltosa. Tuttavia questa pratica genera cloni di piante annullando quasi del tutto la loro diversità genetica. Per superare queste difficoltà è necessario trovare un pretrattamento di facile applicazione che rimuova la dormienza e consenta la riproduzione per seme dei ginepri.



---

## 2. LE STAZIONI STUDIO

Le aree della Toscana oggetto degli studi sul genere *Juniperus* sono state scelte con l'intenzione di selezionare delle formazioni della stessa specie presenti in ambienti differenti. Con questo criterio sono state individuate inizialmente 4 stazioni per *Juniperus communis*, e 5 per *Juniperus oxycedrus* ben distanziate l'una dall'altra e con caratteristiche differenti in relazione all'esposizione, all'altitudine, alla lontananza dal mare, al tipo di suolo e al tipo di componenti vegetazionali (Fig. 2.1). A queste sono state aggiunte successivamente due nuove stazioni, entrambe con presenza di *Juniperus oxycedrus*, scelte per la bassa antropizzazione, situate più a Nord lungo il litorale toscano: una nel Parco di S. Rossore e una sulle dune di Migliarino.

Specialmente per quanto riguarda *Juniperus oxycedrus*, si è cercato di individuare delle stazioni rappresentative per ogni tipo di ambiente in cui fosse possibile riscontrare le due sottospecie; nella zona costiera e nelle dune sono state trovate entrambe le sottospecie *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* e *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa*, mentre nell'ambiente collinare è stata riscontrata soltanto la presenza di *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus*.

Tutte le stazioni considerate hanno comunque delle caratteristiche comuni che hanno reso più semplici i rilevamenti e le misurazioni; infatti, tutte le popolazioni si trovano in radure dove sono presenti soltanto piante erbacee e pochi arbusti e dove i ginepri sono gli arbusti pionieri più diffusi. Inoltre sono state scelte delle aree in cui erano presenti delle popolazioni cospicue e in buona salute.

I primi rilevamenti, oltre alla scelta e alla delimitazione dell'area di studio, hanno avuto come scopo quello di valutare:

- il tipo di ambiente (suolo, vegetazione, altitudine, esposizione, distanza dal mare) in cui si trovava la popolazione;
- il numero totale di piante di *Juniperus* di ciascuna delle popolazioni;
- il rapporto tra individui maschili e femminili;
- la fase vegetativa o riproduttiva delle piante;

Inoltre sono state fatte delle raccolte di galbule mature da sottoporre a una serie di determinazioni preliminari (contenuto di acqua, tipo e quantità di zuccheri presenti nella polpa, numero di semi, tests di germinazione).

Fig. 2.1 Ubicazione delle località oggetto di studio.



I simboli in rosso indicano le località in cui si trova *J. communis*, mentre quelli in giallo evidenziano le località di studio di *J. oxycedrus*.

- |                     |  |
|---------------------|--|
| ● Greve             | ⊠ Petriolo   |
| ◆ Lecceto           | ■ Torre Mozza  |
| ★ Montarrenti       | ▲ Parco della Maremma: Piana dei Cavalleggeri e Collelungo |
| ⊗ Casciano di Murlo | ☆ Parco di Mogliarino                                      |
| ✱ San Vincenzo      | ♥ Parco di S. Rossore                                      |

## 2.1 Stazioni con presenza di *J. communis*

I primi sopralluoghi sono stati effettuati nella seconda metà di dicembre 2000, in questo periodo sono state scelte le stazioni che ospitavano popolazioni di *Juniperus communis*.

**Stazione 1:** Località Strada in Chianti (Comune di Greve in Chianti, Firenze)



---

È la stazione di *Juniperus communis* situata più nell'entroterra, esposta a Sud e ad un'altezza di 290 m s.l.m.

È stata scelta per i rilevamenti una radura quadrata di 35 m di lato che ospita 56 piante di *Juniperus*, delle quali 27 maschi e 29 femmine. Inoltre l'area è popolata da: *Quercus cerris*, *Acer campestre*, *Pyracanta coccinea*, *Cornus sanguinea*, *Myrtus communis*, *Pistacia lentiscus*, *Ligustrum vulgare*, *Crataegus oxyacanta*, *Spartium junceum*, *Rosa canina*, *Lavandula angustifolia*, *Inula viscosa*, *Cistus monspessulanum*, *Cistus incanus*, *Helichrysum stoechas*.

**Stazione 2:** Località Lecceto (Comune di Siena, Siena)

L'area presa in esame si trova a 360 m s.l.m., esposta a Sud-Ovest e situata su una cessa lungo un bosco a leccio, corbezzolo e cerro; è stata scelta una striscia di terreno di 145 m per 3 m dove si trovano 83 ginepri, di cui 38 maschi e 45 femmine.

Quest'area è popolata da *Ostrya carpinifolia*, *Prunus spinosa*, *Phyllirea latifolia*, *Spartium junceum*, *Lavandula angustifolia*, *Cistus incanus*, *Inula viscosa*.

La stazione è stata abbandonata dopo pochi rilevamenti perché la popolazione era troppo esigua e non perfettamente in salute, con rami parzialmente o totalmente spogli e, nel caso degli individui femminili, quasi privi di frutti.

**Stazione 3:** Località Montarrenti (Comune di Chiusdino, Siena)

L'area interessata è un quadrato di 40 m di lato e si trova a 300 m s.l.m. È la più ampia delle 4 stazioni; di conseguenza anche la popolazione presa in esame è la più cospicua: 173 individui di cui 72 maschi e 101 femmine.

Quest'area è popolata da *Prunus spinosa*, *Spartium junceum*, *Lavandula angustifolia*, *Cistus incanus*, *Inula viscosa*.

Questa stazione, è stata scelta il 31/01/01, successivamente alla constatazione dell'inadeguatezza della stazione di Lecceto come area di studio.

**Stazione 4:** Località Petriolo (Comune di Monticiano, Grosseto)

In quest'area, situata a 470 m s.l.m. è stato tracciato un quadrato di 35 m di lato che ospita una cospicua popolazione di 113 ginepri di cui 58 maschi e 55 femmine.

Nell'area sono presenti anche: *Quercus ilex*, *Quercus cerris*, *Arbutus unedo*, *Pinus pinaster*, *Pyracanta coccinea*, *Pistacia lentiscus*, *Rosa canina*, *Helichrysum stoechas*, *Cistus incanus*, *Lavandula angustifolia*, *Inula viscosa*.

## 2.2 Stazioni con presenza di *J. oxycedrus*

Le popolazioni di *J. oxycedrus* sono state scelte tra la fine di gennaio e l'inizio di febbraio 2001; si è cercato di individuarle sia in zone costiere sia in zone più distanti dal mare.

---

**Stazione 5:** Località Casciano di Murlo (Comune di Murlo, Siena)

Questa è la stazione più spostata verso l'entroterra in cui è stato censito *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus*; la zona si trova a 400 m s.l.m., quindi a una quota elevata se si considera che gli altri siti censiti per questo taxa si trovavano praticamente sul livello del mare.

In un quadrato di 30 m di lato sono stati contati 58 individui, di cui 36 maschi e 22 femmine, in una zona colonizzata da altri arbusti pionieri come *Pistacia lentiscus*, *Phyllirea latifolia* e *Lavandula angustifolia*.

**Stazione 6:** Località Piana dei Cavalleggeri (Parco della Maremma, Comune di Alberese, Grosseto)

Questa stazione e la successiva (Località Collelungo) sono state delimitate all'interno del parco della Maremma. Nella Piana dei Cavalleggeri si trovano entrambe le sottospecie di *Juniperus oxycedrus* con prevalenza numerica della sottospecie *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*.

La Piana si trova a poche centinaia di metri dal mare, in una zona in parte paludosa. Questo determina la presenza di una flora molto particolare, adattatasi a questo tipo di ambiente, con presenza di liquirizia e alcune graminacee perenni.

È stata individuata un'area di 60 m per 50, dove sono state censite 31 piante della sottospecie *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*, 17 maschi e 14 femmine e soltanto 11 piante di *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa*, di cui due maschi, una femmina e 8 individui che non mostravano nessun tipo di espressione sessuale al momento del sopralluogo. L'identificazione del sesso negli individui di *J. oxycedrus* è difficile, perché le galbule mature cadono e lasciano la pianta sprovvista di questo importante carattere sessuale. Al contrario, le piante di *J. communis*, conservano le galbule per due anni consecutivi rendendo molto più facile l'individuazione del sesso femminile.

**Stazione 7:** Località Collelungo (Parco della Maremma, Comune di Grosseto)

L'area di studio, 31 m per 44 m consiste in un ambiente di dune sabbiose del Parco della Maremma, a qualche decina di metri dal mare. La vegetazione è bassa, con abbondanza di *Helichrysum stoechas* e *Pancratium maritimum*; vi si trovano entrambe le sottospecie di *J. oxycedrus*, ma con una netta prevalenza numerica della sottospecie *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa*.

La popolazione considerata è composta da 31 piante della sottospecie *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*, di cui 7 maschi, 9 femmine e 15 con nessun tipo di espressione sessuale al momento del primo sopralluogo. Delle 49 piante di *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa* 4 sono femmine, 10 maschi e 35 sono risultate prive di espressione sessuale al momento del primo campionamento.

---

**Stazione 8:** Località Torre Mozza

Quest'area è caratterizzata da un paesaggio a dune sabbiose, in un'area non protetta molto vicina al mare che ha subito un certo degrado.

È stata scelta una striscia di terreno di 53 per 2 metri in cui sono stati censiti soltanto 18 individui di *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa*, di cui 6 maschili e 12 femminili.

La vegetazione di quest'area è costituita principalmente da: *Tamarix gallica*, *Pittosporum tobira*, *Carpobrotus edulis*, *Pancratium maritimum*, *Smilax aspera*. Come si capisce da questo breve elenco floristico, la vegetazione è antropizzata in quanto *Tamarix gallica*, *Carpobrotus edulis* e *Pittosporum tobira* sono piante ornamentali introdotte.

**Stazione 9:** Località San Vincenzo (Livorno)

L'area è costiera e, sia per l'esposizione, sia per la distanza dal mare, è del tutto simile alla stazione di Torre Mozza.

Anche per quanto riguarda la vegetazione, le dune sabbiose di S. Vincenzo, assomigliano a quelle di Torre Mozza; infatti ritroviamo *Pistacia lentiscus*, *Smilax aspera* e *Pancratium maritimum*.

L'area oggetto di studio è una striscia di terra di 62 metri dove sono stati contati 36 individui (11 maschi e 25 femmine) di *Juniperus oxycedrus* subsp. *macrocarpa* che, anche in questo caso, è l'unica specie presente nella stazione.

Nella stessa zona sono state considerate altre due strisce di vegetazione lunghe 15m e larghe 4m che, partendo dalla spiaggia si allontanano dal mare.

In una delle due strisce sono presenti 21 individui, dei quali 15 maschi e nell'altra sono stati censiti 20 individui di cui 13 maschi.

**Stazione 10:** Località Migliarino (Comune di Pisa)

È stata scelta un'area quadrata di 46 m di lato situata a 200 m dal mare, nella zona delle dune. Le dune si estendono dal mare per circa 300 metri verso l'interno; esse sono estremamente ampie e consolidate dalla vegetazione: *Phyllirea angustifolia*, *Juncus* spp., *Cakile maritima*, *Otanthus maritimus*, *Echinophora spinosa*, *Calystegia soldanella*, *Agropyron junceum*, *Ammophyla arenaria*, *Iris pseudacorus*. Qui si trova un'abbondante popolazione di *Juniperus oxycedrus* con le due sottospecie *oxycedrus* e *macrocarpa*.

**Stazione 11:** Località S. Rossore (Comune di Pisa)

La vegetazione del Parco Regionale di S. Rossore è decisamente più degradata di quella di Migliarino; infatti nell'area litorale mancano molte delle specie psammofile presenti nelle dune di Migliarino, mentre nella zona più interna, che ospita un'ampia pineta a *Pinus pinea* e *Pinus pinaster*, il sottobosco è quasi del tutto scomparso.

L'unica zona che risulta meno degradata è quella limitrofa all'ex Residenza Presiden-

---

ziale, ove è stata scelta una striscia di terreno di 60 m per 3 m, che si estende dalle dune costiere verso l'interno.

Qui oltre alle specie di *Pinus* sopracitate possiamo trovare le seguenti essenze legnose: *Pistacia lentiscus*, *Myrtus communis*, *Helichrysum stoechas*, *Arbutus unedo*, *Phyllirea angustifolia*, *Quercus ilex*. È presente, inoltre, *Smilax aspera* ed una esigua popolazione di *Juniperus oxycedrus*.

Data la scarsità degli individui che popolano questa stazione, si è ritenuto opportuno effettuare in questa zona la sola raccolta del polline, utilizzato successivamente nell'impollinazione assistita, evitando la raccolta delle galbule per ridurre al minimo il disturbo ambientale.

### **2.3 Raccolta di semi in altre stazioni**

Dato che il numero di semi che si utilizzano per le prove di germinazione è estremamente elevato, è stato ritenuto opportuno effettuare raccolte di semi anche in altre tre stazioni: Fontazzi (vicino a Casciano di Murlo) per *J. communis*, Monteorgiali (poco distante da Casciano di Murlo) per *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* e Marina di Grosseto (situata in prossimità del Parco della Maremma) per *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa*.

### **2.4 Fasce altitudinali**

Tra i taxa considerati, *Juniperus communis* è senza dubbio quello con maggiore capacità adattativa visto che riesce a colonizzare ambienti molto differenti fra loro, dai montani, ai collinari, fino a zone poco sopra il livello del mare. Nelle stazioni considerate questa specie si trova da circa 400 m s.l.m. delle stazioni di Petriolo e Fontazzi, a circa 300 m s.l.m. nelle stazioni di Montarrenti, Greve, Lecce. Bisogna tuttavia sottolineare che alcuni individui sono stati osservati nella macchia di S. Rossore a pochi metri sopra il livello del mare, anche se distanti qualche Km in linea d'aria dalla linea di costa.

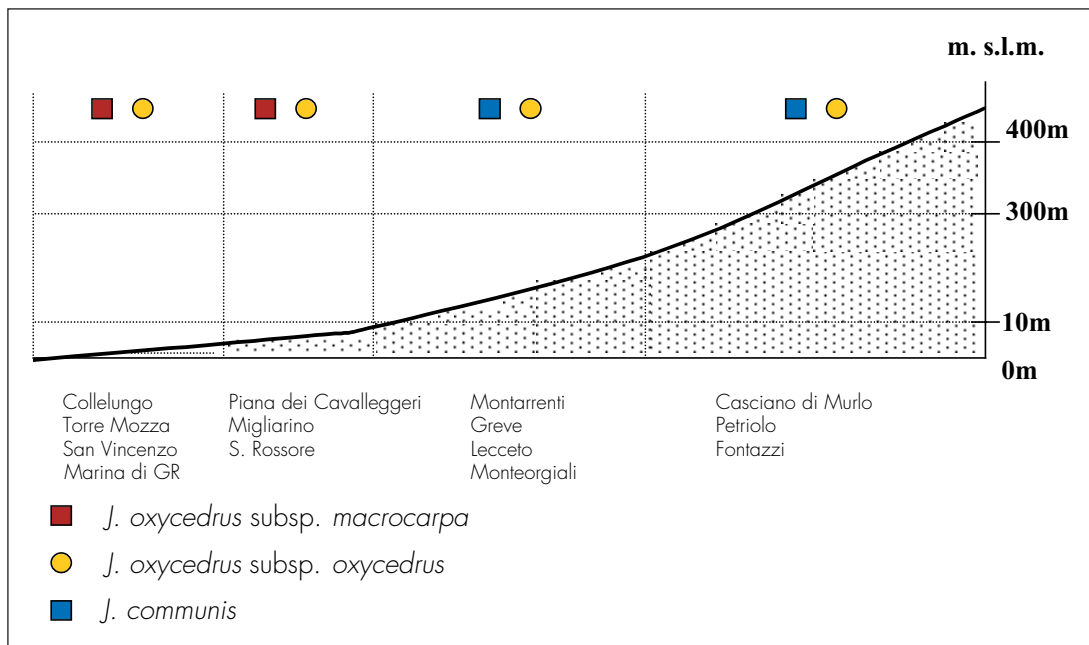
Dalla fig. 2.2, possiamo notare che anche *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* ha un vasto areale di distribuzione, pur non raggiungendo le fasce altitudinali dove è presente *J. communis*.

*J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* si ritrova sulle dune sabbiose di Collelungo, Torre Mozza, S. Vincenzo e Marina di Grosseto, a un paio di metri sul livello del mare. Inoltre ritroviamo questa sottospecie nella Piana dei Cavalleggeri, Migliarino e S. Rossore e, alla quota di 400 m s.l.m., nelle stazioni di Casciano di Murlo e Monteorgiali. Bisogna tuttavia tenere presente che *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* raggiunge raramente le quote suddette e sottolineare che le condizioni ambientali di tali rilievi determina-

no uno sfasamento del ciclo riproduttivo e una produzione di galbule notevolmente più piccole rispetto alla media riscontrata nelle stazioni ubicate a basse quote.

*J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa*, si trova nelle stazioni di Collelungo, Torre Mozza, S. Vincenzo, Marina di Grosseto, Piana dei Cavalleggeri, Migliarino e S. Rossore, insieme all'altra sottospecie, anche se non raggiunge mai altitudini al di sopra di qualche metro s.l.m.

Fig. 2.2 Distribuzione dei taxa di ginepro nelle varie fasce altitudinali a cui si trovano le stazioni di studio.





---

### 3. VALUTAZIONE DELL'EFFICIENZA RIPRODUTTIVA DI *JUNIPERUS COMMUNIS* E *JUNIPERUS OXYCEDRUS*

L'efficienza riproduttiva è un parametro che permette di valutare qualitativamente e quantitativamente la capacità rigenerativa di una specie, tramite l'osservazione e la misurazione di fattori ritenuti indicativi e fondamentali per il successo riproduttivo. L'importanza di questo tipo di studio risiede nella stretta connessione fra una buona efficienza nella riproduzione sessuata, il mantenimento della biodiversità all'interno della specie ed anche la capacità di espandersi nel territorio. Infatti, la riproduzione sessuata assicura un costante riassortimento genico tramite la fusione di due genotipi, che avviene al momento della fecondazione, nonché i fenomeni di crossing-over che si verificano durante la meiosi.

Questa continua variazione genetica è la base della variabilità a livello intra ed infraspecifico (biodiversità), assicurando così una maggiore stabilità della popolazione, nonché una sua maggiore capacità di resistenza e resilienza agli eventi perturbativi. Viceversa, una popolazione in cui l'uniformità fra gli individui sia elevata sarà più soggetta all'effetto negativo di fattori patogeni, a quello delle dinamiche ecologiche e climatiche avverse (con conseguente aumento del rischio di forte diminuzione della popolazione o di estinzione). Inoltre la biodiversità è un valore da conservare e incrementare poiché un ambiente variegato permette il mantenimento di una rete trofica altamente ramificata, ovvero l'insediamento e la proliferazione di un grande numero di organismi fra loro intercorrelati.

Ai fini di questo studio è stata effettuata una gamma più vasta possibile di analisi, che coprissero le varie fasi del lungo processo riproduttivo dei ginepri. In particolare sono stati osservati:

- la produzione di galbule da parte degli individui appartenenti alle popolazioni scelte
- la produzione e qualità dei semi
- l'influenza dei parassiti sulla quantità e sulla qualità di galbule e semi
- la germinabilità dei semi sottoposti a trattamenti diversi
- la produzione di polline da parte dei coni maschili e la vitalità dei granuli pollinici
- la fisiologia ed il riassorbimento della goccia micropilare
- l'impollinazione assistita

La qualità del seme è l'aspetto che in letteratura senza dubbio ha ricevuto più attenzione, anche perché importante ai fini della propagazione in vivaio (Piotto *et al.*, 2001). La facoltà germinativa si definisce come la percentuale di semi puri in grado

---

di germinare in particolari condizioni, entro un determinato periodo, secondo le norme indicate dai Metodi Ufficiali di Analisi per le Sementi (1992). Questo parametro non è però sufficiente ad esprimere la qualità di un lotto di semi, sono infatti necessarie numerose altre prove per valutare aspetti genetici e fisiologici, quali la vitalità, la velocità di germinazione, la simultaneità o meno della germinazione dei componenti di uno stesso lotto di semi (Piotto *et al.*, 2001).

Nell'analisi dell'efficienza riproduttiva si è tenuto conto del peculiare ciclo riproduttivo dei ginepri che è particolarmente lungo in quanto sia il gametofito femminile che quello maschile non sono completamente sviluppati al momento della impollinazione. Qui di seguito sono riportate alcune caratteristiche dei cicli riproduttivi delle specie oggetto di studio.

### **3.1 Ciclo riproduttivo**

I ginepri sono piante normalmente dioiche, caratterizzate da un ciclo riproduttivo molto lungo che può durare circa due anni, come avviene nelle sottospecie *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*, *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa* e di alcuni biotipi di *J. communis*, oppure anche tre anni, come si verifica in certi biotipi del *J. communis* (Ciampi, 1958). Nel caso dei biotipi biennali, nel corso del primo anno si svolgono i processi di differenziazione dei coni maschili e femminili, l'impollinazione ed infine la fecondazione; nel secondo anno si hanno la formazione e la maturazione dell'embrione. Nel caso dei biotipi triennali la sequenza delle fasi non cambia, ma si verifica una pausa di un anno fra impollinazione e fecondazione (Ciampi, 1958). Le generazioni successive si sovrappongono continuamente e sui rami femminili coesistono galbule a diverso stadio di maturazione.

#### **3.1.1 Ciclo riproduttivo di *J. oxycedrus***

##### **3.1.1.1 Sviluppo dei coni maschili**

I coni maschili sono terminali e vengono portati dal tratto più giovane del ramo, cresciuto nell'anno in corso. Sono disposti in verticilli di tre coni ed hanno forma ovale o subsferica, con apice arrotondato, dal quale si sviluppano ciclicamente i catafilli, disposti in verticilli trimeri, che differenzieranno le sacche polliniche, in numero di 2-4 per ogni catafillo. La comparsa dei primi abbozzi delle strutture maschili si ha nel mese di luglio, contemporaneamente agli abbozzi dei coni femminili. Alla fine dell'estate ha inizio la differenziazione delle sacche polliniche; la microsporogenesi si completa in autunno portando alla formazione di granuli pollinici unicellulari privi di cellule protallari. Solitamente, i coni più avanti nello sviluppo sono quelli più lontani dal-



---

l'apice della pianta o del rametto (Ciampi, 1958). L'apertura dei coni maschili (deie-scenza) e la dispersione del polline iniziano ad ottobre inoltrato e continuano per tutto l'autunno e parte dell'inverno (Ciampi, 1958) (Fig.3.1).

*Fig. 3.1 Coni maschili di J. oxycedrus maturi per la dispersione del polline.*



### 3.1.1.2 Sviluppo dei coni femminili

I coni femminili compaiono nel periodo estivo, contemporaneamente a quelli maschili, e sono localizzati in posizione ascellare rispetto alle foglie, analogamente alle gemme vegetative. Possiedono un apice conico, su cui si ripiegano tre brattee fertili, che daranno origine alla galbula, accompagnate da 5-6 catafilli sterili, che formeranno piccole squame membranacee alla base della galbula. La parete della galbula inizia a svilupparsi prima della differenziazione degli ovuli, mediante l'accrescimento delle brattee fertili che diventano carnose e coalescenti fra loro (Fig.3.2).

---

Fig. 3.2 Coni femminili di *J. oxycedrus*



Gli ovuli iniziano quindi a differenziarsi all'inizio dell'autunno, e sono presenti solitamente in numero di tre all'interno di ogni galbula. La galbula assume progressivamente una forma più o meno sferica, di colore verde chiaro (Fig.3.3). A maturazione, il colore passa a bruno rossastro. La galbula è rivestita di uno strato di pruina (Ciampi, 1958; Chambers *et al.*, 1999).

---

Fig. 3.3 Giovani galbule di *J. oxycedrus*, a diversi stadi di maturazione



### 3.1.1.3 Impollinazione, fecondazione e processi postfecondativi

Nel periodo autunnale le sacche polliniche, come già detto precedentemente, si aprono e permettono la dispersione anemofila del polline contenuto al loro interno. Contemporaneamente, all'interno dei coni femminili si forma la camera pollinica, che si origina per disorganizzazione di alcune cellule situate nella parte apicale della nucella. Si individua inoltre il canale micropilare che si forma grazie all'accrescimento e all'allungamento del tegumento al disopra dell'apice della nucella. Tale canale si apre all'esterno tramite il micropilo. La porzione apicale della nucella produce quindi la goccia micropilare, secrezione liquida che permette la ricezione e la reidratazione del polline che vi si posa e stimola la sua germinazione, come descritto in seguito.

Al momento dell'impollinazione i gametofiti non sono maturi. Infatti, da un lato il granulo pollinico è unicellulare e deve sottostare, una volta giunto nella camera pollinica, alle divisioni che porteranno alla formazione dei gameti veri e propri; dall'altro i coni femminili sono in uno stadio antecedente la megasporogenesi. Conseguentemente, fra l'impollinazione e la fecondazione intercorre un lungo lasso di tempo che

---

permette il completamento della maturazione di entrambi i gametofiti (Ciampi, 1958; Chambers *et al.*, 1999).

L'impollinazione, cioè l'arrivo dei granuli di polline nel micopilo, induce lo sviluppo della cellula madre della megaspore. Dopo la meiosi e la degenerazione delle tre megaspore, avviene lo sviluppo "nucleare" (cioè senza la formazione delle pareti) del gametofito femminile che termina con la cellularizzazione e il completamento del gametofito. Successivamente, nella porzione micopilare del gametofito, si differenziano gli archegoni che portano al loro interno i gameti femminili. Questo processo di sviluppo e maturazione delle strutture riproduttive femminili si protrae fino al mese di luglio, e solo in questo momento può avvenire la fecondazione (Ciampi, 1958). Infatti, contemporaneamente, anche il granulo pollinico ha completato il suo sviluppo. In particolare la successione di tre divisioni, di cui due asimmetriche ed una simmetrica, che portano rispettivamente all'individuazione della cellula del tubetto, di quella del piede ed infine delle due cellule gametiche che nel complesso formano il granulo pollinico maturo (Ciampi, 1958).

La cellula spermatica entra nell'archegonio ed avviene immediatamente la fusione dei citoplasmi, seguita, a distanza di alcuni giorni, dalla fusione dei nuclei. Gli archegoni non fecondati ed i nuclei vegetativi del tubetto degenerano, mentre gli zigoti formati si incuneano in una depressione che si forma alla base del complesso archegoniale, e vi rimangono in fase di quiescenza per 6-7 mesi, prima di iniziare, in inverno, l'attività moltiplicativa, che porta alla costruzione delle teste embrionali ed in seguito dell'embrione. Contemporaneamente l'endosperma si arricchisce di sostanze di riserva. La differenziazione dell'embrione progredisce lentamente, finché nell'estate inoltrata del secondo anno l'embrione è maturo, così come lo è la galbula che diviene pronta per la dispersione (Ciampi, 1958).

### 3.1.2 Ciclo riproduttivo di *J. communis*

Il ciclo riproduttivo della specie *J. communis* si realizza con modalità del tutto simili dal punto di vista embrio-citologico, rispetto a quelle descritte per *J. oxycedrus*, ma si differenzia da questo per la successione cronologica delle fasi (Ciampi, 1958) (Fig. 3.4). In particolare, *J. communis* ha una elevata plasticità del ciclo riproduttivo, che può avere, a seconda dell'andamento stagionale, una durata di due anni (biotipo biennale), simile a quello di *J. oxycedrus*, oppure di tre anni (biotipo triennale) (Tab. 3.1).



Figura 3.4 Strutture riproduttive e vegetative di *J. communis*.



1. Rametto che porta i coni maschili;
2. Dettaglio di un cono maschile che mostra le sacche polliniche;
3. Particolare di un'antera;
4. Rametto che porta galbule a diverso stadio di maturazione: sono evidenti tre generazioni di galbule, dalle più giovani, portate all'apice, a quelle di tre anni, portate alla base;
5. Particolare di un cono femminile prima dell'impollinazione;
6. Galbula matura;
7. Sezione trasversale di galbula matura: all'interno è visibile il seme;
8. Seme;
9. Apice vegetativo.

La comparsa e le prime fasi di sviluppo dei coni maschili e femminili si ha in estate, come in *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* e *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa*, ma procede poi in maniera temporalmente diversa rispetto a queste ultime specie; infatti l'impollinazione ha luogo la primavera successiva, ritardata di alcuni mesi rispetto a *J. oxycedrus* (Ciampi, 1958). Il resto del ciclo si svolge poi in tempi simili, con lo sviluppo del gametofito a partire dalla primavera fino all'inizio dell'estate e quindi con i processi postfecondativi, che nel ginepro comune si protraggono fino all'inizio dell'estate dell'anno successivo.

Anche in *J. communis* si osserva, quindi, una pausa fra impollinazione e fecondazione, ma esiste anche la possibilità di una ulteriore interruzione del ciclo riproduttivo, subito dopo l'impollinazione, che ritarda l'inizio della megasporogenesi di circa un anno, e cioè fino alla primavera dell'anno successivo. Questa ulteriore possibilità porta a estendere quindi la durata del ciclo riproduttivo fino a tre anni.

Nel caso del biotipo triennale, la megasporogenesi verrà quindi completata nell'estate del terzo anno, e nello stesso periodo avrà luogo la fecondazione.

Le fasi di sviluppo successive (formazione e maturazione degli zigoti e poi degli embrioni) porteranno alla maturità dell'embrione nell'estate del terzo anno, momento in cui i semi saranno pronti per la dispersione naturale.

La possibilità di rallentare o affrettare il ciclo, sta alla base della grande adattabilità dei ginepri alle più svariate condizioni ambientali, in particolare nei casi in cui la stagione vegetativa è troppo breve per consentire lo svolgersi dei lunghi processi postfecondativi (Ciampi, 1958). L'ampiezza dell'areale di diffusione del *J. communis* è un'altra conferma delle sue possibilità di adattamento (Ciampi, 1958).

Tabella 3.1 Confronto fra le fasi del ciclo riproduttivo di *J. oxycedrus* e *J. communis*, con ciclo biennale e triennale

	<i>J. oxycedrus oxycedrus</i> <i>J. oxycedrus macrocarpa</i>	<i>J. communis</i> CICLO BIENNALE	<i>J. communis</i> CICLO TRIENNALE
<b>ESTATE I ANNO</b>	Formazione coni maschili e femminili	Formazione coni maschili e femminili	Formazione coni maschili e femminili
<b>AUTUNNO I ANNO</b>	Microsporogenesi Organizzazione nucella	Microsporogenesi Organizzazione nucella	Microsporogenesi Organizzazione nucella
<b>INVERNO I ANNO</b>	Impollinazione	Pausa	Pausa
<b>PRIMAVERA II ANNO</b>	Megasporogenesi	Impollinazione	Impollinazione
<b>ESTATE II ANNO</b>	Megasporogenesi Fecondazione	Megasporogenesi Fecondazione	Pausa
<b>AUTUNNO II ANNO</b>	Formazione zigoti	Formazione zigoti	Pausa
<b>INVERNO II ANNO</b>	Inizio differenziazione embrioni	Inizio differenziazione embrioni	Pausa
<b>PRIMAVERA III ANNO</b>	Sviluppo embrione	Sviluppo embrioni	Inizio megasporogenesi
<b>ESTATE III ANNO</b>	Maturità embrione	Maturità embrione	Megasporogenesi Fecondazione
<b>AUTUNNO III ANNO</b>			Formazione zigoti
<b>INVERNO III ANNO</b>			Inizio differenziazione embrioni
<b>PRIMAVERA III ANNO</b>			Sviluppo embrioni
<b>ESTATE III ANNO</b>			Maturità embrioni

## 3.2 Produzione delle galbule

### 3.2.1 La presentazione delle galbule

Con il termine "presentazione", si intende il modo in cui la pianta espone le strutture riproduttive per la dispersione. Si parla perciò di presentazione del polline e di presentazione di frutti e semi ai disperditori.

A seconda del taxa di *Juniperus* considerato e dell'area nella quale viene effettuato il campionamento, si riscontrano notevoli differenze riguardo alle dimensioni, al colore, alla presentazione delle galbule e alla dispersione dei semi.

Il periodo di maturazione delle galbule di *J. communis*, inizia generalmente intorno a

---

settembre e prosegue fino ad ottobre. A maturità, le galbule assumono una colorazione viola ceroso, dovuto alla presenza di antociani e pruine, e un gradevole profumo di resina (Fig. 3.5).

Fig. 3.5 Galbule mature di *J. communis*



Una volta mature le galbule restano sulla pianta e vengono così offerte agli animali disperditori che sono per lo più uccelli (tordo, merlo e pettirosso) ma anche piccoli roditori come il topo di campagna (Snow & Snow, 1988; Garcia *et al.*, 2001) (Tab.3.2). Non si sa con certezza se le galbule di questa specie vengono predate solamente da uccelli e piccoli roditori, visto che esiste una bibliografia limitata su questo argomento, ma si suppone che, rimanendo sulla pianta per tutto il periodo della post-maturazione, le galbule restino fuori dalla portata di altri mammiferi, protette dalle foglie aghiformi. Queste foglie appuntite scoraggiano animali come volpe, tasso, donnola e cinghiale, che hanno la parte esterna delle narici coperta da un epitelio sottile e irritabile che, trovandosi all'apice del muso, risulta in posizione prominente rispetto alla bocca.

Tab.3.2 Caratteristiche legate alla maturazione e dispersione dei frutti e dei semi di tre taxa di ginepro.

	Periodo di maturazione	Luogo di presentazione delle galbule	Disperditori	Distanze approssimative raggiunte dai semi min/max
<i>J. communis</i>	Settembre-Ottobre	Sulla pianta	Uccelli, piccoli roditori	Da poche centinaia di m ad alcuni Km
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>oxycedrus</i>	Agosto-Settembre	Sul terreno (e sulla pianta)	Volpi, cinghiali, donnole, tassi ecc.	Da poche decine di m a qualche Km
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>macrocarpa</i>	Settembre-Ottobre	Sul terreno	Volpi, cinghiali, donnole, tassi ecc.	Da poche decine di m a qualche Km

Le galbule di *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa* maturano verso settembre-ottobre e, una volta che hanno assunto la caratteristica colorazione marrone-violacea, cadono a terra (Piotto, 2001). La caduta dei frutti una volta raggiunta la maturazione è comune a molte piante, infatti il frutto maturo non ha più bisogno dei nutrienti forniti dalla pianta madre, che sono invece stati indispensabili durante le fasi del suo sviluppo. I tessuti conduttori, si obliterano e si forma un tessuto di abscissione che determina il distacco del frutto.

La maturazione delle galbule di *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa* non avviene simultaneamente in una pianta e in tutti gli individui di una medesima località; quindi la maturazione e la conseguente caduta delle galbule (cascola) è scaglionata e prosegue fino a gennaio. Questa è una strategia volta a facilitare la possibilità di raccolta da parte di animali disperditori. Infatti, una volta a terra, le galbule vengono mangiate da volpi, donnole, tassi e cinghiali, che provvedono alla dispersione dei semi tramite le feci deposte nel territorio. La predazione delle galbule da parte di questi mammiferi è quantitativamente notevole tanto da costituire una parte rilevante della loro dieta autunnale ed invernale.

Infine, bisogna notare che in condizioni poco favorevoli alla sopravvivenza della pianta può anche verificarsi la caduta da stress (Fig.3.6) delle galbule ed anche di gran parte degli aghi, dovuta a fattori che interferiscono gravemente con lo svolgimento del ciclo riproduttivo.



---

Fig. 3.6 Immagini della caduta da stress di galbule di *J. oxycedrus*



La presentazione delle galbule di *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* è molto simile a quella della sottospecie *macrocarpa*. Infatti, nella stazione di Collelungo e della Piana dei Cavalleggeri, cioè in prossimità del livello del mare, le galbule maturano in agosto-settembre e, proprio come quelle di *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa* alle quali assomigliano per le notevoli dimensioni, cadono a terra dopo un periodo più o meno lungo di permanenza sulla pianta.

Nella stazione di Casciano di Murlo, invece, le galbule sono decisamente più piccole di quelle prodotte dalle piante situate a bassa quota e sono più simili per dimensioni alle galbule di *J. communis*. Anche l'odore delle galbule mature di *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* della stazione di Casciano è meno pungente e fastidioso di quelle prodotte dalle piante della zona litoranea.

Le galbule di questo taxon inoltre cominciano a maturare verso dicembre in collina e, nei mesi successivi, cadono a terra dove vengono mangiate dai disperditori già elencati per questa entità.

Non è tuttavia da escludere che gli uccelli e i piccoli roditori che si nutrono delle galbule di *J. communis*, possano mangiare anche le piccole galbule di *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* presenti nell'ambiente collinare.

Nel genere *Juniperus*, il luogo di presentazione delle galbule e le loro dimensioni sembrano condizionare il tipo di disperditori.

### 3.2.2 Permanenza delle galbule sulla pianta madre

La durata del ciclo riproduttivo di *Juniperus*, come già descritto nell'introduzione, varia a seconda delle specie. In *J. communis* il ciclo riproduttivo può durare due o tre anni ed è influenzato dalle condizioni ambientali (ha particolare importanza la piovosità tanto che può determinare la riduzione del ciclo a due anni). In *J. oxycedrus*, invece, la durata e l'andamento del ciclo sono costanti e si svolgono durante un pe-

---

riodo di due anni, non influenzati in maniera altrettanto evidente dalle condizioni climatiche ed ecologiche dell'habitat.

Nelle località selezionate ai fini di questo studio, la prolungata piovosità stagionale che si è verificata nell'estate del 2002 ha determinato una riduzione del ciclo riproduttivo di *J. communis* a due anni. Le piante di ogni stazione erano state impollinate naturalmente nella primavera del 2001; nel mese di ottobre 2002 sono state raccolte le galbule mature.

Osservare la permanenza delle galbule sulla pianta è indispensabile per accertare quante di queste cadono prima della maturazione e comprendere se le cascole che si verificano in *J. oxycedrus* sono eventi occasionali oppure rappresentano un passo della strategia riproduttiva di questa specie.

I campionamenti sono stati effettuati nelle stazioni di Greve, Petriolo e Montarrenti per *J. communis*, e Piana dei Cavalleggeri e Collelungo per entrambe le sottospecie di *J. oxycedrus*. In ogni stazione è stato registrato il numero di galbule mature o prossime alla maturazione, e, separatamente, il numero di galbule giovani (al primo anno di maturazione), portate da tre rami appartenenti alla stessa pianta. Per ogni area di studio sono state scelte tre piante appartenenti a ciascuna sottospecie. Ogni 8 mesi circa è stata annotata l'eventuale variazione numerica dei coni/galbule, in modo da avere un quadro generale della loro permanenza sulla pianta.

In *J. communis* dal momento del primo conteggio alla maturazione delle galbule si è osservato una costante diminuzione di queste sul ramo. L'entità di questa diminuzione è stata simile nelle stazioni di Greve e Montarrenti, mentre la permanenza delle galbule sui rami nella località di Petriolo sembra essere stata più costante (Tab. 3.3).

Tab. 3.3 Numero di galbule rimaste sul ramo, nelle tre osservazioni effettuate in tutte le stazioni di *J. communis* (media  $\pm$ sd).

		Numero medio di galbule sul ramo		
Località di campionamento		23/04/01	10/01/02	08/10/02
<i>J. communis</i>	Greve	65.3 $\pm$ 19.2	43.8 $\pm$ 23.5	31.1 $\pm$ 18.1
	Petriolo	44.7 $\pm$ 15.5	37.7 $\pm$ 16.6	32.6 $\pm$ 21.4
	Montarrenti	53.0 $\pm$ 30.5	35.7 $\pm$ 29.2	21.4 $\pm$ 12.7

È interessante osservare questi dati in termini di "resa", ovvero il rapporto (espresso in percentuale) fra numero di galbule presenti al momento della maturazione e numero di galbule presenti inizialmente (Tab. 3.4). La resa è piuttosto elevata in tutte le stazioni, ma si osserva un valore significativamente più elevato nelle piante osserva-

---

te nella stazione di Petriolo ( $p < 0,05$  ANOVA ad una via seguita da test di Tuckey per la comparazione della media).

Tab. 3.4 Resa in percentuale delle galbule di *J. communis*, nelle tre stazioni di campionamento. Lettere diverse indicano differenze statisticamente significative ( $p < 0,05$  ANOVA ad una via seguita da test di Tuckey per la comparazione della media) (media $\pm$ sd).

	Stazione di campionamento	Resa percentuale
<i>J. communis</i>	Greve	52.7 $\pm$ 30.2 <sup>a</sup>
	Petriolo	66.9 $\pm$ 31.8 <sup>b</sup>
	Montarrenti	46.6 $\pm$ 25.9 <sup>a</sup>

In *J. oxycedrus* si osserva l'evento della cascola. Per questa sottospecie non ha senso parlare di resa, poiché con la cascola tutte – o quasi – le galbule cadono spontaneamente dalla pianta. Anzi, all'opposto, si potrebbe dire che un'efficace cascola naturale serve ad aumentare il successo dei semi, poiché aumenta la probabilità che mammiferi disperditori si nutrano delle galbule.

Durante le prime fasi di questo studio si è evidenziato il fatto che molti coni femminili abortiscono e cadono al minimo scuotimento nel periodo immediatamente successivo l'impollinazione. Per questo motivo il primo conteggio delle galbule è stato fatto a circa un mese dall'impollinazione.

### 3.3 Produzione dei semi

La stima quantitativa del lotto di semi prodotti dalle popolazioni in osservazione è un importante parametro per valutarne l'efficienza riproduttiva. La quantità totale di semi prodotti, stimata nell'ambito di gruppi di 50 galbule, dà informazioni sulla produttività all'interno di tutto il lotto, mentre il numero di semi presente in ogni galbula rappresenta un dato sull'effettivo sviluppo degli ovuli inizialmente presenti nei coni.

#### 3.3.1 Numero di semi per gruppi di 50 galbule

La produttività delle varie stazioni sembra essere stata piuttosto costante per tutte le popolazioni osservate, e confrontabile sia negli anni sia fra le specie o sottospecie in esame.

Tab. 3.5 Numero di semi presente in gruppi di 50 galbule di *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*, *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa* e *J. communis* raccolte in momenti successivi e provenienti da tutte le stazioni di campionamento (media $\pm$ sd).

		Numero di semi per gruppo di 50 galbule		
	Località di campionamento	Raccolta effettuata fine 2000 inizio 2001	Raccolta effettuata nel 2001	Raccolta effettuata nel 2002
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>oxycedrus</i>	P. Cavalleggeri	141.0 $\pm$ 5.6	-	-
	Collelungo	144.3 $\pm$ 3.8	-	-
	Migliarino	143.6 $\pm$ 18.8	-	-
	Casciano di M.	135.0 $\pm$ 1.7	-	-
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>macrocarpa</i>	P. Cavalleggeri	-	-	148.0 $\pm$ 6.1
	Collelungo	-	-	143.0 $\pm$ 5.2
	Migliarino	-	-	143.6 $\pm$ 6.6
<i>J. communis</i>	Greve	141.3 $\pm$ 3.2	146.3 $\pm$ 5.5	137.7 $\pm$ 3.8
	Lecceto	129.0 $\pm$ 7.8	-	-
	Petriolo	141.3 $\pm$ 3.2	134.6 $\pm$ 1.1	146.0 $\pm$ 3.6
	Montarrenti	137.3 $\pm$ 1.5	146.6 $\pm$ 1.5	143.6 $\pm$ 4.0

La stazione di Lecceto, poi abbandonata, era l'unica che alla fine del 2000 aveva un numero di semi leggermente inferiore ma è da tenere conto che questa popolazione mostrava evidenti segni di deperimento (scarsa fruttificazione e rami in parte spogli).

### 3.3.2 Numero di semi per galbula

Se si osserva il numero di semi per ogni galbula, si nota che la maggior parte delle galbule contengono tre semi al loro interno, e solo poche galbule hanno invece due semi. Sono rare le galbule con zero, uno e cinque semi. Questa osservazione vale per tutte le popolazioni di entrambe le specie in esame. Dato che in ogni cono sono mediamente presenti tre ovuli, la presenza di tre semi per galbula indica che, in linea di massima, la produzione di semi è numericamente vicina al massimo teoricamente possibile, in rapporto col numero di ovuli tipico dei ginepri.

### 3.4 Qualità dei semi: dimensioni, peso, vitalità

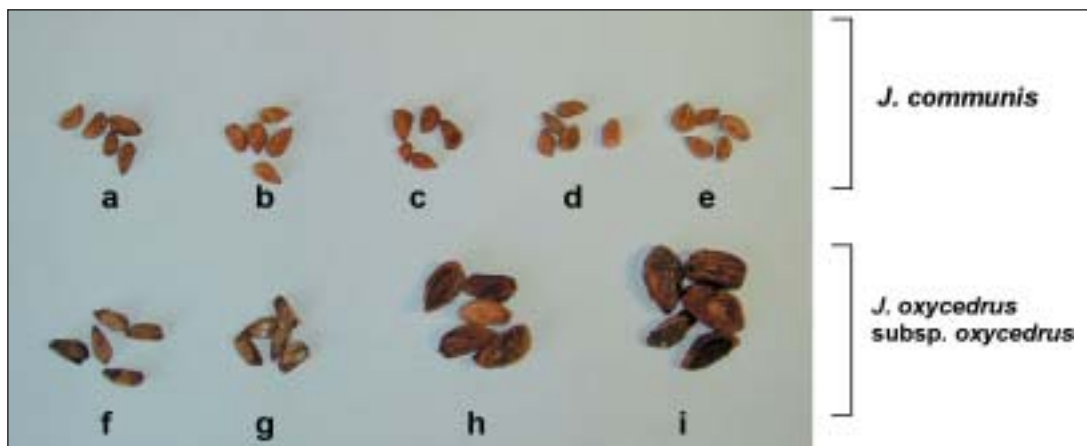
La qualità dei semi può essere valutata in funzione di caratteri morfologici (dimensioni, peso) o biochimico-fisiologici (vitalità). Conoscere il peso dei semi di *Juniperus* è di notevole importanza pratica. Infatti i semi morti sono solitamente più leggeri di quelli vivi, dato che embrione ed endosperma sono spesso assenti oppure disidratati e degenerati. Non è comunque possibile generalizzare, poiché non tutti i semi che contengono embrione ed endosperma sono effettivamente vivi. Infatti, alcuni semi presentano una struttura citologica completa (embrione ed endosperma) ma non sono in

grado di germinare oppure si rivelano non vitali ai test biochimici, quali ad esempio il test con TTC (vedi paragrafo 3.4.3).

### 3.4.1 Dimensioni dei semi

La dimensione dei semi di *Juniperus* varia a seconda della specie e della località di raccolta. In particolare, i semi di *J. communis* sono i più piccoli dei tre taxa considerati e le loro dimensioni sono piuttosto costanti nelle varie stazioni mentre i semi di *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* hanno dimensioni estremamente variabili a seconda della località di provenienza. È da ricordare che questo taxon può colonizzare ambienti con condizioni ecologiche molto diverse, come si verifica infatti nelle stazioni di campionamento scelte ai fini di questo studio: si va infatti dalle zone collinari di medie altitudini (Casciano di Murlo, 400m s.l.m.) dove i semi sono piuttosto piccoli, alle dune sabbiose del Parco della Maremma (Collelungo, Cavalleggeri) e di Migliarino, dove i semi sono molto più grandi.

Figura 3.7 Morfologia dei semi di *J. communis* e *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* campionati nelle diverse stazioni. La figura mostra la differenza di dimensioni tra gruppi di 5 semi provenienti dalle seguenti località: **a.** Fontazzi; **b.** Petriolo; **c.** Greve; **d.** Montarrenti; **e.** Lecceto **f.** Casciano di Murlo; **g.** Monteorgiali; **h.** Migliarino; **i.** Collelungo.



### 3.4.2 Peso dei semi

Per conoscere il peso fresco dei semi, sono stati pesati gruppi di 50 semi estratti dalle galbule subito dopo la raccolta.

In *J. communis* il peso dei semi non varia significativamente fra le stazioni considerate, ma si riscontra un aumento significativo del peso dei semi raccolti nell'anno 2002. Inoltre, tale incremento è particolarmente elevato nei campioni provenienti dalla località di Greve.

Tab. 3.6 Peso (g) dei semi di *J. communis*, *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* e *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa*, raccolti in varie stazioni di campionamento (media $\pm$ sd). Le voci contrassegnate con asterisco (\*) indicano semi provenienti da galbule predate da volpi, tassi, cinghiali o non predate, raccolti nel Parco della Maremma nei pressi delle stazioni di Collelungo. Lettere diverse indicano differenze statisticamente significative.

		Peso dei semi (g)		
	Località di campionamento	Raccolta 2001	Raccolta fine 2001-inizio 2002	Raccolta fine 2002
<i>J. communis</i>	Montarrenti	0.4 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	0.4 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	0.9 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>
	Petriolo	0.5 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	0.5 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	0.7 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>
	Greve	0.5 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	0.5 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	1.0 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>
	Fontazzi	0.6 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	0.6 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	-
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>oxycedrus</i>	Collelungo	-	5.1 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	-
	P. Cavalleggeri	-	2.4 $\pm$ 0.1 <sup>c</sup>	-
	Migliarino	-	3.3 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	-
	Casciano di M.	-	2.6 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup>	-
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>macrocarpa</i>	Marina di GR	4.0 $\pm$ 0.2	-	-
	Collelungo	-	3.4 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	-
	Cavalleggeri	-	3.2 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	-
	Migliarino	-	3.1 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	-
	Tasso*	-	3.4 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	-
	Volpe*	2.6 $\pm$ 0.0	3.2 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	-
	Cinghiale*	2.7 $\pm$ 0.0	2.8 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	-
	Galbule non predate*	4.1 $\pm$ 0.4	-	-

Per quanto riguarda *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* il peso dei semi varia in funzione della stazione: si nota, in particolare, che il peso dei campioni provenienti dalla stazione di Collelungo è significativamente più elevato degli altri. Inoltre, il peso dei semi provenienti dalla Piana dei Cavalleggeri e da Casciano di Murlo è significativamente inferiore rispetto a quello dei semi provenienti da Migliarino.

In *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa* il peso dei semi è simile nelle varie stazioni. Per quanto riguarda il peso dei semi provenienti dagli escrementi di animali, è stato osservato che i semi estratti dalle feci di cinghiale mostrano un peso significativamente inferiore rispetto a quelli provenienti da feci di volpe e tasso ed anche rispetto a quelli provenienti dalle stazioni di Collelungo. Il passaggio dei semi attraverso il canale alimentare di mammiferi (tassi, volpi, cinghiali) influenza quindi in maniera variabile il loro peso. La riduzione di peso che si osserva nei semi estratti dalle feci di cinghiale è dovuta alla scarificazione che essi subiscono all'interno dell'intestino di questi mammiferi e che evidentemente non si verifica nell'intestino di tassi e volpi.

### 3.4.3 Vitalità dei semi

La vitalità dei semi è un parametro che contribuisce a caratterizzare l'efficienza riproduttiva di una specie tramite la valutazione della presenza di attività enzimatiche (deidrogenasi). Il test utilizzato in questo studio consiste nell'immergere i semi pre-

ventivamente reidratati, privati del tegumento legnoso ma corredati di embrione ed endosperma, in una soluzione all'1% di 2,3,5-trifenil cloruro di tetrazolio (TTC) per 24 ore. In presenza di attività deidrogenasica, il TTC assume una colorazione rossa o rosata intensa, che contraddistingue i semi vitali da quelli morti, privi di colorazione. Per ogni test sono state utilizzate tre repliche di 10 semi ciascuna.

In *J. communis* la vitalità dei campioni della prima e della seconda raccolta è estremamente bassa. La vitalità dei semi raccolti nel 2002 è significativamente più elevata rispetto a tutti gli altri anni ( $p < 0,05$  secondo ANOVA a due vie e test di Tuckey), mentre la stazione di provenienza non influenza significativamente tale valore.

La vitalità dei semi di *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* è molto bassa nei semi provenienti da Casciano di Murlo mentre non vi sono differenze significative tra le altre stazioni (Tab. 3.7).

Tab.3.7 Percentuale di semi vitali nelle differenti stazioni e periodi di raccolta (media $\pm$ ds). Le voci contassegnate con asterisco(\*) indicano semi provenienti da galbule predate da volpi, tassi, cinghiali o non predate, provenienti dal Parco dell'Uccellina nei pressi delle stazioni di Collelungo e P. Cavalleggeri. Lettere differenti indicano differenze statisticamente significative.

		Percentuale di semi vitali		
	Località di campionamento	Fine 2000- inizio 2001	Fine 2001- inizio 2002	Fine 2002
<i>J. communis</i>	Montarrenti	1.6 $\pm$ 1.5 <sup>a</sup>	3.3 $\pm$ 5.8 <sup>a</sup>	23.3 $\pm$ 13.2 <sup>b</sup>
	Petriolo	2.0 $\pm$ 2.0 <sup>a</sup>	0	32.2 $\pm$ 13.0 <sup>b</sup>
	Greve	1.3 $\pm$ 1.5 <sup>a</sup>	2.7 $\pm$ 1.5 <sup>a</sup>	33.3 $\pm$ 13.2 <sup>b</sup>
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>oxycedrus</i>	Collelungo	-	36.7 $\pm$ 5.8 <sup>a</sup>	-
	Migliarino	-	46.7 $\pm$ 15.3 <sup>a</sup>	-
	P. Cavalleggeri	-	50.0 $\pm$ 17.3 <sup>a</sup>	-
	Casciano di M.	-	6.7 $\pm$ 11.5 <sup>b</sup>	-
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>macrocarpa</i>	Marina di GR	66.7 $\pm$ 20.8 <sup>b</sup>	-	-
	Collelungo	-	36.7 $\pm$ 5.8 <sup>a</sup>	-
	Migliarino	-	53.3 $\pm$ 20.8 <sup>a</sup>	-
	P. Cavalleggeri	-	26.7 $\pm$ 11.5 <sup>a</sup>	-
	Volpe*	36.7 $\pm$ 25.2 <sup>a</sup>	33.3 $\pm$ 15.2 <sup>a</sup>	-
	Cinghiale*	26.7 $\pm$ 15.3 <sup>a</sup>	26.7 $\pm$ 5.8 <sup>a</sup>	-
	Tasso*	-	33.3 $\pm$ 20.8 <sup>a</sup>	-
	Non predate*	20.0 $\pm$ 26.5 <sup>a</sup>	-	-

In *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa* la percentuale di semi vitali provenienti da Marina di Grosseto e raccolti nel 2000-2001 è maggiore rispetto a tutti le altre stazioni che non mostrano tra loro differenze statisticamente significative. Confrontando la vitalità dei semi estratti dalle feci di volpe, cinghiale e tasso non si osserva nessuna differenza significativa, e si può quindi escludere un danneggiamento dovuto al passaggio dei semi nell'intestino di questi mammiferi.

Nelle due sottospecie di *J. oxycedrus*, e limitatamente alla raccolta fine 2001 – inizio 2002, è stata fatta una distinzione all'interno della classe dei semi non vitali: semi non



---

vitali ma contenenti embrione ed endosperma e semi vuoti in cui è presente solo il tegumento ma privi di embrione ed endosperma. La distinzione è importante in quanto un seme vuoto si forma in seguito ad impollinazione ma in assenza di fecondazione mentre un seme completo ma non vitale si sviluppa comunque in seguito a fecondazione (Ortiz *et al.*, 1998). I semi completi ma non vitali sono nettamente in numero maggiore rispetto ai semi vuoti.

In tutti e i tre taxa del genere *Juniperus* esaminati si sviluppano quasi sempre 3 semi per galbula. Apparentemente vi è la massima potenzialità riproduttiva visto che in genere sono presenti 3 ovuli per ogni cono femminile. Tuttavia nella valutazione della efficienza riproduttiva di queste specie è da tener conto che la galbula si accresce ed il tegumento dei semi si forma solo in seguito all'impollinazione ma indipendentemente dalla fecondazione. Quindi, per determinare la qualità dei semi non è sufficiente una loro valutazione morfologica esterna ma deve essere valutata la presenza e la vitalità dell'embrione in essi contenuto.

Anche il peso non è un parametro attendibile per la valutazione della qualità dei semi perché non tutti i semi completi (con endosperma ed embrione) sono risultati vitali al test del TTC (prova determinante per la stima della vitalità dei semi).

Il nostro studio ha mostrato valori molto bassi della vitalità dei semi di tutti e tre i taxa di *Juniperus* con percentuali che oscillano in genere tra il 20 e il 50%. Per quanto riguarda la vitalità di *J. oxycedrus* i dati da noi osservati nelle due sottospecie concordano pienamente con quelli riportati da Ortiz *et al.* (1998) in popolazioni della Spagna meridionale. Non ci sono differenze tra le due sottospecie né differenze significative tra popolazioni diverse se si eccettua quella di Casciano di Murlo per *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*. È da tenere conto che tale stazione rappresenta il limite verso l'entroterra in cui si ritrova tale entità, la vitalità dei semi significativamente più bassa può essere dovuta agli effetti che parametri ambientali non appropriati hanno sullo sviluppo del seme.

Sembra quindi che la bassa vitalità dei semi di *J. oxycedrus* negli ambienti tipici della sua distribuzione geografica sia un dato indipendente dalla localizzazione della stazione.

Data la netta predominanza di semi completi ma non vitali rispetto ai semi vuoti nelle due sottospecie di *J. oxycedrus* è evidente la presenza di eventi abortivi post-fecondativi che determinano la scarsa qualità dei semi.

Per quanto riguarda *J. communis* la vitalità dei semi è significativamente inferiore rispetto a quella di *J. oxycedrus* anche nell'anno 2002 in cui sono state osservati valori di vitalità maggiori rispetto agli altri anni.



---

## 4. INDIVIDUAZIONE DELLE CAUSE DELLA BASSA EFFICIENZA RIPRODUTTIVA DEI GINEPRI

In seguito ai dati riscontrati nella precedente parte della ricerca, si è cercato di individuare le cause della bassa efficienza riproduttiva dei ginepri oggetto di studio focalizzando l'attenzione su:

- effetto dei parassiti delle galbule di *J. oxycedrus* sulla produzione e vitalità dei semi;
- stima della quantità e qualità del polline prodotto;
- meccanismi e dinamiche della impollinazione.

### 4.1 Effetto dei parassiti sulla produzione dei semi

Le galbule carnose dei ginepri sono appetibili non solo per i disperditori che se ne nutrono, ma anche per varie specie di parassiti, che predano le galbule mature, provocando danni diretti al frutto o al seme ed interferendo in varia misura con la dispersione (Garcia, 1998). I parassiti agiscono sulle strutture riproduttive femminili, a vari stadi del suo sviluppo, e si nutrono a spese della polpa delle galbule, del seme (parassiti seminifagi) o di entrambi (parassiti conoseminifagi) (Roques *et al.*, 1984). Il momento in cui l'insetto attacca il frutto e quello in cui lo abbandona è ben preciso, infatti il ciclo vitale del parassita è sincronizzato con quello delle strutture riproduttive dei ginepri, tanto che la maggior parte dei parassiti predano le giovani galbule al secondo anno del ciclo riproduttivo e le attaccano preferenzialmente in primavera o estate (Roques *et al.*, 1984).

Nel bacino del Mediterraneo *J. communis* e *J. oxycedrus* sono parassitate da numerose specie di insetti. Si riscontrano variazioni regionali nella composizione della fauna di parassiti vista l'ampia distribuzione di queste specie (Roques *et al.*, 1984; Guido e Roques, 1996; Garcia, 1998). Gli insetti maggiormente diffusi e presenti, ed anche gli unici trovati nelle stazioni prese in esame ai fini di questo studio, sono *Carulaspis juniperi* Bouche (*Homoptera, Diaspididae*) e *Megastigmus bipunctatus* Swederus (*Hymenoptera, Tormydae*); entrambi sono ospitati sia da *J. communis* che da *J. oxycedrus* (Roques *et al.*, 1984; Guido e Roques, 1996; Garcia, 1998).

La presenza di questi parassiti determina una riduzione del numero dei semi prodotti o della loro vitalità (Roques *et al.*, 1984; Guido e Roques, 1996; Garcia, 1998), soprattutto nel caso di *M. bipunctatus*, che ha un effetto diretto sul seme, di cui si nutre durante il suo sviluppo.

---

#### 4.1.1 Il ciclo vitale di *Carulaspis juniperi*

*Carulaspis juniperi* è un parassita che infesta sia i frutti che gli aghi, attaccandosi alla loro superficie e ricoprendosi di una scaglia biancastra e cerosa. Le femmine sessili depongono le loro uova, all'inizio dell'estate, sulle galbule mature giunte al terzo anno del ciclo riproduttivo. Da queste si schiudono le larve striscianti che rappresentano lo stadio di dispersione e che si installano su galbule giovani, al secondo anno del ciclo riproduttivo. Dopo alcune mute, gli individui femminili diventano a loro volta adulti sessili e si nutrono sulla superficie delle galbule, ricoprendosi della caratteristica scaglia biancastra. All'inizio dell'estate successiva avviene la deposizione delle uova ed il ciclo ricomincia (Garcia, 1998).

#### 4.1.2 Il ciclo vitale di *Megastigmus bipunctatus*

*Megastigmus bipunctatus* è un parassita seminifago, il cui ciclo vitale si svolge, nella fase larvale, interamente a spese dei semi. Gli individui adulti fuoriescono dalle galbule, all'interno delle quali si sono accresciuti, in Giugno – Luglio e si accoppiano. Le femmine effettuano l'ovoposizione sulle giovani galbule al secondo anno di crescita, i cui semi non hanno ancora sviluppato un tegumento lignificato; la penetrazione è facile ed è quindi possibile la deposizione di un uovo per ogni seme in sviluppo. La larva cresce all'interno di quest'ultimo, consumandolo. L'estate successiva la larva si impupa e gli adulti fuoriescono dalla galbula lasciando il caratteristico foro di uscita. Quindi si ha l'accoppiamento e con la successiva ovoposizione il ciclo ricomincia (Roques et al., 1984; Garcia, 1998).

La presenza di parassiti quali *Megastigmus bipunctatus* e *Carulaspis juniperi* può influenzare l'efficienza riproduttiva di *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* e *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa*, causando una riduzione nel numero o nella vitalità dei semi prodotti. Nell'ambito di questo progetto, è stata valutata la presenza dei parassiti nelle varie stazioni considerate, nonché la loro influenza sulla quantità e sulla qualità dei semi prodotti, in confronto a semi provenienti da galbule non parassitate.

#### 4.1.3 Quantificazione della presenza dei parassiti

I parassiti sono presenti in una percentuale variabile tra il 30 ed il 60% delle galbule campionate nelle differenti stazioni di entrambe le sottospecie di *J. oxycedrus*. Il parassita di *J. oxycedrus* più diffuso è *Carulaspis juniperi* indipendentemente dalla località di raccolta e dalla sottospecie. (Tab. 4.1). Per entrambe le sottospecie la stazione con la maggiore presenza di parassiti è risultata la Piana dei Cavalleggeri.

Tab. 4.1 Percentuale di galbule parassitate in totale e dai due parassiti *Megastigmus bipunctatus* e *Carulaspis juniperi* nelle diverse località di campionamento (media±sd).

	Località di campionamento	Percentuale di galbule parassitate in totale	Percentuale di galbule parassitate da <i>M. bipunctatus</i>	Percentuale di galbule parassitate da <i>C. juniperi</i>
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>macrocarpa</i>	Cavalleggeri	59.3±8.0	4.6±1.5	52.0±8.7
	Collelungo	38.0±3.0	10.0±2.6	28.0±5.3
	Migliarino	41.3±30.7	10.6±2.1	30.6±2.5
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>oxycedrus</i>	Cavalleggeri	60.0±1.7	15.3±3.8	44.6±3.0
	Collelungo	24.6±2.5	7.3±1.1	17.3±2.9
	Migliarino	38.6±5.0	10.6±2.5	28.0±2.6
	Casciano	30.0±3.0	4.0±1.0	26.0±2.6

#### 4.1.4 Effetto dei parassiti sulla produzione e sulla vitalità dei semi

Per valutare la produttività di semi delle popolazioni osservate, sono stati contati i semi contenuti in gruppi di 50 galbule di ogni sottospecie, e provenienti da tutte le località di campionamento.

In *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* il numero di semi prodotti è costante e confrontabile anche nel caso in cui siano presenti i parassiti *Megastigmus bipunctatus* e *Carulaspis juniperi* (Tab. 4.2).

In *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa*, si osserva invece una consistente diminuzione del numero di semi presenti nei gruppi di galbule parassitate da *M. bipunctatus* nelle stazioni di Collelungo e Piana dei Cavalleggeri (Tab. 4.2).

Tab. 4.2 Numero di semi contenuti all'interno di gruppi di 50 galbule sane, parassitate da *Megastigmus bipunctatus* e da *Carulaspis juniperi* (media±sd).

	Località	Numero di semi per gruppo di 50 galbule		
		Sane	Parassitate da <i>M. bipunctatus</i>	Parassitate da <i>C. juniperi</i>
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>macrocarpa</i>	Collelungo	142.7±2.5	98.8±31.3	138.3±3.3
	Migliarino	157.2±13.3	131.6±13.3	161.6±3.3
	Cavalleggeri	142.2±7.7	142.5±17.7	138.3±4.4
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>oxycedrus</i>	Collelungo	148.3±2.9	140.0±1.7	142.2±1.9
	Migliarino	138.8±9.2	128.8±2.5	144.4±20.7
	Cavalleggeri	140.0±6.0	131.6±9.4	146.1±3.5
	Casciano	133.3±9.3	134.4±6.7	122.2±15.0
<i>J. communis</i>	Petriolo	136.6±6.0	131.6±6.6	132.7±1.9
	Montarrenti	146.1±3.5	142.2±6.7	143.3±2.4
	Greve	150.0±3.3	146.6±1.7	140.0±7.1

Per quanto riguarda la produzione di semi per galbula in *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* la presenza dei parassiti non è causa di variazione significativa rispetto alle gal-

---

bule sane, le galbule parassitate hanno mediamente tre semi al loro interno come quelle sane (vedi tabella 4.2). Nel caso invece di *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa*, si osserva una diminuzione del numero di semi nelle galbule parassitate da *M. bipunctatus* provenienti dalle stazioni di Collelungo e Migliarino.

Il parassita maggiormente presente nelle galbule di *J. oxycedrus* è *Carulaspis juniperi*. Nonostante l'ampia diffusione (dal 20 ad oltre il 50% di galbule parassitate) tale parassita non ha un effetto negativo né sulla quantità di semi prodotti per galbula né sulla loro vitalità. *M. bipunctatus* può avere un effetto negativo sulla produzione di semi soprattutto in *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa* ma non sembra comunque alterarne la vitalità. L'effetto di quest'ultimo parassita a livello di popolazione non è da ritenersi importante, vista la sua scarsa diffusione nelle stazioni studiate.

## **4.2 Produzione e qualità del polline**

La produzione di polline all'interno di una popolazione di piante dioiche come i ginepri, può essere stimata in base al rapporto tra numero di individui maschili, numero di individui femminili ed alla quantità di polline prodotto dai coni maschili.

### *4.2.1 Rapporto tra i sessi*

Il rapporto tra i sessi è un parametro importante per la riproduzione dei ginepri, poiché, teoricamente, un buon numero di individui maschili garantisce una maggiore produzione di polline e quindi aumenta la probabilità che un maggior numero di coni femminili venga impollinato e giunga a maturazione. Inoltre, un maggior carico pollinico per ciascun cono femminile aumenta la competizione gametofitica maschile tra più individui geneticamente diversi. Ciò dovrebbe determinare un aumento della quantità e "qualità" (vigore genetico) della progenie.

Dato che *Juniperus communis* e *Juniperus oxycedrus* sono entità dioiche sono state considerate femminili quelle piante in cui sono state osservate galbule e maschili quelle in cui sono stati osservati coni polliniferi. Un individuo privo di espressione sessuale, potrebbe essere:

- un maschio qualche tempo dopo la dispersione del polline;
- un individuo giovane e ancora immaturo;
- una femmina che non ha fruttificato per uno o più anni consecutivi a causa di stress ambientali.

Per la determinazione del sesso delle piante di *Juniperus* nelle diverse stazioni, si è cercato quindi di concentrare le osservazioni nel periodo riproduttivo.

In *J. communis*, il rapporto fra gli individui maschili e femminili resta sempre vicino a 1:1 in tutte e quattro le stazioni, lo squilibrio maggiore è stato riscontrato nella stazione di Montarrenti dove gli individui femminili sono numericamente superiori a quelli maschili. La maggiore presenza di individui maschili si registra invece nella stazione di Petriolo (Tab. 4.3).

Nel caso di *J. oxycedrus* il rapporto tra i sessi varia notevolmente a seconda della sottospecie e dell'habitat; inoltre gli individui privi di espressione sessuale sono molto più numerosi, rispetto a *J. communis*. La maggiore frequenza di individui privi di espressione sessuale si ritrova nella stazione di Collelungo dove il 72,7% degli individui di *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* e il 71,4% degli individui di *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa* risulta privo di espressione sessuale.

È interessante notare che nella stazione di Piana dei Cavalleggeri sono stati ritrovati due individui monoici, cioè con coni femminili e maschili sulla stessa pianta.

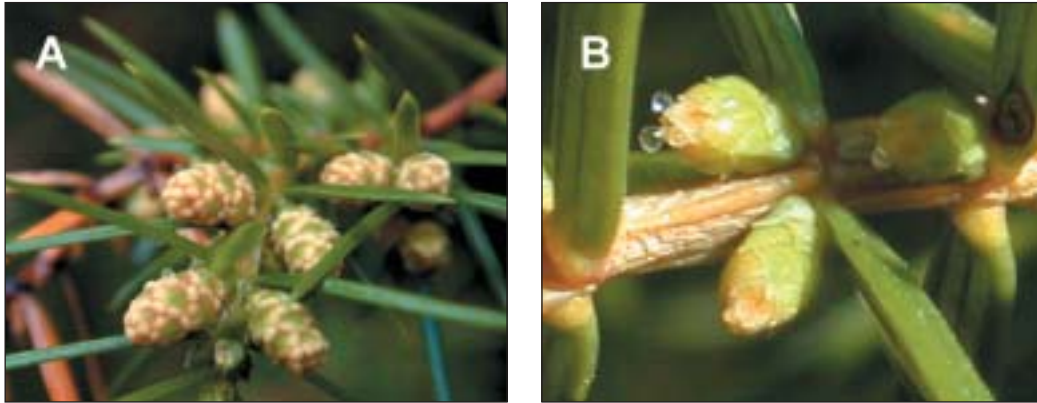
Tab. 4.3 Percentuale di individui maschili e femminili dei tre taxa di *Juniperus* per ogni area di studio.

specie	stazione	% maschi	% femmine	%incerti
<i>J. communis</i>	Greve	48.2	51.8	0
	Lecceto	45.8	54.2	0
	Petriolo	51.3	48.7	0
	Montarrenti	41.6	58.4	0
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>oxycedrus</i>	P.Cavalleggeri	54.8	45.2	0
	Collelungo	18.2	9.1	72.7
	Casciano	62.1	37.9	0
	Migliarino	24.0	40.0	36.0
	S. Rossore	40.0	60.0	0
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>macrocarpa</i>	Torre Mozza	33.3	66.7	0
	S.Vincenzo	52.0	48.0	0
	P.Cavalleggeri	18.2	9.1	72.7
	Collelungo	8.2	20.4	71.4
	Migliarino	25.0	33.3	41.7
	S.Rossore	14.3	42.9	42.9

#### 4.2.2 Quantità di polline prodotta dai coni

Per calcolare il numero di granuli pollinici contenuti da un cono maschile, sono stati usati coni il più possibile prossimi alla dispersione, ma con le sacche polliniche ancora integre (Fig. 4.1). Il metodo usato è quello di Dafni (1992).

Fig. 4.1. Coni maschili (A) e femminili (B) di *J. communis* al momento dell'impollinazione (fine marzo 2001). Le sacche polliniche sono pronte alla dispersione del polline e i coni femminili maturi mostrano la goccia micropilare dove si deposita il polline.



Sono stati utilizzati tre coni di tre diverse piante per ciascuna stazione e per ogni cono sono state effettuate tre conte, quattro nel caso in cui i valori fossero molto diversi fra loro.

È stato calcolato il numero di granuli pollinici per cono per avere un'idea del potenziale riproduttivo degli individui maschili e per evidenziare l'eventuale differenza nel numero tra individui della stessa area o di aree diverse. Tanto maggiore è il numero dei granuli prodotti dai coni di un individuo maschile, a parità di coni presenti sulla pianta, tanto più grande sarà la potenziale capacità riproduttiva di questo (Fig. 4.2)

Fig.4.2 Le immagini mostrano coni maschili di *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* maturi poco prima della dispersione (A) e al momento della liberazione dei granuli pollinici (B) nella stazione di Migliarino (21/11/2001).



Un cono maschile è stato posto all'interno di una provetta nella quale sono stati aggiunti 3 cc di etanolo; poi il cono è stato schiacciato, per permettere la rottura delle sacche polliniche e, quindi, la fuoriuscita del polline. La totale espulsione dei granuli è stata facilitata anche attraverso l'esposizione della provetta agli ultrasuoni per circa 2 minuti.

Un  $\mu$ l della sospensione è stato deposto su di un vetrino e i granuli in essa contenuti sono stati contati tramite osservazione microscopica. Infine, sono stati prelevati dal fondo della provetta i residui del cono per accertarsi, tramite l'osservazione al microscopio, che non vi fossero rimaste all'interno significative quantità di polline o sacche polliniche ancora integre. Conoscendo il numero di granuli per unità di volume e sapendo il volume totale della sospensione, si può risalire al numero di granuli pollinici contenuti nel cono maschile.

Per ogni entità e anno di campionamento, il numero medio dei granuli presenti in un cono subisce notevoli variazioni (Tab. 4.4) al variare della specie, del momento della raccolta e della stazione nella quale è stato effettuato il campionamento.

*J. communis* mostra delle ampie variazioni nella quantità di polline prodotto per cono sia tra stazioni e anni diversi che tra piante all'interno della stessa stazione. Entrambe le sottospecie di *J. oxycedrus* mostrano una produzione di polline maggiore e più costante rispetto a *J. communis*. Non ci sono differenze significative tra le due sottospecie di *Juniperus oxycedrus*.

Tab. 4.4 Numero dei granuli pollinici per cono nei tre taxa di *Juniperus* studiati (media  $\pm$ sd).

Specie	Anno	Stazione di raccolta		
		Greve	Montarrenti	Petriolo
<i>J. communis</i>	<b>2001</b>	504.333 ( $\pm$ 101.105)	1.094.000 ( $\pm$ 521.347)	437.000 ( $\pm$ 20.223)
	<b>2002</b>	281.666 ( $\pm$ 26.501)	482.000 ( $\pm$ 162.000)	414.666 ( $\pm$ 199.214)
		Parco della Maremma	Migliarino	S. Rossore
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>oxycedrus</i>	<b>2001</b>	929.333 ( $\pm$ 152.692)	816.666 ( $\pm$ 362.290)	773.500 ( $\pm$ 165.696)
	<b>2002</b>	1.174.667 ( $\pm$ 83.050)		
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>macrocarpa</i>	<b>2001</b>	826.166 ( $\pm$ 380.676)	1.091.000 ( $\pm$ 231.162)	778.000 ( $\pm$ 153.721)
	<b>2002</b>	1.205.667 ( $\pm$ 364.309)		



#### 4.2.3 Morfologia, vitalità e germinazione del polline

Le dimensioni dei granuli di polline sono piuttosto simili nei taxa di *Juniperus* considerati nel presente studio (Tab. 4.5).

I granuli di polline di *Juniperus* sono sferoidali, privi di opercoli e di dimensioni medio piccole; sulla loro superficie sono presenti gli orbicoli, cioè dei piccoli corpi rotondeggianti del diametro medio di 0,6  $\mu\text{m}$  (Fig. 4.3).

Tab. 4.5 Dimensioni medie dei granuli pollinici dei tre taxa di *Juniperus* studiati

TAXON	DIAMETRO MEDIO DEI GRANULI ( $\mu\text{m}$ )	
	IDRATATI	DISIDRATATI
<i>Juniperus communis</i>	40	24
<i>Juniperus oxycedrus</i> subsp. <i>oxycedrus</i>	39	21
<i>Juniperus oxycedrus</i> subsp. <i>macrocarpa</i>	40	22

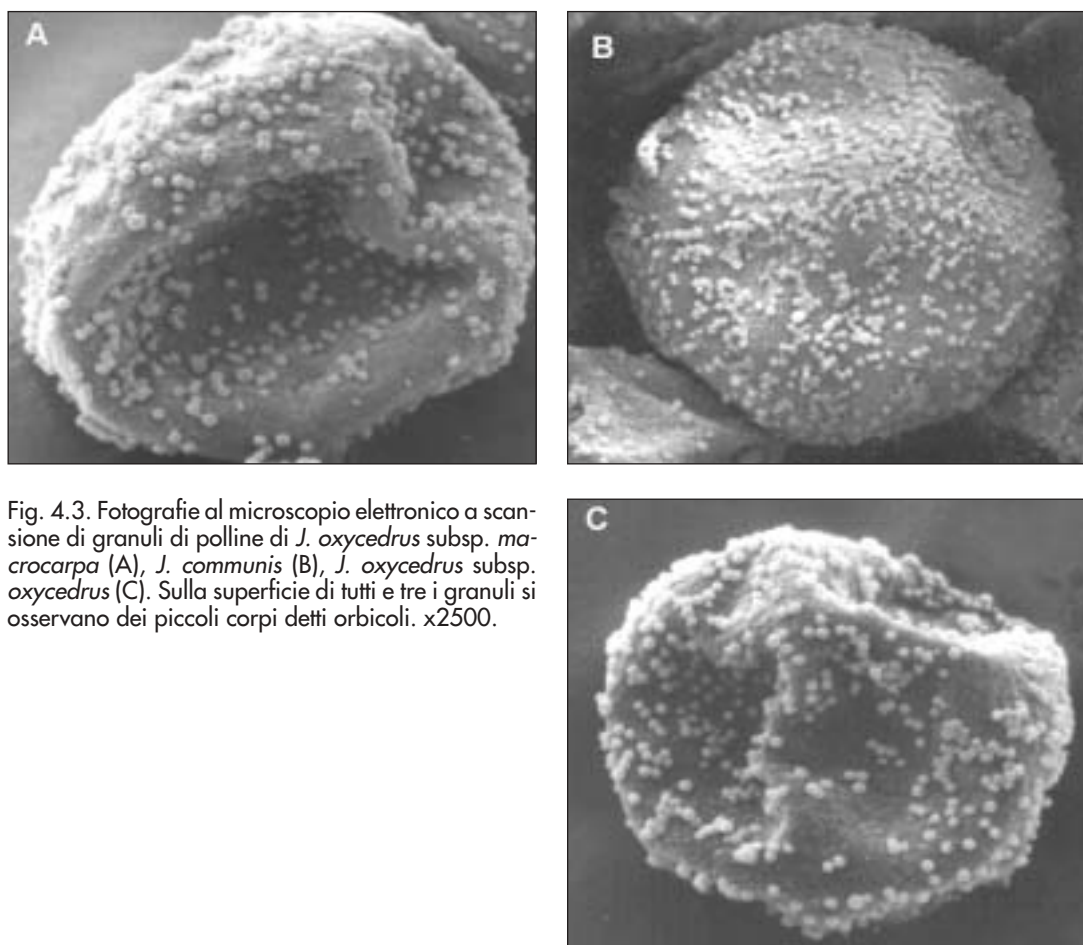


Fig. 4.3. Fotografie al microscopio elettronico a scansione di granuli di polline di *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa* (A), *J. communis* (B), *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* (C). Sulla superficie di tutti e tre i granuli si osservano dei piccoli corpi detti orbicoli.  $\times 2500$ .



---

La vitalità del polline è un parametro fondamentale nello studio dell'efficienza riproduttiva, poiché permette di valutare la potenzialità del polline nella fecondazione dell'ovulo.

I mezzi usati per stimare la vitalità del polline sono test biochimici di vario tipo che utilizzano composti quali diacetato di fluoresceina (FDA), che rivela la presenza di attività esterasica all'interno della cellula, il 2,3,5-trifenil cloruro di tetrazolio (TTC), che rivela l'attività delle reduttasi, e la diamminobenzidina (DAB), che reagisce con le perossidasi. Inoltre, è possibile utilizzare prove di germinazione in vitro, utilizzando vari terreni di coltura, e valutando la percentuale di granuli che emettono il tubetto pollinico.

Per il polline di *Juniperus* non è semplice individuare una procedura efficace per ottenere dei buoni risultati. La parete del granulo pollinico è fatta di due strati: uno esterno detto esina ed uno interno detto intina. La maggiore difficoltà risiede nel fatto che il polline di *Juniperus* (e delle *Cupressaceae* in generale) presenta un'esina assai resistente ed un'intina di struttura fibrillare molto spessa e compatta che impedisce ai reattivi di raggiungere il citoplasma, dove avviene la reazione con i sopracitati enzimi e quindi lo sviluppo di una colorazione visibile al microscopio con luce normale (TTC, DAB) o con luce fluorescente (FDA).

Per superare questo ostacolo, durante la ricerca, sono state fatte varie prove per favorire la penetrazione dei reattivi all'interno del granulo. I migliori risultati si sono avuti facendo reidratare i granuli per una notte in acqua. La reidratazione determina un consistente rigonfiamento dell'intina tanto che il "guscio" esterno di esina si distacca. La struttura fibrillare dell'intina risulta così più lassa e permeabile ai reattivi. I granuli possono così essere trattati con FDA, TTC o DAB e la loro percentuale di vitalità può essere determinata tramite osservazione microscopica. Il test che nelle nostre prove ha dato i risultati migliori è stato quello con FDA. Questo test si basa sul fatto che il diacetato di fluoresceina (FDA) è una molecola non polare e non fluorescente, capace di attraversare il plasmalemma intatto del granulo pollinico. Una volta penetrata, la molecola viene idrolizzata dalle esterasi presenti all'interno della cellula. Tale reazione libera la fluoresceina, che essendo polare, non può fuoriuscire attraverso la membrana plasmatica (ammesso che questa sia integra). La colorazione fluorescente rimane così localizzata solo all'interno dei granuli vitali, cioè con la membrana plasmatica intatta e può essere osservata tramite microscopio ottico con luce ultra violetta. Se il granulo pollinico è morto le sue attività enzimatiche non sono attive e la colorazione fluorescente non si sviluppa (Heslop-Harrison e Heslop-Harrison, 1970; Dafni, 1992).

A causa delle varie difficoltà incontrate nella messa a punto di queste procedure, la vitalità del polline è stata determinata solo per *J. communis* della stazione di Montarenti. Il test con FDA ha dato una buona percentuale di granuli fluorescenti, ovvero vitali, pari al 45%.

---

Un'altra limitazione dei suddetti test di vitalità è rappresentata dal fatto che forniscono solo una stima della capacità germinativa del polline che in genere è correlata con la percentuale di germinazione ma che in alcuni casi si allontana dal valore medio. Per questo motivo in genere i test di vitalità vengono sempre accoppiati ai test di germinazione *in vitro* del polline.

Anche le difficoltà della germinazione *in vitro* del polline delle gimnosperme sono di vario tipo. Innanzitutto in letteratura sono descritti vari terreni di coltura (Duhoux, 1980), ma molti particolari determinanti per la preparazione di un terreno adeguato vengono omessi. Inoltre, in alcuni terreni i granuli non si idratano, o in altri compare una massiccia contaminazione da muffe e microorganismi che compromette la prosecuzione dell'esperienza. Sono stati provati mezzi di coltura sia solidi che liquidi e quello che ha dato il migliore risultato è stato un terreno liquido così composto (mg/100 ml):  $H_3BO_3$  10,  $4H_2O \cdot Ca(NO_3)_2$  43,  $KNO_3$  30 e  $MgSO_4$  20.

A tale mezzo è stato aggiunto saccarosio nella quantità di 12 gr/100 ml. Il terreno, dopo sterilizzazione, viene disperso in piastre sterili del diametro di 40mm, dove si "spolverano" 0,1 g di polline. Quindi le piastre vengono chiuse con Parafilm<sup>R</sup> e mantenute al buio ad una temperatura costante di 25°C. Dopo circa 2 giorni è iniziato l'allungamento del tubetto pollinico in alcuni granuli, e dopo circa 6 giorni il 73% dei granuli erano germinati. Dopo questo momento, la percentuale di granuli germinati è rimasta costante e i granuli già germinati non si sono ulteriormente allungati, probabilmente a causa dei limiti intrinseci di un sistema *in vitro*, che non può assicurare condizioni tali da riprodurre fedelmente le condizioni ottimali *in vivo*.

In queste condizioni e nel corso di due giorni richiesti per la germinazione del polline, non abbiamo osservato contaminazione da spore fungine (Sapia, 2002).

In *J. communis* la quantità di galbule che giungono a maturazione (resa) riflette il rapporto tra i sessi soprattutto quando ci sono più maschi. Lo si osserva molto bene confrontando il rapporto maschi/femmine nelle diverse stazioni (vedi Tab. 4.3) con i dati relativi alla produzione di galbule (vedi Tab. 3.4). Petriolo è la stazione che mostra il valore più alto di tale rapporto ed è quella in cui vi è una migliore fruttificazione (resa percentuale più alta). Anche la vitalità dei semi sembra essere correlata con il valore del rapporto maschi femmine. Nel 2002 la vitalità più alta è stata registrata nei campioni raccolti a Petriolo e Greve che sono le stazioni dove sono presenti più individui maschili. Montarrenti, stazione con il minor numero di individui maschili, ha fatto registrare il più basso valore di vitalità.

La situazione è più complessa per *J. oxycedrus* dove, almeno in alcuni ambienti come le dune sabbiose, molti individui non mostrano espressione sessuale. È da tenere conto che un simile habitat è sottoposto a forti stress ambientali che evidentemente possono influenzare negativamente il differenziamento delle strutture riproduttive.

La quantità di polline prodotta per cono non sembra essere determinante come il rapporto tra i sessi. È interessante notare come le due sottospecie di *J. oxycedrus* produ-

---

cano una quantità simile di polline ma significativamente diversa da quella di *J. communis*.

Lo studio sulla vitalità del polline, sebbene condotto sulla sola popolazione di *J. communis* di Montarrenti, ha una notevole importanza in quanto, oltre a dimostrare che la scarsa qualità dei semi non può essere dovuta ad una bassa qualità del polline, ha permesso di mettere a punto test rapidi per la valutazione della vitalità del polline. È da sottolineare però che il test usato (FDA) sembra sottostimare la reale capacità germinativa del polline di *J. communis*.

### **4.3 Impollinazione**

In *Juniperus* l'impollinazione consiste nell'arrivo dei granuli di polline, liberati dalle sacche polliniche, sul micropilo e nel loro successivo ingresso all'interno della camera pollinica. Nelle gimnosperme, con rarissime eccezioni, la dispersione dei granuli è affidata al vento: tale impollinazione è definita *anemofila*. Il processo di impollinazione è caratterizzato dalla presenza della goccia micropilare, una secrezione prodotta dalla parte apicale della nucella che compare quando il cono femminile è pronto per ricevere il polline (Singh, 1978; Gelbart e von Aderkas, 2002). La goccia infatti serve sia come mezzo per la cattura del polline, che per il trasporto del polline in prossimità della nucella. Una volta avvenuta l'impollinazione infatti la goccia micropilare si retrae trasportando il polline in prossimità della nucella. La goccia micropilare inoltre consente l'idratazione e le prime fasi della germinazione del polline (Chesnoy, 1987).

#### *4.3.1 Modalità di impollinazione in Juniperus*

La dispersione del polline deve svolgersi rapidamente perché il periodo di recettività dei coni femminili, ossia lo stadio in cui il cono permette l'entrata e il passaggio del polline, è molto breve (pochi giorni) ma variabile in relazione alla specie.

Nelle piante anemofile arboree l'impollinazione avviene durante le cosiddette "finestre anemofile", cioè durante giorni caratterizzati da condizioni atmosferiche ideali affinché una buona quantità di granuli pollinici riesca a raggiungere i coni femminili per dare inizio alla germinazione e poi alla fecondazione. Tali condizioni prevedono: l'assenza di pioggia (che determinerebbe la caduta a terra del polline); la presenza di sole (determinante per l'innalzamento della temperatura e quindi per l'apertura delle sacche polliniche); la presenza di vento (vettore del polline).

Il periodo dell'impollinazione delle varie specie di *Juniperus* si protrae normalmente per alcune settimane a causa dell'asincronia nella maturazione dei coni maschili e femminili. Questa asincronia si riscontra a livello di piante diverse, nella stessa pianta e, addirittura, nell'ambito del medesimo cono. Infatti, non tutte le sacche polliniche

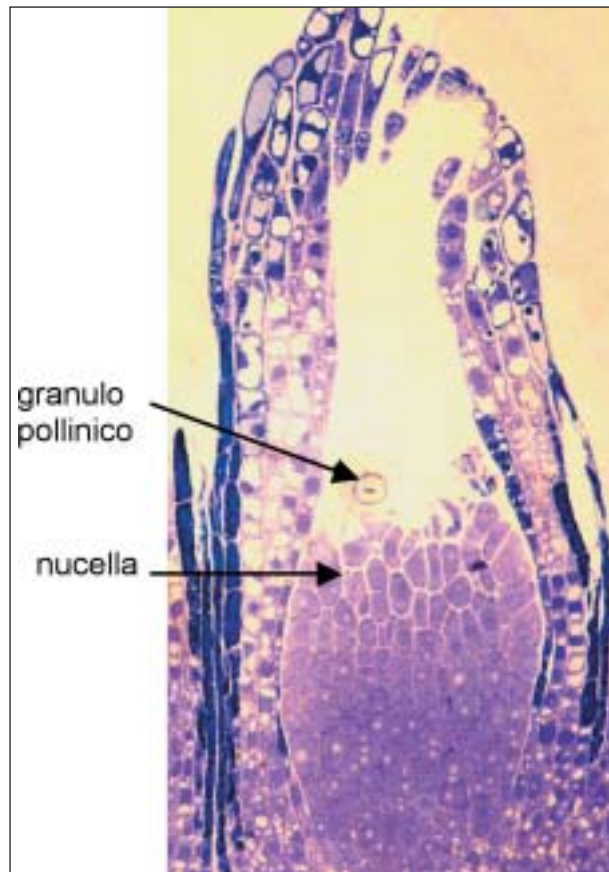
---

si aprono contemporaneamente e non tutte le tre gocce micropilari dello stesso cono vengono emesse nello stesso momento. La possibilità che tutti i coni vengano fecondati è aumentata dalla lunga durata del periodo dell'impollinazione.

#### 4.3.2 La goccia micropilare

All'interno del cono femminile, durante il processo di svuotamento delle cellule superficiali della nucella, la camera pollinica ed il canale micropilare si riempiono di un liquido denso che sporge dal micropilo: la *goccia micropilare* (Fig. 4.4).

Fig. 4.4 Sezione longitudinale di un cono femminile di *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*. Nella foto viene evidenziato un granulo pollinico in prossimità della nucella (sezione colorata con Blu di Toluidina, 360x).



Il volume della goccia micropilare è molto variabile nelle entità considerate e può oscillare da  $2,3 \times 10^{-4} \text{mm}^3$  fino a  $5,2 \times 10^{-1} \text{mm}^3$ . Questa differenza così evidente di volume può in parte dipendere dalla variabilità individuale di secrezione dei micropili; dall'elevata tensione superficiale delle gocce micropilari. Infatti, anche se le gocce restano saldamente ancorate al micropilo che le ha emesse, nel caso in cui vengono a contatto fra loro, si fondono disponendosi talvolta su un solo micropilo oppure rimanendo a coprire entrambi i micropili (Fig. 4.5).



Fig. 4.5 Due coni femminili di *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* che hanno emesso la goccia micopilare; le 3 gocce del cono in alto si sono unite a formare un'unica goccia di diametro maggiore

#### 4.3.2.1 Composizione della goccia micopilare

La goccia micopilare è una soluzione acquosa composta di zuccheri, acidi organici e peptidi presenti in concentrazioni differenti da specie a specie, in relazione alle diverse esigenze del polline per la germinazione (Gelbart e von Aderkas, 2002).

La componente zuccherina della goccia micopilare è stata analizzata nei taxa di *Juniperus* oggetto di studio.

Le gocce sono state prelevate tramite microcapillari (1-5  $\mu$ l) e congelate (-80°C) per conservarle fino al momento dell'analisi della loro composizione in zuccheri.

Al momento dell'analisi, i campioni sono stati diluiti in acqua 1:100 e successivamente il loro contenuto in zuccheri è stato analizzato tramite HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Come fase mobile è stata utilizzata acqua (MilliQ, pH7) e gli zuccheri sono stati separati in una colonna Waters Sugar-Pack I (6,5-300mm). Gli zuccheri sono stati individuati tramite un detector ad indice di rifrazione (Waters 2410). Sono stati iniettati 20  $\mu$ l di campione e soluzione standard. Il flusso della fase mobile è stato regolato a 0,5 ml/min e la colonna è stata mantenuta ad una temperatura di 85-90°C.

Nelle gocce micopilari di tutti e tre i taxa di *Juniperus* il fruttosio è lo zucchero predominante (Tab. 4.6). È interessante notare che la composizione zuccherina della goccia micopilare è simile nelle due differenti sottospecie di *J. oxycedrus* ma risulta diversa in *J. communis* visto il contenuto in fruttosio nettamente inferiore e l'assenza di saccarosio.

È interessante notare che anche nelle altre poche specie in cui è stata analizzata la composizione della goccia micopilare (*Cephalotaxus drupacea*, *Pinus nigra*, *Thuja orientalis* e *Taxus baccata*) il fruttosio rappresenta sempre lo zucchero predominante (Chesnoy, 1993). Questo sembra essere, infatti, lo zucchero più efficace per assicurare il successo delle prime fasi della germinazione e dello sviluppo del gametofito maschile (Nygaard, 1977).

Tab. 4.6 Valori medi degli zuccheri presenti nella goccia micropilare dei 3 taxa di *Juniperus* studiati.

specie	Glucosio mg/ml	Fruttosio mg/ml	Saccarosio mg/ml
<i>J. communis</i>	5.03225	26.68465	–
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>oxycedrus</i>	4.20591	71.21974	0.49843
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>macrocarpa</i>	3.03134	44.88447	0.34324

#### 4.3.3 Prove di impollinazione

Nei precedenti paragrafi è stata sottolineata l'importanza della goccia micropilare nel meccanismo di impollinazione di *Juniperus*. In natura può accadere che sulla goccia micropilare giungano pollini di differenti specie o polveri abiotiche di varia natura. Una parte delle ricerche condotte ha riguardato gli effetti che tali particelle abiotiche possono avere sulla retrazione della goccia micropilare e sulle conseguenze che può avere la deposizione di tali particelle sulla goccia micropilare delle diverse specie di ginepro (Tab. 4.7).

Tab. 4.7 Varie modalità di impollinazione utilizzate per ogni *taxon* di *Juniperus* e i periodi in cui sono state effettuate le prove.

Specie	Data	Particelle utilizzate per l'impollinazione
<i>J. oxycedrus</i>	Ottobre 2001	Poco polline vitale
		Tanto polline vitale
		Polline non vitale <sup>1</sup>
		Polline di <i>J. communis</i>
		Polvere di carbone
<i>J. communis</i>	Febbraio 2002	Poco polline vitale
		Tanto polline vitale
		Polline non vitale <sup>1</sup>
		Polline di <i>J. oxycedrus</i>
		Polvere di talco
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>oxycedrus</i>	Dicembre 2002	Polline vitale
		Polline non vitale <sup>1</sup>
		Polline di <i>Pyrus communis</i>
		Gel di silice 0-15µm
		Gel di silice 40-63µm
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>macrocarpa</i>	Dicembre 2002	Gel di silice 63-200µm
		Polline vitale
		Polline non vitale <sup>1</sup>
		Polline di <i>Pyrus communis</i>
		Gel di silice 0-15µm
		Gel di silice 40-63µm
		Gel di silice 63-200µm
Polline di <i>Parietaria diffusa</i>		

<sup>1</sup>Il polline è stato devitalizzato mantenendolo in stufa a 120°C per un'ora.

---

Le prove di impollinazione effettuate per i tre tipi di taxa studiati, riassunte nella precedente tabella, si sono andate via via perfezionando man mano che procedevano gli esperimenti. Nelle prime prove di impollinazione (Dicembre 2001 e Febbraio 2002) come particolato abiotico è stato usato polvere di talco e carbone in cui le dimensioni delle singole particelle sono estremamente eterogenee variando da 16 a 160µm. Per quantificare il "poco polline" utilizzato per l'impollinazione delle due specie (Tab. 4.7), un ago montato è stato immerso nel polline e i granuli che hanno aderito al metallo sono poi stati fatti cadere sulla goccia micropilare, per scuotimento. Per effettuare l'impollinazione con "tanto polline", è stata deposta per 5 volte consecutive la stessa quantità di polline.

È stato calcolato il volume delle gocce micropilari in momenti diversi dell'esperimento per vedere se questo rimaneva costante nel tempo o se, al contrario, variava al variare delle particelle deposte. La variazione di volume della goccia micropilare è stata interpretata come una retrazione di questa all'interno del canale micropilare. Per misurare il volume delle gocce (necessario per valutare l'eventuale retrazione della goccia micropilare in seguito all'impollinazione) è stato necessario conoscerne il diametro: a questo scopo è stato utilizzato uno stereomicroscopio, dotato di oculare micrometrico. Le prime misurazioni delle gocce sono state effettuate poco prima dell'impollinazione e poi sono state ripetute, durante il primo giorno, a 30 minuti e a 2 ore dall'impollinazione. Le successive misurazioni sono state ripetute, 3 volte durante l'arco della giornata (la mattina, il pomeriggio e la sera) e per 1 settimana (Soccio, 2002). In entrambe le specie, sono stati misurati anche i diametri di gocce micropilari non impollinate: questi valori hanno permesso, al termine dell'esperimento, di effettuare un confronto con l'andamento del volume nelle gocce impollinate. Ogni dato ottenuto con l'oculare micrometrico è stato impiegato per calcolare il volume di ciascuna goccia.

I risultati di queste prime prove sono riportati in tabella 4.8, 4.9 e 4.11.



Tab. 4.8 Volume ( $\text{mm}^3 \times 10^{-3}$ ) delle gocce micropilari di *J. communis* e *J. oxycedrus* in relazione al tipo di impollinazione ed al tempo trascorso dopo la medesima

Taxon e periodo di impollinazione	Tipo di impollinazione	Volume della goccia micropilare calcolato in tempi successivi all'impollinazione			
		0 min.	30 min.	2 h	19 h
<i>J. oxycedrus</i> Ottobre 2001	Poco polline vitale	32.2	4.9	4.9	0.0
	Tanto polline vitale	35.2	4.2	1.9	0.0
	Polline non vitale	29.8	6.4	6.4	1.9
	Polline di <i>J. communis</i>	29.4	4.9	4.9	1.6
	Polvere di carbone	43.3	7.5	7.2	3.9
<i>J. communis</i> Febbraio 2002	Poco polline vitale	13.9	1.1	0.7	0.0
	Tanto polline vitale	61.5	9.4	6.4	2.1
	Polline non vitale	60.7	0.2	0.1	0.0
	Polline di <i>J. oxycedrus</i>	20.5	3.0	1.9	0.0
	Polvere di talco	61.5	1.9	1.9	15.1

I risultati ottenuti possono essere sommarizzati nella seguente tabella:

Tab. 4.9 Retrazione della goccia micropilare di *J. oxycedrus* e *J. communis* in seguito alle varie impollinazioni effettuate rispettivamente nell'ottobre 2001 e nel febbraio 2002

<i>J. oxycedrus</i>	Non impollinata	Poco polline vitale	Tanto polline vitale	Polline non vitale	Polline di <i>Juniperus communis</i>	carbone
Assenza di retrazione	x					
Retrazione parziale						x
Retrazione completa		x	x	x	x	
<i>J. communis</i>	Non impollinata	Poco polline vitale	Tanto polline vitale	Polline non vitale	Polline di <i>Juniperus oxycedrus</i>	Talco
Assenza di retrazione	x					
Retrazione parziale						x
Retrazione completa		x	x	x	x	

I risultati di queste prove, da considerarsi del tutto preliminari, indicano che:

- la goccia non impollinata non mostra alcun tipo di retrazione e resta esposta per 7-10 giorni con lievi oscillazioni di volume;
- la retrazione della goccia impollinata si osserva già dopo 30 minuti dall'impollinazione;



- l'utilizzo di poco o molto polline per l'impollinazione ha dato risultati molto simili (la retrazione della goccia micropilare è indipendente dalla quantità di polline che vi viene depositata);
- anche l'impollinazione interspecifica tra i due taxa di ginepro determina la retrazione completa della goccia micropilare sia con polline vivo che morto.

In seguito ai risultati ottenuti nelle prime prove è stato verificato se le diverse dimensioni delle particelle usate nell'impollinazione potevano avere effetti differenti sulla retrazione della goccia. Come particelle abiotiche sono state usate polveri di gel di silice di definite dimensioni (vedi tabella 4.10) che normalmente vengono usate per riempire le colonne per cromatografia. La modalità di applicazione sia del polline che delle polveri è stata leggermente differente dalle prove precedenti, allo scopo di impollinare tutte le gocce con una quantità più costante e definita di polline o gel di silice. L'impollinazione è stata effettuata lasciando cadere sulle gocce micropilari il polline o il gel di silice con l'aiuto di un filo di rame. Per verificare l'effettivo deposito tutte le impollinazioni sono state compiute sotto uno stereomicroscopio. Il filo di rame è stato elettrizzato per strofinamento e quindi ha permesso l'attrazione elettrostatica del polline e delle particelle di gel di silice. In seguito, su un foglio di parafilm è stata posta una goccia d'acqua delle stesse dimensioni della goccia micropilare; il contatto tra il filo di rame caricato elettricamente e la goccia ha permesso il rilascio di un certo numero di granuli di polline e di particelle. Ripetendo questa procedura per 10 volte è stato possibile avere una stima di quanti granuli o particelle vengono deposte sulle gocce, quantità che in genere varia tra 80 e 120 granuli, un range comunque abbastanza ristretto. Il conteggio è stato eseguito sotto al microscopio ottico, dopo aver coperto ogni goccia con un vetrino copri oggetto.

Tab. 4.10 Dimensioni delle particelle con cui sono state effettuate le prove di impollinazione del Dicembre 2002. Le dimensioni dei granuli pollinici sono state calcolate quando questi erano reidratati

Tipo di particella	Diametro ( $\mu\text{m}$ )
Polline di <i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>oxycedrus</i>	39
Polline di <i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>macrocarpa</i>	40
Polline di <i>Pyrus communis</i>	62
Polline di <i>Parietaria diffusa</i>	25
Gel di silice 1	10-15
Gel di silice 2	40-63
Gel di silice 3	63-200

Tab. 4.11 Volume ( $\text{mm}^3 \times 10^{-3}$ ) delle gocce micropilari di *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* e *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa* in relazione al tipo di impollinazione ed al tempo trascorso dopo la medesima

Taxon	Tipo di impollinazione	Volume della goccia micropilare calcolato in tempi successivi all'impollinazione			
		0 min.	30 min.	2 h	19 h
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>oxycedrus</i>  Dicembre 2002	Non impollinata	13.9± 10.8	13.9± 10.8	13.9± 10.8	28.2± 23.9
	Polline vitale	18.7± 8.1	3.7± 2.3	3.2± 2.9	0.0± 0.0
	Polline non vitale	16.7± 32.0	0.8± 1.8	0.2± 0.5	0.0± 0.0
	Polline di <i>Pyrus communis</i>	14.3± 22.8	12.7± 23.0	12.1± 23.2	10.0± 15.2
	Gel di silice 1	110.6± 169.7	80.7± 120.8	77.5± 122.5	73.2± 124.4
	Gel di silice 2	65.9± 72.5	38.3± 38.7	40.1± 37.8	31.6± 28.8
	Gel di silice 3	10.1± 6.0	9.5± 6.5	9.6± 6.4	20.7± 14.7
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>macrocarpa</i>  Dicembre 2002	Non impollinata	53.6± 77.8	54.1± 77.5	54.1± 77.5	72.8± 68.1
	Polline vitale	23.7± 24.8	7.1± 8.6	1.3± 1.9	0.5± 0.9
	Polline non vitale	22.0± 21.1	2.7± 2.2	2.4± 2.4	2.4± 2.5
	Polline di <i>Pyrus communis</i>	40.2± 46.4	30.5± 33.7	21.1± 34.5	13.9± 36.4
	Polline di <i>Parietaria diffusa</i>	12.0± 10.4	12.0± 10.4	11.5± 10.8	11.5± 10.8
	Gel di silice 1	83.1± 90.2	29.5± 46.8	48.2± 46.8	85.7± 84.3
	Gel di silice 2	40.4± 47.5	28.3± 39.3	26.7± 39.5	33.3± 77.9
Gel di silice 3	22.4± 18.1	13.9± 15.5	11.2± 16.2	20.9± 28.6	

I risultati riportati in tab. 4.11 sono stati sottoposti ad analisi statistica. Poiché il processo di retrazione è molto rapido ed avviene principalmente nell'intervallo compreso tra 0 e 30 minuti, le variazioni del volume della goccia micropilare sono state analizzate statisticamente prendendo in considerazione questo intervallo di tempo. Per ciascun tipo di impollinazione, in ciascuna delle due sottospecie, è stato usato il test non parametrico di Wilcoxon per dati appaiati al fine di verificare la significatività delle differenze osservate. Le analisi statistiche sono state elaborate mediante il programma Statistica per Windows (versione 4.5). I risultati dell'analisi statistica sono riportati in tab 4.12 e tab 4.13.

Tab. 4.12 Risultati del test di Wilcoxon eseguito sulle variazioni di volume delle gocce micropilari di *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*. z= valore del parametro statistico del test; p= coefficiente di probabilità.

<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>oxycedrus</i>	n° di gocce osservate	z	p
Senza impollinazione	8	N. S.	N. S.
Polline vitale	10	2,803	<0,05
Polline non vitale	13	3,059	<0,05
Polline di pero	11	N. S.	N. S.
Gel di silice 10-15 µm	12	2,201	<0,05
Gel di silice di 40-63 µm	8	2,201	<0,05
Gel di silice di 63-200 µm	15	N. S.	N. S.

Tab. 4.13 Risultati del test di Wilcoxon effettuato sulle variazioni di volume delle gocce micropilari di *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa*. z= valore del parametro statistico del test; p= coefficiente di probabilità.

<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>macrocarpa</i>	n° di gocce osservate	z	p
Senza impollinazione	9	N. S.	N. S.
Polline vitale	11	2.022	<0.05
Polline non vitale	13	3.059	<0.05
Polline di pero	11	N. S.	N. S.
Polline di parietaria	10	N. S.	N. S.
Gel di silice 10-15 µm	7	N. S.	N. S.
Gel di silice di 40-63 µm	9	N. S.	N. S.
Gel di silice di 63-200 µm	9	2.022	<0.05

I risultati derivanti dalle osservazioni e dai test statistici indicano che la retrazione (completa o parziale) della goccia micropilare si ha quando sulla goccia viene depositato polline di *Juniperus*, sia esso vitale che non, o particelle di gel di silice di particolari dimensioni: 10-15 µm e 40-63 µm per *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* e 63-200 µm per *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa* (tabelle 4.14 e 4.15). In entrambe le sottospecie il riassorbimento non avviene se sulla goccia cade polline di specie non affini quale polline di parietaria e pero.

Tab. 4.14 Modalità di retrazione della goccia micropilare di *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* dopo le diverse prove di impollinazione.

<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>oxycedrus</i>	Polline vitale	Polline non vitale	Polline di pero	Gel di silice 10-15 µm	Gel di silice 40-63 µm	Gel di silice 63-200 µm
Assenza di retrazione			x			x
Retrazione parziale				x	x	
Retrazione completa	x	x				

Tab. 4.15 Modalità di retrazione della goccia micropilare di *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa* dopo le diverse prove di impollinazione.

<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>macrocarpa</i>	Polline vitale	Polline non vitale	Polline di pero	Polline di parietaria	Gel di silice 10-15 µm	Gel di silice 40-63 µm	Gel di silice 63-200 µm
Assenza di retrazione			x	x	x	x	
Retrazione parziale							x
Retrazione completa	x	x					

I risultati e le considerazioni emerse in questa parte della ricerca possono far ipotizzare che la retrazione della goccia micropilare avvenga attraverso due meccanismi che possono agire contemporaneamente o in successione.

La retrazione si verifica quando sulla goccia cadono particelle di determinate dimensioni: esiste, quindi, un meccanismo di selezione fisica. La retrazione, tuttavia, è completa solo se sulla goccia si deposita polline; si può, quindi, ipotizzare l'esistenza di un meccanismo di riconoscimento biochimico-molecolare di cui solo una particella biologica (come il polline) può essere responsabile. È stato osservato, inoltre, che il polline non vitale ha lo stesso effetto di quello vitale: il meccanismo biochimico-molecolare non prevede, quindi, processi in cui risulti implicata una qualche attività biologica del polline.

Il meccanismo di impollinazione micropilare delle *Gymnospermae*, ed in particolare di *J. oxycedrus*, risulta essere molto meno selettivo rispetto a quello stigmatico delle *Angiospermae*. Tuttavia una certa specificità sembra esistere nel caso in cui sulla goccia cada del polline, infatti la retrazione della stessa si ha solamente con polline della stessa specie o di specie affini ma non con polline di specie filogeneticamente distanti (pero e parietaria).

Il meccanismo di impollinazione di *Juniperus*, proprio perché caratterizzato da una certa specificità, può essere negativamente influenzato da particolato di dimensioni variabili nel range 10-200 µm. Tali particelle, infatti, determinano la retrazione parziale della goccia, ovvero una diminuzione della superficie esposta per la cattura del polline, che, tuttavia, può venire riemessa il giorno successivo. È però di rilevante importanza il fatto che il polline non vitale determini una completa retrazione della goccia micropilare che, in questo caso, non viene riemessa il giorno successivo: naturalmente tale fenomeno non è seguito da alcun evento fecondativo. Si comprende, quindi, come entrambi i fattori, deposizione di polline non vitale o di particelle inorganiche, possano giocare a sfavore dell'efficienza riproduttiva di *Juniperus*.

---

## 5. L'IMPOLLINAZIONE ASSISTITA ED I SUOI EFFETTI SULLA PRODUZIONE DI GALBULE E SEMI

L'impollinazione artificiale assistita consiste nell'isolare i coni femminili poco prima del periodo di ricettività, ed impollinarli con una miscela di granuli pollinici provenienti da vari individui o popolazioni. Il significato di questa procedura risiede nel creare una situazione in cui la competitività fra i granuli è molto elevata, per cui saranno i granuli più vitali a raggiungere per primi il gamete femminile e quindi fecondarlo. In questo modo aumenta la probabilità di sviluppo di plantule più competitive e resistenti, ovvero l'impollinazione assistita rappresenta una possibile via per aumentare l'efficienza riproduttiva della specie.

Le prove di impollinazione assistita sono state effettuate su *J. communis*, per realizzarle è stato raccolto polline il 28 Marzo 2001 da tutte le stazioni selezionate per *J. communis*. Il polline è stato filtrato, con appositi setacci, per eliminare le impurità, pesato, racchiuso in un contenitore e mantenuto a 4°C.

Sono stati preparati tre diversi contenitori, in ognuno dei quali sono stati miscelati, in pari quantità, pollini derivanti da due stazioni. Questa miscela è stata utilizzata per l'impollinazione dei coni femminili di una terza stazione.

Sono stati preparati 60 cappucci di tessuto, 20 per ogni stazione, di dimensioni tali da contenere un rametto in cui era stata riscontrata la presenza di un buon numero di coni femminili, non ancora completamente maturi. La trama del tessuto utilizzato era tale da impedire il passaggio dei granuli pollinici, ma permetteva alla luce di filtrare. È stato quindi possibile proteggere i coni femminili dall'impollinazione naturale (polline disperso nell'aria) (Fig. 5.1).

La prima impollinazione assistita è stata effettuata il 3 aprile 2001, la seconda il 9 aprile 2001. Quest'ultima è stata ripetuta poiché il 3 aprile 2001 erano presenti sia galbule provviste di goccia micropilare, sia galbule ancora non completamente mature che sono state quindi impollinate la volta successiva.

---

Fig. 5.1 Individui femminili di *J. oxycedrus* nella stazione di Migliarino, con alcuni rami protetti dai sacchetti impiegati per l'impollinazione assistita



Il 23 aprile 2001, i coni maschili erano già caduti, sono stati rimossi i cappucci e sono state contate, per ogni stazione, le piccole galbule di 9 rami (sui 20 a disposizione) di piante in cui era stata effettuata l'impollinazione assistita e di altrettanti rami con coni femminili impollinati naturalmente. Tale conteggio è stato ripetuto durante varie fasi di maturazione delle galbule, in modo tale da comparare la fruttificazione da impollinazione assistita e da libera impollinazione. I rami a impollinazione assistita in cui non sono state contate le piccole galbule, hanno prodotto il materiale utilizzato per le analisi (fine 2002) su cui sono stati effettuati i successivi test di comparazione. È stato quindi possibile effettuare un confronto della produzione di galbule, produzione di semi, peso e vitalità dei semi fra campioni provenienti da impollinazione assistita e impollinazione naturale.

### 5.1 Produttività delle galbule

Parallelamente alle osservazioni realizzate sulle piante impollinate naturalmente e descritte nel paragrafo 7, è stata seguita la permanenza delle galbule sulla pianta ma-

dre, per i rametti impollinati artificialmente. Per avere osservazioni confrontabili, sono stati impollinati artificialmente 9 rami per stazione e sono stati marcati altrettanti impollinati naturalmente,. La conta dei coni presenti sul ramo è iniziata circa un mese dopo l'impollinazione, per evitare di danneggiarli. Il conteggio è stato ripetuto ogni 8-10 mesi. In tutte le stazioni, ed indipendentemente dal tipo di impollinazione, si osserva una progressiva diminuzione delle galbule presenti, nel tempo (Tab. 5.1). Questa diminuzione ha un andamento confrontabile nelle tre stazioni e, soprattutto, non varia a seconda dell'impollinazione.

Tab. 5.1 Numero di galbule di *J. communis* contate sui rametti nelle tre stazioni di campionamento in seguito a impollinazione naturale e artificiale

	Località di campionamento	Tipo di impollinazione	Numero medio di galbule sul ramo		
			Raccolta del 23/04/01	Raccolta del 10/01/02	Raccolta del 08/10/02
<i>J. communis</i>	Greve	Assistita	92.0	63.4	45.3
		Naturale	65.3	43.8	31.1
	Petriolo	Assistita	44.7	37.7	32.6
		Naturale	71.2	65.8	63.4
	Montarrenti	Assistita	62.0	51.5	39.6
		Naturale	53.0	35.7	21.5

Se si osservano i dati in termini di resa, ovvero il rapporto fra numero di galbule presenti sulla pianta a maturazione ed il numero dei coni un mese dopo l'impollinazione, si nota che non c'è una differenza significativa ( $p < 0,05$ , ANOVA a due vie con comparazione delle medie tramite test di Tuckey) tra la resa delle galbule impollinate naturalmente ed artificialmente, purtuttavia in due stazioni (Petriolo e Montarrenti) la resa delle piante impollinate naturalmente è mediamente inferiore (Tab. 5.2). Inoltre, indipendentemente dal tipo di impollinazione, la resa è maggiore nella stazione di Petriolo.

Tabella 5.2 Resa in percentuale delle galbule di *J. communis* impollinate naturalmente ed artificialmente (media  $\pm$  ds). In ciascuna stazione non ci sono differenze significative tra impollinazione naturale ed impollinazione assistita. La resa è maggiore nella stazione di Petriolo indipendentemente dal tipo di impollinazione. Lettere diverse indicano differenze statisticamente significative. Lettere uguali indicano differenze statisticamente non significative

	Stazione di campionamento	Tipo di impollinazione	Resa percentuale
<i>J. communis</i>	Greve <sup>a</sup>	Assistita	48.8 <sup>a</sup>
		Naturale	52.7 <sup>a</sup>
	Petriolo <sup>b</sup>	Assistita	82.5 <sup>a</sup>
		Naturale	66.9 <sup>a</sup>
	Montarrenti <sup>a</sup>	Assistita	58.3 <sup>a</sup>
		Naturale	46.6 <sup>a</sup>

## 5.2 Numero di semi

È stata valutata la produttività dei semi da parte di galbule derivanti da impollinazione naturale e artificiale per individuare le eventuali differenze nel numero di semi prodotti al variare del tipo di impollinazione.

Il numero di semi estratto da 3 gruppi di 50 galbule è nella maggior parte dei casi confrontabile fra galbule derivate da impollinazione naturale ed artificiale (Tab. 5.3); infatti, non si riscontrano differenze significative nella produttività dei semi, fra galbule impollinate nei due modi, provenienti da Petriolo e Montarrenti. Al contrario, nei campioni provenienti da Greve, si osserva un numero significativamente maggiore di semi derivati da coni impollinati artificialmente, rispetto a quelli impollinati naturalmente (secondo il test U di Mann-Whitney).

Tab. 5.3 Numero di semi di *J. communis* (media $\pm$  ds) estratto da tre gruppi di 50 galbule, campionati alla fine del 2002 nelle varie stazioni e provenienti da impollinazione assistita o naturale. Lettere diverse indicano differenze significative all'interno di una stessa stazione

	Località di campionamento	Tipo di impollinazione	Numero di semi per gruppo di 50 galbule
<i>J. communis</i>	Petriolo	Assistita	143.6 $\pm$ 4.0 <sup>a</sup>
		Naturale	146.0 $\pm$ 3.6 <sup>a</sup>
	Montarrenti	Assistita	142.6 $\pm$ 4.0 <sup>a</sup>
		Naturale	143.6 $\pm$ 3.0 <sup>a</sup>
	Greve	Assistita	150.0 $\pm$ 1.7 <sup>a</sup>
		Naturale	137.3 $\pm$ 3.7 <sup>b</sup>

## 5.3 Peso dei semi

Il peso dei semi provenienti da galbule impollinate artificialmente è molto simile a quello dei semi ottenuti per impollinazione naturale (non si osservano differenze significative) ( $p > 0,05$  ANOVA a due vie con comparazione delle medie tramite test di Tuckey) (Tab. 5.4).



Tab. 5.4 Confronto fra il peso medio (calcolato in grammi) dei semi di *J. communis* raccolti nelle varie stazioni di campionamento e provenienti da impollinazione assistita o naturale. Lettere uguali indicano differenze statisticamente non significative

	Località di campionamento	Tipo di impollinazione	Peso dei semi
<i>J. communis</i>	Montarrenti	Assistita	0.82 <sup>a</sup>
		Naturale	-
	Petriolo	Assistita	0.83 <sup>a</sup>
		Naturale	0.79 <sup>a</sup>
	Greve	Assistita	0.98 <sup>a</sup>
		Naturale	1.02 <sup>a</sup>

#### 5.4 Vitalità dei semi

La vitalità dei semi ottenuti da impollinazione artificiale è confrontabile con quella dei semi derivati da impollinazione naturale (Tab. 5.5). Indipendentemente dal tipo di impollinazione, non vi sono differenze statisticamente significative per quanto riguarda la vitalità dei semi nelle differenti stazioni ( $p > 0,05$  ANOVA a due vie con comparazione delle medie tramite test di Tuckey). Si osserva una percentuale poco più alta di semi vitali tra quelli raccolti a Petriolo e a Greve ed ottenuti per impollinazione naturale, ma non è un dato rilevante.

Tab. 5.5 Confronto fra la percentuale media di semi vitali di *J. communis* raccolti nelle varie stazioni di campionamento, provenienti da impollinazione assistita o naturale. Lettere uguali indicano differenze statisticamente non significative

	Località di campionamento	Tipo di impollinazione	Percentuale di semi vitali
<i>J. communis</i>	Montarrenti	Naturale	23.33 <sup>a</sup>
		Assistita	23.33 <sup>a</sup>
	Petriolo	Naturale	32.22 <sup>a</sup>
		Assistita	24.44 <sup>a</sup>
	Greve	Naturale	33.33 <sup>a</sup>
		Assistita	23.33 <sup>a</sup>

In *J. communis* Le prove di impollinazione assistita non hanno dato risultati rilevanti, in termini di diversa quantità o qualità di semi prodotti rispetto all'impollinazione naturale. L'unica differenza significativa riguarda la stazione di Greve in cui la produzione di semi è risultata significativamente maggiore per i coni femminili impollinati artificialmente. In generale, quindi, l'efficienza e la competitività del polline che naturalmente giunge sulla pianta non sembra quindi essere un fattore determinante per la quantità e qualità dei semi prodotti. Anche la produzione di galbule non è significativamente differente tra impollinazione naturale ed assistita.



---

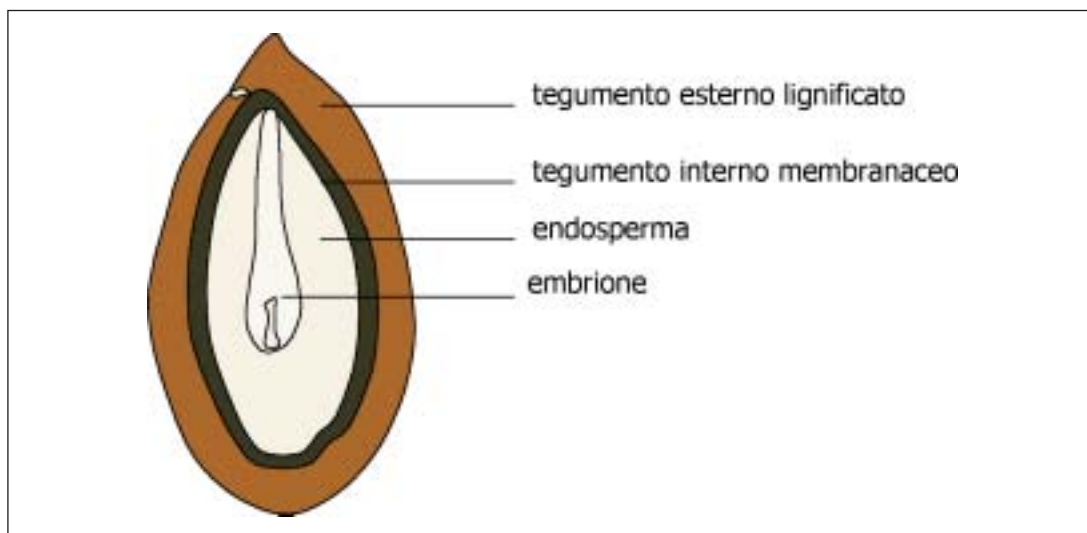
## 6. RIMOZIONE DELLA DORMIENZA

Nelle normali procedure vivaistiche, i semi prima di essere posti nelle condizioni adatte per la germinazione, vengono sottoposti a varie manipolazioni e procedure, volte a rimuovere la dormienza e massimizzare la germinazione, rendendola il più possibile ottimale in quanto a uniformità e rapidità (Piotto e Ciccarese, 2001). L'insieme di queste metodiche va sotto il nome di pretrattamenti, cioè trattamenti preliminari alla semina. Questa parte della ricerca si occupa di testare varie tipologie di pretrattamenti sui taxa di *Juniperus* studiati allo scopo di rimuovere la dormienza e favorire la loro germinazione.

### 6.1 La struttura del seme

I semi di *Juniperus oxycedrus* e *Juniperus communis* sono dotati di un doppio rivestimento, costituito da un involucro esterno, lignificato, ed un involucro interno di consistenza membranacea (Fig.6.1). L'embrione, provvisto di 2-6 cotiledoni, è contenuto all'interno di uno spesso endosperma biancastro (Pack, 1921; Young e Young, 1992; Gellini e Grossoni, 1996).

Fig. 6.1 Schema della struttura del seme di ginepro (sezione longitudinale)



Nell'embrione e nell'endosperma sono accumulati lipidi e proteine di riserva, ma non vi è traccia di amido (Pack, 1921). I semi di ginepro sono caratterizzati da una profonda dormienza (Pack, 1921; Young e Young, 1992; Johnson, 1995; Bonner, 1996; Chambers *et al.*, 1999; Zocca, 1999; Piotto *et al.*, 2001), che ritarda la germinazio-

---

ne di alcuni mesi o addirittura anni e necessita del verificarsi di una complessa serie di fattori per la sua interruzione.

I meccanismi che mantengono il seme nello stato di dormienza sono molteplici, e rispondono a fattori endogeni ed esogeni. Il principale fattore esogeno è rappresentato dalla presenza del tegumento lignificato, semipermeabile o impermeabile, che impedisce l'imbibizione di embrione ed endosperma. La dormienza endogena è invece dovuta sia all'imaturità dell'embrione, il quale necessita di un periodo di sviluppo successivo alla dispersione (post-maturazione) per poter essere pronto alla germinazione, sia a meccanismi biochimici ed ormonali. Questi ultimi agiscono tramite la presenza di inibitori specifici, insieme all'interazione fra gibberelline, citochinine ed inibitori, i cui rispettivi livelli sono in un equilibrio tale da assicurare la sua permanenza nello stato di quiescenza (Johnson, 1995; Bonner, 1996; Chambers *et al.*, 1999).

Un periodo di post-maturazione è quindi necessario anche per permettere i processi chimici che portano alla sintesi di questi composti a livelli tali da ribaltare l'equilibrio preesistente e risvegliare l'embrione dalla sua dormienza (Pack, 1921; Johnson, 1995; Bonner, 1996; Chambers *et al.*, 1999; Pacini *et al.*, 2001). Ovviamente il periodo di post-maturazione è di durata variabile nelle singole specie e spesso anche a livello dei singoli semi, ed è condizionato da fattori ambientali quali la temperatura.

La dormienza dell'embrione costituisce una strategia riproduttiva di fondamentale importanza, che aumenta le probabilità di successo riproduttivo della specie, poiché permette l'attesa del verificarsi delle condizioni favorevoli alla germinazione (Pacini, 1995). Inoltre, permette il costituirsi di un serbatoio di semi nel suolo, che mantengono la loro dormienza per periodi anche molto lunghi di tempo, e rappresentano una fonte di nuovi individui che possono eventualmente ricolonizzare l'area in seguito a perturbazione.

## **6.2 L'utilizzo delle tecniche di propagazione in vitro**

In un quadro del genere, le tecniche di propagazione in vitro rivestono un ruolo fondamentale, essendo volte allo stimolare e rendere più efficace la riproduzione sessuale dei ginepri.

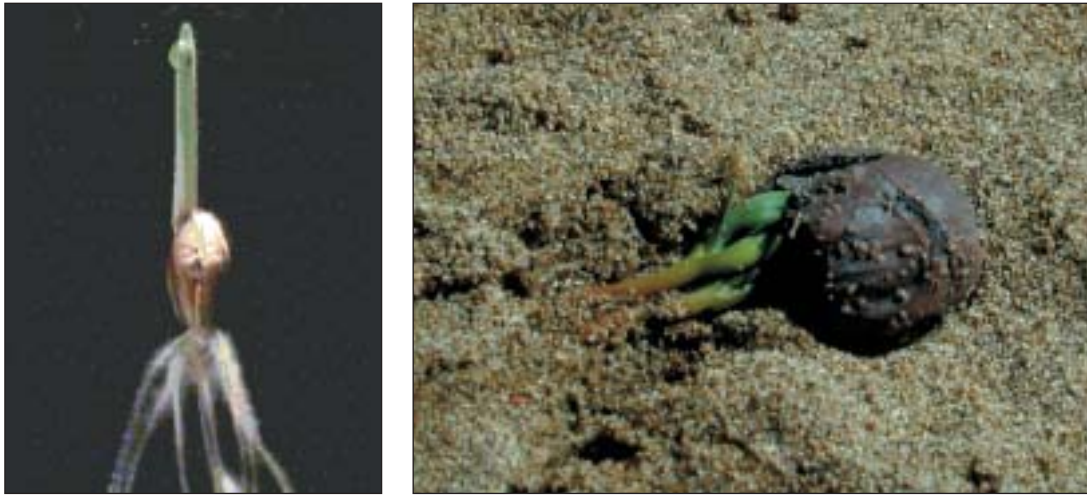
Infatti, se dal lato applicativo l'ottenimento di una maggiore efficienza riproduttiva potrebbe ottimizzare l'utilizzo dei ginepri per i progetti di conservazione, ricolonizzazione e recupero, da un lato ecologico, la riproduzione sessuata assicura un riarrangiamento genico, che è fonte di biodiversità. La perdita di diversità genetica all'interno di una popolazione è infatti estremamente deleteria poiché ne aumenta la vulnerabilità e il rischio di perdite consistenti o addirittura di estinzione.

Il significato delle prove di germinazione risiede quindi nella possibilità di sviluppare le potenzialità rigenerative dei ginepri e contemporaneamente valutarne l'efficienza rigenerativa per quanto riguarda la germinazione dei semi (Fig. 6.2). Contemporaneamente

---

neamente, l'uso dei vari pretrattamenti permette di studiare la fisiologia del seme, in particolare comprensione dei meccanismi che regolano la dormienza e dei fattori che ne influenzano la rimozione.

Fig. 6.2 Germinazione del seme di *Juniperus* in condizioni sperimentali e naturali.



I pretrattamenti utilizzati per i semi di gimnosperme ed angiosperme sono moltissimi, in particolare per i ginepri si hanno le seguenti possibilità:

La **stratificazione** prevede la permanenza dei semi per un periodo determinato, in condizioni controllate di temperatura. Esistono varie possibilità nonché combinazioni di umidità, fotoperiodo e temperatura, anche se nel caso del ginepro le più efficaci sono la stratificazione umida a freddo e quella umida alternata caldo/freddo. Nel primo caso i semi vengono mantenuti a 3-5°C per 30-180 giorni (Pack, 1921; Bonner, 1996; Chambers *et al.*, 1999; Piotto e Ciccicarese, 2001), in modo da ricreare lo stimolo alla rimozione delle dormienze endogene e dell'impermeabilità dei tegumenti, operata in natura dalle rigide temperature invernali (vernalizzazione) (Piotto e Ciccicarese, 2001). La stratificazione caldo/fredda consiste invece nel sottoporre i semi inizialmente a temperature di 30°C in condizioni di luce (giorno) e 20°C in condizione di buio (notte) per un primo periodo di 45-90 giorni, seguito da un periodo di ulteriori 30-120 giorni a 5°C (Bonner, 1996; Chambers *et al.*, 1999; Piotto e Ciccicarese, 2001).

La **scarificazione** consiste nell'abrasione chimica, meccanica o biologica dei tegumenti, in modo da ridurre l'impermeabilità e facilitare l'assorbimento dell'acqua e lo scambio di gas (Piotto e Ciccicarese, 2001).

---

- *Scarificazione meccanica*

Questo tipo di scarificazione è poco utilizzata per i ginepri, ma consiste nell'utilizzo di macchinari nei quali i semi vengono scagliati ad alta velocità contro le pareti di un cilindro ricoperto di carta vetrata, in modo da intaccare i tegumenti senza danneggiare l'embrione (Piotto e Ciccarese, 2001).

- *Scarificazione chimica*

La scarificazione chimica avviene tramite l'immersione dei semi in soluzioni di acidi o alcali per un determinato periodo. Fra le varie possibilità, quelle più comunemente usate sono:

- immersione in acido solforico concentrato per 35-120 minuti (Pack, 1921; Bonner, 1996; Chambers *et al.*, 1999; Young e Young, 1992), eventualmente seguito dalla rimozione successiva dello strato superficiale carbonizzato;
- immersione in acido citrico 10.000 ppm per 96 ore, seguito da stratificazione alternata caldo/freddo (Young e Young, 1992; Bonner, 1996).

*Scarificazione biologica*

- La scarificazione biologica avviene in natura, ad opera dei vertebrati frugivori, quale volpe, tasso e cinghiale, che ingeriscono grosse quantità di galbule, svolgendo il ruolo ecologico di disperditori. Come già citato sopra, il passaggio attraverso il canale alimentare effettua una scarificazione chimica, grazie all'azione dei succhi gastrici ed intestinali, e meccanica sui semi, con un'azione stimolante sulla germinazione.

Il **trattamento chimico con composti inorganici** prevede il trattamento con composti quale il perossido d'idrogeno, che viene utilizzato in una soluzione concentrata al 30%, nella quale i semi restano immersi per 30 minuti (Bonner, 1996; Chambers *et al.*, 1999).

I pretrattamenti utilizzati nel presente studio per i semi di *Juniperus* sono riportati nella tabella 6.1.

I risultati ottenuti con i vari tipi di pretrattamento citati sono molto variabili, e sono state tentate varie combinazioni di queste procedure (Young e Young, 1992). A questo proposito, tuttavia è necessario ricordare che sia per *J. oxycedrus* che per *J. communis* non sono stati stabiliti protocolli ufficiali per le prove di germinazione, in base alle regole ISTA del 1985 (ISTA, 1985).

Tab. 6.1 Pretrattamenti utilizzati per favorire la germinazione dei semi di *Juniperus* nel presente studio

Scarificazione	Acido solforico	Immersione in acido solforico al 95% per 45 minuti a temperatura ambiente con successivo lavaggio in acqua
	Volpe	Scarificazione biologica per passaggio dei semi attraverso l'intestino di volpi
	Tasso	Scarificazione biologica per passaggio dei semi attraverso l'intestino di tassi
	Cinghiale	Scarificazione biologica per passaggio dei semi attraverso l'intestino di cinghiali
Trattamento chimico con composti inorganici	Perossido	Immersione in H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> al 30% per 30 minuti a temperatura ambiente
Stratificazione	Stratificazione fredda	Stratificazione umida a freddo (5°C) per 90 gg.
	Stratificaz calda+fredda	Stratificazione umida a caldo (20 °C) per 90 gg seguita da stratificazione umida a freddo (5°C) per 90 gg

### 6.3 I risultati delle prove di germinazione

Le prove di germinazione in vitro sono state condotte negli anni 2000, 2001, 2002. Le prove condotte nel 2000 sono da considerarsi del tutto preliminari, sono state successivamente sviluppate nel 2001 per arrivare nel 2002 alla realizzazione di una serie di prove standardizzate (Sapia, 2002).

I semi sono stati sottoposti ai pretrattamenti indicati in tabella 6.1 . Per ciascun pretrattamento sono state utilizzate nelle successive prove di germinazione 3 repliche da 25 semi ciascuna. Durante le prove di germinazione i semi sono stati disposti in contenitori con perlite e incubati nelle camere di germinazione a temperatura alternata (17/25°C), con fotoperiodo di 16 ore di buio e 8 luce, per un periodo di 90 giorni. Visto l'elevato numero di semi necessario per il compimento di tutte le prove, non è stato possibile compiere le esperienze per ogni stazione. I semi di tutte le stazioni sono stati raggruppati in un unico lotto.

In *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* i migliori risultati rispetto al controllo si sono avuti con i pretrattamenti con perossido di idrogeno e stratificazione calda+fredda, tuttavia l'incremento della percentuale di germinazione è significativo solamente nel caso del perossido di idrogeno ( $p < 0,05$  secondo il Test di Dunn). Del tutto inefficaci sono invece i pretrattamenti con acido solforico e la stratificazione fredda (Tab. 6.2).

Tab. 6.2 Risultati delle prove di germinazione condotte nel 2002 (media±ds). Dopo i pretrattamenti i semi sono stati sottoposti a prove di germinazione con temperatura alternata 17/25°C, fotoperiodo 16 ore di buio e 8 di luce per un periodo di 90 giorni. Le voci contassegnate con asterisco (\*) indicano semi provenienti da galbule predate da volpe, tasso, cinghiale e raccolte nelle stazioni di Collelungo e Cavalleggeri. Lettere diverse indicano differenze statisticamente significative.

	Pretrattamenti	Germinazione %
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>oxycedrus</i>	Controllo	14.7±2.3 <sup>a</sup>
	Acido solforico	9.3±4.6 <sup>a</sup>
	Perossido	24.0±4.0 <sup>b</sup>
	Stratificazione fredda	2.7±4.6 <sup>a</sup>
	Stratificaz calda+fredda	18.7±4.6 <sup>a</sup>
<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>macrocarpa</i>	Controllo	22.7±4.6 <sup>a</sup>
	Acido solforico	17.3±14.0 <sup>a</sup>
	Perossido	20.0±21.2 <sup>a</sup>
	Stratificazione fredda	0.0 <sup>b</sup>
	Stratificaz calda+fredda	25.3±2.3 <sup>a</sup>
	Volpe*	21.3 ±8.3 <sup>a</sup>
	Tasso*	10.7±8.3 <sup>a</sup>
	Cinghiale*	21.3±2.3 <sup>a</sup>
<i>J. communis</i>	Controllo	0.0 <sup>a</sup>
	Acido solforico	0.0 <sup>a</sup>
	Perossido	0.0 <sup>a</sup>
	Stratificazione fredda	0.0 <sup>a</sup>
	Stratificaz calda+fredda	0.0 <sup>a</sup>

In *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa* hanno mostrato la migliore percentuale di germinazione in seguito a pretrattamento con stratificazione calda+fredda, tuttavia la differenza rispetto al controllo non è significativa ( $p>0,05$  secondo il test di Dunn). I pretrattamenti con acido solforico, stratificazione fredda sono risultati del tutto inefficaci. L'ingestione dei semi da parte di animali predatori quali volpe, tasso e cinghiale non ha alcun effetto per quanto riguarda la rimozione della dormienza.

I semi di *J. communis*, contrariamente ai risultati ottenuti nelle prove preliminari, non sono germinati in nessuna condizione.

Le prove di germinazione hanno un duplice valore, che consiste sia in un'ulteriore valutazione dell'efficienza riproduttiva dei semi di *Juniperus*, sia nello studio delle potenzialità della propagazione in vitro a partire dal seme, al fine di potere utilizzare i ginepri nei programmi di ripopolamento e recupero (Zine El Abidine *et al.*, 1996). L'analisi dei risultati da noi ottenuti mostra che i pretrattamenti utilizzati non hanno contribuito, se non nel caso del trattamento con perossido d'idrogeno dei semi di *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*, all'interruzione della dormienza e aumento della germinazione.

L'utilizzo della stratificazione a freddo si è rivelato di nessuna utilità per i semi di di tutti e tre i taxa esaminati. In letteratura l'utilizzo di questo pretrattamento ha dato risultati contraddittori. In molti studi (Pack, 1921; Jones, 1989; Zine El Abidine *et al.*, 1996) è risultato essere una procedura efficace per stimolare la germinazione dei semi di gine-



---

pro, grazie all'azione di rimozione contemporanea della dormienza endogena ed esogena (Zine El Abidine *et al.*, 1996; Piotto e Ciccarese, 2001). All'opposto, Negussie *et al.* (1991) riportano un'assenza di effetto della stratificazione, rispetto al controllo.

Il trattamento con acido solforico non ha dato risultati apprezzabili rispetto al controllo, in accordo con quanto osservato da Pack (1921), Jones (1989) e Negussie *et al.* (1991). Al contrario, Zine El Abidine *et al.* (1996) e Laurent e Chamshama (1987) riportano un notevole aumento della germinabilità nei semi trattati con questo metodo. L'utilizzo del perossido d'idrogeno ha invece dato risultati positivi per la sola sottospecie *oxycedrus*. Questo metodo si è in effetti rivelato efficace nello stimolo alla germinazione, con un contemporaneo effetto antibatterico, sui semi di *J. phoenicea* (Zine El Abidine *et al.*, 1996), ed il fatto che abbia agito su una sola sottospecie è probabilmente dovuto a differenze di qualità dei semi o di risposta allo stimolo applicato (Jones, 1989; Zine El Abidine *et al.*, 1996).

Infine, la scarificazione biologica per passaggio attraverso l'intestino di mammiferi disperditori, non è servita ad incrementare la germinazione come atteso (Piotto *et al.*, 2001), anzi nel caso del tasso, ha dato risultati addirittura inferiori al controllo.

Una prima ipotesi che spiega la mancata rimozione della dormienza da parte della maggior parte dei trattamenti applicati, risiede nel fatto che i semi di ginepro si trovano in condizioni di dormienza molto profonda, mantenuta da una serie di fattori sia esogeni (tegumento impermeabile) che endogeni (dormienza dell'embrione e livelli di composti chimici che agiscono da inibitori ed attivatori) (Pack, 1921; Johnson, 1995; Bonner, 1996; Chambers, 1999). D'altra parte, dato che gli stessi pretrattamenti utilizzati in questo lavoro hanno dato in precedenza risultati positivi (Zine El Abidine *et al.*, 1996; Laurent e Chamshama, 1987), e che si tratta dei pretrattamenti più comunemente utilizzati per il ginepro (Young e Young, 1992; Bonner 1996), è improbabile che si tratti di metodi poco efficaci per la specie in questione.

In realtà, il tasso di germinazione varia notevolmente a seconda della provenienza geografica dei semi utilizzati (Zine El Abidine *et al.*, 1996), si osserva addirittura una variabilità significativa imputabile alla provenienza da piante madri diverse (Jones 1989), ed è questa la ragione più probabile che motiva i diversi esiti dei pretrattamenti riscontrati in diversi studi (Jones, 1989; Zine El Abidine *et al.*, 1996). In effetti la dormienza è estremamente variabile non solo fra specie, ma anche fra lotti di semi ed all'interno di uno stesso lotto, dato che costituisce, in natura, una strategia riproduttiva mirata alla germinazione scalare dei vari semi. Questo serve ad assicurare una minore competizione ed una maggiore distribuzione nel tempo e nello spazio, al fine di aumentare le probabilità che almeno qualcuno dei semi germini e si accresca (Johnson, 1995; Bonner, 1996; Pacini *et al.*, 2001). Inoltre, i ginepri sono piante dioiche, nelle quali si verifica perciò, ad ogni evento fecondativo, un riassortimento genico dovuto alla fusione di due genomi provenienti da piante diverse. Questo provoca un aumento della variabilità, tanto che ogni seme può essere considerato come avente una storia ed un'identità diversa dagli altri.

---

Come ulteriore elemento, anche il periodo di conservazione dei semi dopo la raccolta sembra avere un'influenza sulla loro capacità e rapidità di germinazione. Infatti un periodo di conservazione relativamente lungo può permettere il verificarsi di tutti i processi di post-maturazione che sono necessari perché il seme possa germinare (Jones, 1989). Il periodo di post-maturazione consiste infatti in una serie di cambiamenti nella permeabilità delle strutture, nella mobilitazione delle sostanze di riserva ed altre modificazioni biochimiche che rendono il seme pronto per la germinazione (Pack, 1921).

Il tempo necessario perché questi processi vengano portati a termine è molto variabile, anche a seconda della popolazione o della pianta madre di provenienza (Jones, 1989). Nel caso da noi preso in esame, potrebbe quindi darsi che i semi fossero generalmente poco maturi, poiché avevano avuto poca possibilità di portare a termine i processi di ulteriore maturazione, oppure perché avrebbero necessitato di tempi di post-maturazione molto lunghi.

---

## 7. DISCUSSIONE GENERALE

Le ricerche su alcuni taxa di *Juniperus* qui riportate, si possono dividere in tre parti: il polline e l'impollinazione;

lo sviluppo delle galbule, dei semi e la disseminazione

la germinazione dei semi.

Ciascuna di queste tre parti ha prodotto risultati nuovi anche se non tutti in linea con gli scopi di partenza della ricerca e non tutti di eguale risonanza scientifica.

Nel genere *Juniperus* una buona produzione di galbule sembra essere in funzione di una efficiente impollinazione. Subito dopo il periodo di impollinazione infatti molti coni femminili abortiscono perché non ricevono una adeguata quantità di polline (Ortiz *et al.*, 1998).

Perché si abbia un'adeguata impollinazione dei coni femminili deve essere prodotta una congrua quantità di polline. La quantità di polline dispersa nell'ambito di una popolazione di ginepri è funzione della quantità di individui maschili presenti. Esemplicativi in tal senso sono i risultati ottenuti in questo studio per *J. communis*. Nelle popolazioni in esame il rapporto individui maschili/individui femminili è vicino all'unità, in quelle popolazioni in cui predominano gli individui maschili si ha una maggiore percentuale di galbule che giungono a maturazione (es. stazione di Petriolo), tale percentuale è inferiore quando il rapporto è sbilanciato in favore delle femmine (es. stazione di Montarrenti). Dal punto di vista della produzione di galbule è quindi importante che tale rapporto sia prossimo all'unità o a leggero favore degli individui maschili.

Una delle principali novità emerse nel corso della ricerca è rappresentata dalla constatazione della bassa specificità del meccanismo di impollinazione di *Juniperus*. In questo genere il mezzo che separa il polline dal gametofito femminile è rappresentato dalla goccia micropilare (impollinazione micropilare) (Fig. 7.1).

---

Fig. 7.1 Cono femminile di *J. communis* prima dell'emissione della goccia micropilare. Nella foto sono ben evidenti i tre micropili dai quali verrà emessa la goccia.



Nelle *Angiospermae* invece tale mezzo è rappresentato dai tessuti stigmatici (impollinazione stigmatica) che, attraverso meccanismi bio-molecolari, permettono un riconoscimento specie-specifico di ciò che giunge sullo stigma. In *Juniperus*, proprio perché presenta l'impollinazione micropilare, mancano tali interazioni tissutali e l'impollinazione è caratterizzata da una minore specificità. Questo è dimostrato dalle prove di impollinazione con particelle abiotiche che hanno determinato una retrazione anche se parziale della goccia micropilare. Viene ridotta di conseguenza la superficie della goccia esposta per la cattura del polline e quindi in definitiva viene ridotta la probabilità di impollinazione. Un effetto ancor più negativo è rappresentato dal fatto che il polline non vitale determina una retrazione completa della goccia che non viene riemessa il giorno successivo, naturalmente a questo tipo di impollinazione non segue un evento fecondativo. È stata notata anche aspecificità nelle prove di impollinazione interspecifica, il polline di *J. communis* determina la retrazione completa della goccia micropilare di *J. oxycedrus* e viceversa. Questo potrebbe causare incroci incompatibili (con conseguente mancata formazione di semi vitali) nel caso in cui le due specie si ritrovino a coprire la stessa area o aree vicine.

L'aspecificità rappresenta un punto di vulnerabilità nel meccanismo dell'impollinazione di *Juniperus* soprattutto se le piante si trovano in prossimità di sorgenti antropiche

---

di particolato aerodisperso. Prove preliminari compiute su *Cupressus sempervirens* e *Taxus baccata* hanno dimostrato effetti simili del particolato abiotico, si può quindi ipoteticamente estendere i risultati ad altre specie che condividono gli stessi meccanismi di impollinazione.

La vulnerabilità del processo di impollinazione potrebbe in parte spiegare la difficoltà di alcune specie importanti dal punto di vista ecologico, come i ginepri, nella loro espansione territoriale ma potrebbe fornire anche la chiave per affrontare tale problematica.

L'effetto della deposizione dei particolati sulla goccia micropilare potrebbe essere di notevole importanza da un punto di vista ecologico, considerando l'aumento della quantità di polveri aerodisperse in relazione ad attività antropiche quali traffico veicolare, processi di combustione, o attività industriali come cave, cementifici, fonderie (APAT, 2002; CEPA, 1998). Sarà di grande interesse, pertanto, verificare *in campo* gli effetti riscontrati nelle prove sperimentali. Future ricerche potranno verificare e confrontare l'efficienza riproduttiva di popolazioni di piante che vivono a differenti distanze da siti con forte emissione di particolato aerodisperso.

I risultati ottenuti aprono ampie ed interessanti prospettive di ricerche future visto che la scarsa produzione di semi è una caratteristica di numerose conifere (Owens *et al.*, 1991), che limita, tra l'altro, la loro espansione territoriale.

Tuttavia la principale causa limitante l'efficienza riproduttiva di *J. communis* e *J. oxycedrus* è la bassa vitalità dei loro semi. I valori di vitalità riscontrati nelle popolazioni di *J. oxycedrus* nelle nostre stazioni è molto simile a quello riscontrato in popolazioni della Spagna meridionale (Ortiz *et al.*, 1998). Questa concordanza fa ipotizzare che la causa determinante la bassa vitalità dei semi non sia legata alla localizzazione di una determinata popolazione, ma sia qualcosa di più generalizzato.

In verità le ricerche effettuate non hanno messo in rilievo una causa principale determinante la bassa vitalità dei semi in *J. communis* e *J. oxycedrus*, hanno però escluso alcuni fattori, quale ad esempio l'effetto di parassiti, ed individuato una serie di concause che possono interagire tra di loro.

Gli studi compiuti su *J. oxycedrus* ci indicano che la scarsa qualità dei semi sia determinata da eventi abortivi post-fecondativi. Bisogna infatti tener conto del lungo ciclo riproduttivo che caratterizza questa specie, periodo in cui possono verificarsi condizioni ambientali avverse per i delicati processi di sviluppo dell'embrione. Per di più i ginepri sono piante pioniere della regione mediterranea che colonizzano ambienti degradati o sottoposti a stress e carenza di risorse (Fig. 7.2), la cui limitatezza può costituire uno dei fattori che determinano la morte degli zigoti in via di sviluppo.

---

Fig. 7.2 Popolazione di *J. oxycedrus* nelle spiagge antropizzate di di Torre Mozza (GR)



Ciò è ancor più comprensibile se si tiene conto delle maggiori richieste energetiche degli individui di sesso femminile durante lo svolgimento del ciclo riproduttivo (Freeman e Vitale, 1985; Oritz *et al.*, 1998). Eventi abortivi post-fecondativi sono stati riportati anche in altre *Gymnospermae* (Owens *et al.*, 1982; Houle e Filion, 1993; Despland e Houle, 1997).

---

## BIBLIOGRAFIA

Per meglio definire lo stato dell'arte delle conoscenze relative alla biologia del genere *Juniperus* si è preferito presentare una bibliografia ragionata in cui per ogni lavoro citato sono evidenziati gli argomenti più salienti in esso trattati secondo le sigle: **GS**= germinazione dei semi, **TL**= produzione di talee, **SV**= sviluppo vegetativo naturale, **DS**= dispersione semi, **BR**= biologia riproduttiva, **AS**= aspetti sistematici, **EC**= aspetti ecologici.

APAT. 2002. Annuario dei dati ambientali. APAT, Roma. **EC**

Arista M., Talavera S. 1996. Density effect on the fruit-set, seed crop viability and seedling vigour of *Abies pinsapo*. *Ann. Bot.* 77: 187-192. **BR**

Bonner F.T. 1996. *Juniperus* L., Juniper. In: Schopmeyer CS, tech. coord. Seeds of woody plants in the United States. Agric. Handbk. 450. Washington, DC: USDA Forest Service: 460-475. **GS**

Breshears D.D., Myers O.B., Johnson S.R., Meyer C.W., Martens S.N. 1997. Differential use of spatially heterogeneous soil moisture by two semiarid woody species: *Pinus edulis* and *Juniperus monosperma*. *J. Ecol.* 85:289-299. **EC**

CEPA. 1998. National ambient air quality objectives for particulate matter. Public Works and Government Services. Ottawa, Ontario. **EC**

Chambers J. C., Vander Wall S.B., Schupp E. 1999. Seed and seedling of Piñon and Juniper species in the Pygmy woodlands of western North America. *Bot. Rev.* 65(1): 1-38. **DS, GS, BR**

Chesnoy L. 1987. La reproduction sexuée des Gymnospermes. *Bull. Soc. Bot. Fr.* 134: 63-85. **BR**

Chesnoy L. 1993. Les sécrétions dans la pollinisation des Gymnospermes. *Acta Bot. Gallica* 140: 145-156. **BR**

Ciampi C. 1958. Il ciclo riproduttivo nei ginepri italiani della sez. *Oxycedrus*. *Annali dell'Accad. Ital. Di Sc. Forestali*, VII: 3-40. **SV, BR**

Dafni A. 1992. *Pollination Ecology A Practical Approach*. Oxford University Press Inc., New York. **BR**

---

Despland E. and Houle G. 1997. Climate influence on growth and reproduction of *Pinus banksiana* (Pinaceae) at the limit of the species distribution in eastern North America. *Am. J. Bot.* 84: 928-937 **BR, SV, EC**

Duhoux E. 1980. Le développement cellulaire du tube pollinique du *Juniperus communis* L. (Cupressacées) cultivé in vitro. *Rev. Cytol. Biol. Végét.* 3: 95-145. **BR**

Falinski J. B. 1980. Vegetation dynamics and sex structure of the populations of pioneer dioecious woody plants. *Vegetatio* 43: 23-38. **BR, EC**

Freeman D.C., Vitale J.J. 1985. The influence of environments on the sex ratio and fitness of spinach. *Bot. Gaz.*, 146: 137-142. **BR, EC**

García D., Zamora R., Gómez J.M., Hódar J.A. (2001) Frugivory at *Juniperus communis* depends more on population characteristics than on individual attributes. *J. Ecol.* 89: 639-647. **DS**

García D., Zamora R., Gómez J.M., Jordano P., Hódar J.A. (2000) Geographical variation in seed production, predation and abortion in *Juniperus communis* throughout its range in Europe. *J. Ecol.* 88: 436-446. **DS, BR, EC**

García D., Zamora R., Hódar J.A., Gómez J.M. (1999) Age structure of *Juniperus communis* in the Iberian peninsula: Conservation of remnant populations in Mediterranean mountains. *Biol. Conserv.* 87: 215-220. **EC, AS**

Gelbart G., von Aderkas P. 2002. Ovular secretion as part of the pollination mechanism in conifers. *Ann. For. Sci.*: 59: 345-357 **BR**

Gellini R. e Grossoni P. 1996. Botanica Forestale. I: Gimnosperme. CEDAM Padova. **AS**

Guido M. and Roques A. 1996. Impact of the phytophagous insect and mite complex associated with cones of *Juniperus* (*Juniperus phoenicia* L. and *J. cedrus* Webb and Berth.) in the Canary islands. *Ecol. Medit.* 23: 1-10. **EC**

Heslop-Harrison J. and Heslop-Harrison Y. (1970) Evaluation of pollen viability by enzymatically induced fluorescence: intracellular hydrolysis of fluorescein diacetate. *Stain Tech.* 45:115-120. **BR**

Houle G. and Filion L. 1993. Interannual variations in the seed production of *Pinus banksiana* at the limit of the species distribution in Northern Quebec, Canada. *Am. J. Bot.* 80: 1242-1250. **BR, EC**



---

ISTA [International Seed Testing Association] (1985) International rules for seed testing. Rules 1985. *Seed Sci. and Technol.* 13: 299-355. **GS**

Johnson G. 1995. The basic biology of *Juniperus* seed production. In: Landis, T.D.; Cregg, B., tech. Coords. National Proceedings, Forest and Conservation Nursery Associations. Gen. Tech. Rep. PNW-GTR-365. Portland, OR: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Research Station: 44-46. **BR**

Jones S. 1989. The influence of stratification, scarification, hot water and maternal plant on the germination of *Juniperus excelsa* seeds from Eritrea. *Int. Tree Crops J.* 5:221-235. **GS**

Krämer S., Miller P.M., Eddleman L.E. 1996. Root system morphology and development of seedling and juvenile *Juniperus occidentalis*. *For. Ecol. Manage.* 86: 229-240. **BR**

Laurent N. and Chamshama S.A.O. 1987. Studies on the germination of *Erythrina abyssinica* and *Juniperus procera*. *Int. Tree Crops J.* 4: 291-297. **GS**

Martin D.W. and Young D.R. 1997. Small scale distribution and salinity response of *Juniperus virginiana* on an atlantic coast barrier island. *Can. J. Bot.* 75: 77-85. **EC, SV**

Mulcahy D.L., Sari-Gorla M., Bergamini Mulcahy G. 1996. Pollen selection - past, present and future. *Sex Plant Reprod* 9:353-356. **BR**

Negussie A., Good J.E., Mayhead G.J. 1991. The effect of pre-treatments and diurnal temperature variation on the germination of *Juniperus excelsa*. *Int. Tree Crops J.* 7:57-66. **GS**

Nygaard P. 1977. Utilization of exogenous carbohydrates for tube growth and starch synthesis in Pine pollen suspension cultures. *Physiol. Plant*, 39:206-210. **BR**

Ortiz P.L., Arista M., Talavera S. 1998. Low reproductive success in two subspecies of *Juniperus oxycedrus* L. *Int. J. Plant Sci.* 159: 843-847. **BR, GS**

Owens J.N., Colangeli A.M., Morris S.J. 1991. Factors affecting seed set in Douglas-fir (*Pseudotsuya menziesii*). *Can. J. Bot.* 69: 229-238. **BR**

Owens J.N., Simpson S.J., Molder M. 1982. Sexual reproduction of *Pinus contorta*. II. Postdormancy ovule, embryo and seed development. *Can. J. Bot* 60: 2071-2083. **BR**

---

Owens J.N., Takaso T., Riunions C.J. 1998. Pollination in conifers. *Trends Plant Sci.*3: 479-485. **BR**

Pacini E. 1995. Ecologia della riproduzione. In: Ecologia Vegetale, a cura di Pigantti S., UTET, Torino. pp. 200-215. **BR**

Pacini E., Piccini C., Piotto B. 2001. Il seme. In: Propagazione per seme di alberi e arbusti. A cura di Piotto B. e Di Noi A, ANPA, Roma. pp.58-69. **BR, SV, GS, EC**

Pack D.A. 1921. After-ripening and germination of *Juniperus* seeds. *Bot. Gaz.* 71: 31-60. **GS**

Pignatti S. 1982. Flora d'Italia. Edagricole, Bologna. **AS**

Pignatti S. 1995. Successioni. In: Ecologia Vegetale, a cura di Pigantti S., UTET, Torino. pp. 231-258. **SV, EC**

Piotto B. e Ciccarese L. 2001. I pretrattamenti più comunemente impiegati in vivaio per rimuovere la dormienza dei semi. In: Propagazione per seme di alberi e arbusti. A cura di Piotto B. e Di Noi A, ANPA, Roma. pp. 100-108. **GS**

Piotto B., Bartolini G., Bussotti F., Calderón García A.A., Chessa I., Ciccarese C., Ciccarese L., Crosti R., Cullum F.J., Di Noi A., García-Fayos P., Lambardi M., Lisci M., Lucci S., Melini S., Muñoz Reinoso J.C., Murrancia S., Nieddu G., Pacini E., Pagni G., Patumi M., Pérez García F., Piccini C., Rossetto M., Tranne G. 2001 Schede informative sulla propagazione per seme degli alberi e degli arbusti più diffusi della flora mediterranea. In: Propagazione per seme di alberi e arbusti. A cura di Piotto B. e Di Noi A, ANPA, Roma. pp. 110-167 **GS**

Roques A., Raimbault J.P., Goussard F. 1984. La colonisation des cônes et galbules de genévriers méditerranéens par les insectes et acariens et son influence sur les possibilités de régénération naturelle de ces essences. *Ecol. Medit.* X(1-2): 147-169. **EC**

Sapia L.V. 2002. Aspetti ecofisiologici della biologia riproduttiva di *J. oxycedrus oxycedrus* e *J. oxycedrus macrocarpa*. Tesi di Laurea. **BR**

Singh H. 1978. Embryology of Gymnosperms. Gebrüder Borntraeger, Berlin- Stuttgart. **BR**

Snow B., Snow D. 1988. Birds and berries, a study of an ecological interaction. Poyser, Calton. **DS**

---

Soccio V. 2002. la goccia micropilare in *Juniperus oxycedrus*: osservazioni preliminari. Tesi di Laurea. **BR**

Van der Merwe M., Winfield M.O., Arnold G.M. and Parker J. S. (2000) Spatial and temporal aspects of the genetic structure of *Juniperus communis* populations. *Molecular Ecology* 9: 379-386. **AS**

Young J.A. e Young C.G. 1992. Seeds of woody plants in North America. Dioscorides Press, Oregon, Usa. Pp. 187-192. **Br**

Zamora R., Gómez J.M., García D., Hódar J.A. (1996) Ecología reproductiva y regeneración del matorral de la alta montaña de Sierra Nevada: capacidad de respuesta a las perturbaciones. In: Chacón J., Rosúa J.L. (Eds.), Sierra Nevada: Conservación y Desarrollo Sostenible, vol. 2. University of Granada, Granada, pp. 407-422. **EC, SV, BR**

Zine El Abidine A., Zaidi A., Niass M.F. 1996. La germination des graines du genévrier rouge (*Juniperus phoenicea* L.). *Ann. Rech. For. Maroc*, T(29): 1-23. **BR**

Zocca A. 1999. La propagazione degli alberi e degli arbusti. Edagricole, Bologna. **TL**



---

## **ANALISI STATISTICA**

Al fine di verificare la significatività delle differenze osservate per l'analisi statistica sono stati utilizzati i seguenti tests:

ANOVA ad una via

ANOVA a due vie

test di Wilcoxon

test U di Mann-Whitney

test di Dunn

test di Tuckey

Le analisi statistiche sono state elaborate mediante il programma Statistica per Windows (versione 4.5).



---

## GLOSSARIO

### ANGIOSPERME

Raggruppamento sistematico comprendente le piante che hanno i fiori, con gli ovuli racchiusi in un ovario e che, dopo la impollinazione, divengono semi racchiusi nel frutto.

### ANTERA

Struttura del fiore dove viene prodotto il polline, tipica delle angiosperme.

### ARCHEGONIO

Gamete femminile caratteristico dei muschi, felci e gimnosperme.

### AREALE

Zona geografica all'interno della quale vive un determinato tipo di organismo.

### ARRESTO DELLO SVILUPPO

Arresto nella crescita della parte vegetativa o riproduttiva di un organismo. Nella crescita vegetativa l'arresto dello sviluppo dipende da cause ambientali; nella riproduttiva, invece, soprattutto da cause genetiche; infatti il polline e il seme devono dissecarsi e rallentare il loro metabolismo prima della loro dispersione.

### BIODIVERSITÀ

Abbreviazione di diversità biologica, cioè la diversità degli organismi. Esiste una diversità tra le specie e una diversità genetica all'interno di una specie. Quest'ultima dipende dalla modalità di riproduzione e dal numero di individui per unità di superficie.

### CAMERA POLLINICA

Cavità che si trova sotto il micropilo, all'interno dell'ovulo, dove germina il polline.

### CATAFILLO

Foglia modificata come quelle che accompagnano e compongono le pine maschili e femminili.

### CELLULE PROTALLARI

Sono le cellule non riproduttive che compongono il protallo o gametofito, sia esso maschile che femminile.

### COALESCENTE

Dicesi di qualunque struttura che si fonde durante lo sviluppo.

---

## COMPETIZIONE

Processo biologico che si attua per la nutrizione e la riproduzione.

Nelle piante la competizione per la nutrizione riguarda la luce, l'acqua e i sali minerali. Nella riproduzione esiste sia una competizione maschile che femminile; il loro livello varia a seconda del gruppo sistematico e della struttura degli apparati riproduttori.

## COMPETIZIONE ASSISTITA

È una tecnica che serve ad aumentare sia la biodiversità all'interno di una specie, che la forza della progenie, in quanto viene incrementata la competizione tra i gametofiti maschili. Si attua impollinando artificialmente con una abbondante quantità di polline proveniente da diversi organismi, il più possibile distanti tra loro. I gameti maschili con i geni migliori sono più favoriti per la fecondazione.

## CONO FEMMINILE

Nelle gimnosperme è formato da squame, in numero variabile a seconda delle specie (1-oltre100), ciascuna con uno o più ovuli, con all'interno i gameti femminili. Le squame si aprono prima della impollinazione per permettere l'arrivo del polline, poi si chiudono. In molte gimnosperme le squame si aprono di nuovo per lasciare cadere i semi. Nei ginepri, invece, le squame dopo la impollinazione non si aprono e i semi del cono (solo 3) vengono liberati tutti insieme in una struttura detta galbula.

## CONO MASCHILE

Nelle gimnosperme è il cono che produce il polline. Normalmente più coni maschili sono raggruppati insieme in una struttura complessa.

## DIOICO

Si dice di un organismo vegetale che esprime il sesso maschile e femminile in individui diversi.

## DIPLOCORIA

È una duplice maniera di dispersione del seme, cioè prima con una modalità e successivamente con un'altra.

## DISPERSIONE

È il trasferimento da un'area ad un'altra di piante, polline, semi o altre parti di pianta. È il processo con cui si ha la colonizzazione di nuovi ambienti.

## DISPERSIONE DEL POLLINE

È la maniera con cui il polline viene allontanato dalla struttura che lo ha prodotto. Nelle gimnosperme, salvo rarissime eccezioni, il polline è disperso dal vento (dispersione anemofila).



---

#### DISPERSIONE DEL SEME

È la maniera con cui il seme si allontana dalla pianta madre. Nelle gimnosperme tale dispersione avviene per: caduta (alcuni pini); il seme "vola via" grazie ad un'ala (altri tipi di pini); per mezzo di animali attratti da sostanze che si trovano intorno ai semi (ginepri e tasso). È sinonimo di disseminazione.

#### DISSECCAMENTO

È il processo naturale con cui alcune parti della pianta perdono acqua. Il polline e il seme subiscono un disseccamento naturale che gli permette di sopravvivere durante la dispersione. Il disseccamento delle parti vegetative è comunemente dovuto a stress.

#### DORMIENZA

Stato fisiologico, del seme o di parti vegetative della pianta, dovuto a cause fisiche o fisiologiche che impediscono la germinazione anche con condizioni favorevoli. È una caratteristica controllata geneticamente che interagisce in vario modo con fattori ambientali. La durata della dormienza può oscillare da pochissimi mesi fino a alcune decine di anni. In ogni modo la dormienza può essere interrotta dalle condizioni ottimali di germinazione.

#### ENDOSPERMA

Tessuto di riserva che si trova dentro i semi. Nelle gimnosperme l'endosperma è di esclusiva origine materna ed è il residuo del gametofito femminile. Nelle angiosperme è invece formato con il contributo paterno e materno.

#### EMBRIONE

Giovane individuo derivato dalla fecondazione. Nelle spermatofite il suo sviluppo viene arrestato perché possa essere compiuta la dispersione. Nelle gimno e angiosperme l'embrione viene disperso all'interno del seme.

#### EFFICIENZA RIPRODUTTIVA

Termine che serve ad indicare il rendimento dell'intero processo riproduttivo. I fattori che la influenzano dipendono dall'ambiente e dalla competizione maschile e femminile.

#### ENTITÀ SISTEMATICA

Termine riferito a qualsiasi livello sistematico che serve ad evitare la ripetizione del termine genere, specie o varietà già nominate precedentemente.

#### ESPRESSIONE SESSUALE

È la maniera in cui una pianta esprime, nel tempo e nello spazio, la sua sessualità. I due sessi si possono trovare sulla stessa pianta (monoica) o su piante differenti (dioica).

---

#### FASE RIPRODUTTIVA

È quella fase in cui gli organi riproduttori si sviluppano a scapito della fase vegetativa che normalmente cessa o rallenta la sua crescita.

#### FASE VEGETATIVA

Fase della crescita dell'organismo vegetale, si attua normalmente nei momenti più favorevoli.

#### GALBULA

Deriva dal cono femminile dei ginepri in seguito ad impollinazione ed è formata da tre sole squame, sempre carnose, che, a differenza degli altri, non si aprono quando i semi sono maturi. Inoltre durante il loro sviluppo accumulano delle sostanze che servono per "ricompensare" i disperditori della galbula stessa.

#### GAMETE

Cellula aploide specializzata per compiere la fecondazione. I tipi di gameti sono funzione dell'ambiente dove la pianta vive. Quelli maschili sono sempre più numerosi dei femminili dato che la competizione maschile è maggiore della femminile.

#### GAMETOFITO

Struttura formata da cellule apoloidi che nelle piante produce i gameti. Nelle gimno e angiosperme il polline è il gametofito maschile; quello femminile si forma all'interno degli ovuli.

#### GERMINAZIONE DEL POLLINE

È il processo in cui il polline emette il tubetto pollinico, cioè il veicolo che convoglia i gameti maschili verso il gametofito e i gameti femminili.

#### GERMINAZIONE DEL SEME

Fine dell'arresto dello sviluppo fi del seme e ripresa della crescita dell'embrione. Si manifesta con l'emissione della radichetta e poi delle restanti parti dell'embrione. Fisiologicamente si compone di tre fasi: nella prima si ha la reidratazione di tutte le componenti del seme; successivamente si ha la mobilitazione delle riserve che possono essere localizzate nell'embrione stesso o nell'endosperma; infine si ha l'emissione della radichetta.

#### GIMNOSPERME

Raggruppamento sistematico che comprende le piante legnose prive di fiori e con gli organi riproduttori disposti su coni.

---

#### GOCCIA MICROPILARE

Secrezione zuccherina che si forma all'interno dell'ovulo e che fuoriesce dal micropilo formando una goccia di diametro normalmente non superiore al millimetro. Si ritrae non appena è avvenuta l'impollinazione portando all'interno i granuli di polline che successivamente emetteranno i tubetti.

#### IMPOLLINAZIONE

Processo che inizia con il distacco dei granuli di polline dalla struttura che li ha prodotti e termina con l'atterraggio del polline su siti diversi a seconda che si tratti di gimno e angiosperme. Nelle gimnosperme più comunemente si tratta della la goccia micropilare; nelle angiosperme, invece è sempre lo stigma, cioè la parte superiore del gineceo.

#### INVESTIMENTO RIPRODUTTIVO

Definizione dello sforzo energetico che una pianta compie durante il ciclo riproduttivo. Tale investimento è di differente entità nella parte maschile e femminile e nelle varie fasi del ciclo riproduttivo.

#### MEGASPORA

È una delle quattro cellule che deriva dal processo della meiosi all'interno della nucella. Generalmente dal processo meiotico della linea femminile si originano quattro megaspore di cui tre degenerano.

#### MEGASPOROGENESI

È il processo che origina la megaspora.

#### MICROPILO

Apertura dell'ovulo delle spermatofita con funzioni differenti nelle gimno e angiosperme. Nelle gimnosperme deve essere esposto all'aria al momento della impollinazione perché vi devono atterrare i granuli di polline (impollinazione micropilare). Nelle angiosperme invece è il luogo che viene attraversato dai tubetti pollinici, che si dirigono verso il sottostante gametofito (impollinazione stigmatica).

#### MONOICO

Individuo che esprime un solo sesso.

#### NUCELLA

Strato dell'ovulo che si trova sotto il tegumento. Una cellula della nucella diviene la cellula madre delle megaspore.

---

#### OPERCOLO

Piccolo coperchio, della medesima composizione dell'esina, che chiude l'apertura dei granuli di polline. È un punto di minore resistenza che determina lo sgusciamiento del polline quando si reidrata.

#### ORBICOLI

Piccoli corpiccioli, della medesima composizione dell'esina, che nelle gimnosperme si possono trovare sulla superficie interna dei granuli di polline e/o sui granuli.

#### OVULO DELLE SPERMATOFITA

È composto da numerose cellule, e al suo interno si forma il gametofito femminile con i gameti.

#### PINA

Struttura composta da squame che proteggono le sacche polliniche (pine maschili) o gli ovuli (pine femminili). È sinonimo di cono.

#### PLASMALEMMA

È la membrana unitaria che nelle cellule vegetali si trova tra il citoplasma e la parete.

#### POLLINE

Il gametofito maschile delle spermatofite; contiene i gameti o le cellule che li formeranno.

#### POSTMATURAZIONE

Quando si riferisce a determinati tipi di dormienza indica il periodo necessario per rimuoverla.

#### PRESENTAZIONE

È la modalità con cui le strutture riproduttive si dispongono prima della loro dispersione nell'ambiente.

#### PRETRATTAMENTO

Insieme di processi fisici, chimici o biologici effettuati sui semi con lo scopo di rendere massima la loro germinazione rimuovendo eventuali dormienze.

#### PROPAGAZIONE VEGETATIVA

Modalità veloce di moltiplicazione naturale o artificiale di una pianta che non prevede la riproduzione sessuata e nemmeno l'arresto dello sviluppo. Si ottengono individui geneticamente identici.

---

#### PROPAGAZIONE SESSUALE

Modalità lenta di riproduzione naturale di una pianta che prevede la meiosi e la fecondazione. Si ottengono individui geneticamente differenti.

#### PRUINA

Strato ceroso impermeabile che si trova sopra l'epidermide e che la rende opaca, riduce anche la traspirazione. È presente sulle galbule così come su alcuni frutti come le susine.

#### RAPPORTO DEI SESSI

Rapporto tra il numero di individui maschili e femminili che vivono in una data area; varia in funzione delle modalità della riproduzione, soprattutto dal tipo di impollinazione e della struttura degli apparati riproduttori.

#### RIPRODUZIONE

Processo mediante il quale si ha l'aumento degli individui su una determinata area. Se la parola non è seguita da aggettivi si intende la riproduzione sessuata.

#### SACCA POLLINICA

Parte protetta da una squama del cono maschile che produce il polline.

#### SCARIFICAZIONE

Processo naturale o artificiale effettuato con mezzi fisici, chimici o biologici, che agisce sul tegumento dei semi favorendo la penetrazione dell'acqua e dell'ossigeno e inducendo la germinazione.

#### SQUAME

Nelle gimnosperme le squame sono le foglie ma anche i componenti delle pine fi maschili e femminili.

#### SEME

Struttura tipica delle spermatofite che contiene l'embrione in una fase di arresto dello sviluppo e con un contenuto di acqua normalmente inferiore al 10%. Il seme è sempre composto da: un tegumento, dall'embrione e dall'endosperma (che ha una differente origine nelle gimno e angiosperme).

#### SPECIE

Entità sistematica elementare che riunisce tutti gli individui liberamente fecondi e interfertili, con caratteristiche comuni che vivono all'interno di una data zona detta areale.

---

### SPERMATOFITA

Termine che indica le piante con semi, cioè le gimnosperme che hanno semi nudi, ovvero dispersi privi di involucro e le angiosperme che hanno semi racchiusi in un involucro, il frutto.

### STRATIFICAZIONE

Processo che ha lo scopo di rimuovere le dormienze e quindi di indurre la germinazione dei semi. Consiste nel disporli in strati alternati a terra o altro materiale e sottoporli a trattamenti termici costanti o alternati in presenza di umidità e aria.

### TAXON

Termine usato per indicare una categoria sistematica generica.

### TEROFITA

Sinonimo di piante annuali, cioè che passano il periodo sfavorevole allo stato di seme.

### VARIABILITÀ GENETICA

Variazione dei caratteri genetici all'interno degli individui di una specie. Tale variabilità è dovuta: alle mutazioni, all'incrocio con individui della stessa specie ma con genotipi differenti, al dominare della riproduzione sessuata sulla vegetativa.

### VERTICILLI

Foglie modificate a formare strutture riproduttive come pine e fiori.

### VITALITÀ DEL POLLINE

È la capacità del polline di emettere il tubetto pollinico e fecondare. Tale capacità tende a diminuire con il tempo; è influenzata dalle modalità di conservazione (temperatura e umidità relativa). Se le condizioni non sono favorevoli raramente supera pochi giorni. È sinonimo di qualità del polline.

### VITALITÀ DEL SEME

È la capacità che il seme ha di germinare. Tale capacità tende a diminuire con il tempo; è influenzata dalle modalità di conservazione (temperatura e umidità relativa). Se le condizioni non sono favorevoli raramente supera un anno.

### ZOOCORIA

È la dispersione del seme tramite gli animali; si distingue tra endozooecoria se il frutto, seme o galbula vengono ingeriti da un animale e successivamente riemessi; o esozooecoria quando le strutture riproduttive rimangono attaccate al corpo degli animali: zampe, peli, penne ecc.

---

## Riassunto

I ginepri sono piante spontanee ed hanno anche un valore estetico. Inoltre sono piante estremamente importanti per il ripristino di aree degradate e di spiagge antropizzate perché con il loro sviluppato apparato radicale trattengono i sedimenti. Sono state considerate due specie di ginepro: *Juniperus communis*, il ginepro italiano più diffuso, e *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus* e subsp. *macrocarpa*, ginepri "delle sabbie" perché fondamentali nel consolidamento delle dune costiere.

La riproduzione per seme del ginepro, indispensabile per la variabilità genetica delle specie e per la loro 'conquista' del territorio, risulta essere decisamente difficoltosa a causa di numerosi fattori tra cui la bassa vitalità dei semi. Gli studi effettuati hanno avuto principalmente due scopi: a) capire il motivo della bassa vitalità dei semi; b) cercare di aumentarne il tasso di germinabilità. Sono state quindi effettuate analisi sul numero e la vitalità dei granuli pollinici (e sulla loro capacità di dispersione), sull'effetto dei parassiti sulla vitalità dei semi nonché verifiche sulla dispersione zoocora dei semi. Sono state condotte prove di germinazione dei semi, precedute da pretrattamenti di tipo fisico, chimico e biologico. I risultati indicano che i parassiti hanno un effetto marginale sulla vitalità dei semi e che non esiste una interazione positiva tra capacità germinativa dei semi e loro passaggio nell'intestino degli animali disperditori. Inoltre è stato studiato il meccanismo dell'impollinazione del ginepro. In particolare sono state condotte ricerche sul riassorbimento della goccia micropilare, una secrezione acquosa tipica delle gimnosperme necessaria per trasportare il polline vicino all'ovulo e quindi indispensabile per la fecondazione. Gli studi indicano che il pulviscolo atmosferico potrebbe influenzare negativamente l'impollinazione e quindi la sua riproduzione e diffusione nel territorio. Le attività antropiche che determinano un aumento del pulviscolo atmosferico creerebbero perciò interferenze negative all'esistenza di queste specie.

---

## Abstract

Junipers are wild plants which also have also an ornamental use. They are valuable plants for remediation of disturbed environments such as coastal areas subjected to antropic pressure; in fact their large roots improve sediment cohesion. Two species have been studied: *Juniperus communis*, the most common Italian juniper, and *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus* and subsp. *Macrocarpa*, called "sand junipers" because they are found along the coasts and are important for sand dunes consolidation.

Sexual reproduction of junipers, essential for genetic variability of the species, encounters some problems due to several factors such as low seed viability. Studies were carried out with two purposes: a) to find out the cause of low seed viability; b) to increase seed germination. The number, viability and dispersal of pollen grains were analysed, as well as the effect of pest insects on seed viability and the effect of seed dispersal by animals (boar, fox, beechmarten). Seed germination tests were performed after physical, chemical and biological pre-treatments. The biological pre-treatment was performed in order to assess the effect of seed ingestion by animals on seed germinability.

Results suggest that pest insects have hardly any effect on seed viability and that there is no effect of seed transit through the intestine of animals on seed germinability.

Researches on juniper pollination were also carried out. In particular the mechanisms of micropilar drop secretion and reabsorption were studied. The micropilar drop is an aqueous solution typical of gymnosperms, whose reabsorption is essential for fertilization because it conveys the pollen grains near to female gametes. Results show that atmospheric particulate may affect negatively the pollination of junipers and consequently their reproduction. Thus any human activity causing the increase of atmospheric particulate may negatively interfere with the reproduction and survival of these species.