

Test di Germinazione su specie rare o localmente estinte conservate nella banca del germoplasma del Museo di Storia Naturale del Mediterraneo: taxa indagati *Centaurea* spp. e *Halimium halimifolium* (L.) Willk

Stefania Menini

Antonio Borzatti de Loewenstern

Emanuela Silvi

Museo di Storia Naturale del Mediterraneo, Via Roma, 234. I-57100 Livorno.

E-mail: botanica.museo@provincia.livorno.it; a.borzatti@provincia.livorno.it; entomologia.museo@provincia.livorno.it

RIASSUNTO

Test di germinazione su semi di *Centaurea* spp. e *Halimium halimifolium* (L.) Willk. conservati nella banca del germoplasma del Museo di Storia Naturale del Mediterraneo a T=5°C hanno dato percentuali di germinazione confrontabili con quelli ottenuti presso la Millennium Seed Bank di Londra su semi freschi. I risultati dei test hanno permesso di stabilire dei protocolli di germinazione per la reintroduzione, avvenuta nel 2010 con *H. halimifolium*. Inoltre la discreta variabilità di germinazione osservata tra lotti di *H. halimifolium* raccolti in anni successivi, suggerisce in via preliminare di effettuare le raccolte di semi per almeno due anni consecutivi.

Parole chiave:

Centaurea, *Halimium*, test di germinazione, reintroduzione.

ABSTRACT

Germination tests of locally extincted or rare species conserved in the seed bank of the Natural History Museum of Mediterranean: investigated taxa *Centaurea* spp. e *Halimium halimifolium* (L.) Willk.

A test on the germination of *Centaurea* spp and *Halimium halimifolium* (L.) Willk was carried out on seeds conserved under 5°C temperature conditions in the germplasm bank at the natural History Museum of Livorno. Germination rates were very similar to those observed at Millennium Seed Bank for fresh seeds. It was also observed that seed batches of *H. halimifolium* collected in subsequent years show a fair variability in germination rate, suggesting to collect seeds for at least two subsequent years. On the basis of these results it was possible to establish a germination protocol and in 2010 *Halimium halimifolium* was reintroduced in a site where it was gone extinct.

Key words:

Centaurea, *Halimium*, germination test, reintroduction.

INTRODUZIONE

Il Museo di Storia Naturale del Mediterraneo è un museo provinciale fortemente orientato al suo territorio d'elezione, la provincia di Livorno, caratterizzata da uno sviluppo tipicamente mediterraneo. Dal 2000 il museo si è dotato di un orto botanico e di una banca del germoplasma, dedicati entrambi alla flora della provincia livornese comprese le isole dell'arcipelago toscano.

La conservazione ex situ operata dalle banche del germoplasma è un'assicurazione contro l'estinzione delle specie in natura. Deve quindi far parte di una azione più ampia comprendente azioni di conservazione in

situ oltre a provvedimenti di natura sociale e legale, realizzando quella che è stata definita una strategia integrata di conservazione (Falk, 1987; 1990). Come sostengono Guerrant & Raven (2003) le collezioni ex situ non possono essere fini a se stesse ma devono essere un sostegno agli sforzi di restaurazione della biodiversità.

La banca del germoplasma conserva 380 accessioni appartenenti a specie mediterranee. Tra i taxa trattati molti appartengono alla flora delle scogliere e delle spiagge, una flora che comprende specie minacciate a causa della pressione antropica sugli ambienti litoranei, ma anche taxa rari, presenti con piccole popolazioni isolate dall'areale principale della specie.

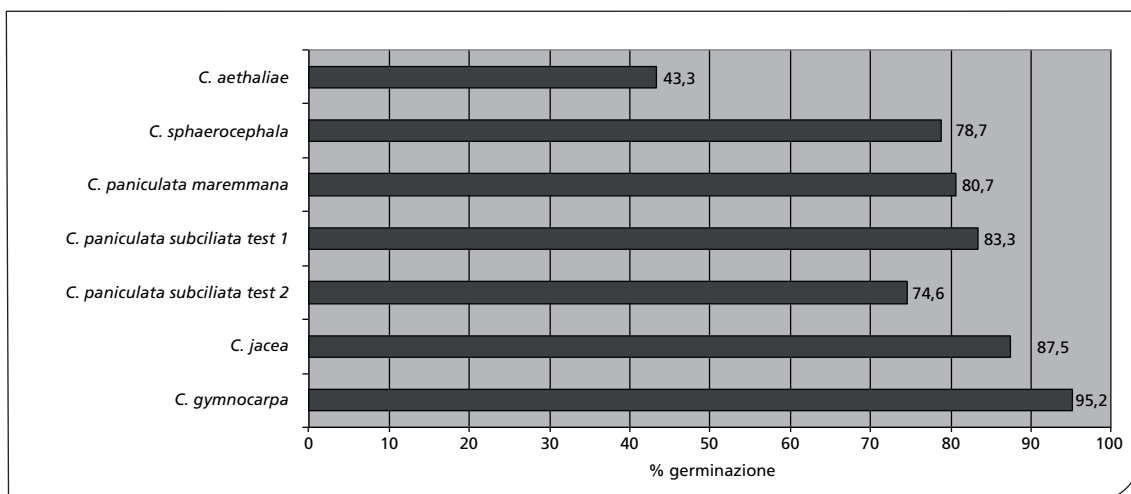


Fig. 1. Germinazione totale Centauree.

A partire dal 2007 la collezione di semi del Museo di Storia Naturale del Mediterraneo è stata oggetto di test di germinazione, realizzati sia per definire la vitalità dei lotti conservati, sia per stabilire protocolli di germinazione in vista di possibili reintroduzioni in natura di specie rare, a rischio di estinzione o localmente scomparse (Conti et al., 1992; 1997; Walter & Gillet, 1997/98).

MATERIALI E METODI

I test hanno riguardato le specie del genere *Centaurea* che formano popolazioni isolate e localizzate su substrati o habitat particolari, come ofiolti e falesie marine di flyphs arenacei (Arrigoni, 2003).

Inoltre è stata studiata la germinazione dei semi di *Halimium halimifolium*, una specie estinta in provincia di Livorno (Caruel, 1860; Pignatti, 1982; Bertacchi et al., 2005), ma di cui è presente nell'orto botanico del Museo un esemplare prelevato in natura prima della scomparsa.

La conservazione dei semi è avvenuta in cella refrigerata a 5°C, in bustine multistrato di policarbonato e alluminio termosigillate.

I test sono stati effettuati mediante semina su agar allo 0,5%, utilizzando capsule petri di 9 cm di diametro. Il numero di semi utilizzati è stato circa il 10% dei semi conservati, come stabilito per lotti composti da 500-1000 semi (AA.VV., 2006).

I semi delle centauree sono stati mantenuti in condizioni di illuminazione artificiale con ciclo 8/16 e temperatura controllata (20°C). Per ciascun test (tab.1) sono state effettuate almeno 3 repliche che hanno permesso di determinare la germinazione totale e la deviazione standard.

Per le prove di germinazione su *Halimium halimifolium* è stato utilizzato un incubatore a temperatura controllata (20°C) e illuminazione naturale. I semi, provenienti da un'unica pianta coltivata in orto botanico, sono

stati sottoposti a scarificazione, considerato che precedenti prove con semi non trattati avevano dato una germinazione nulla o molto scarsa. La dormienza fisica è nota per molte specie appartenenti alle Cistacee (Baskin & Baskin, 2001). Quindi è stato fatto un test preliminare per valutare l'efficacia di una scarificazione effettuata col bisturi oppure con carta vetro. Considerata l'analoga percentuale di germinazione ottenuta (80-81%), nei test successivi i semi sono stati scarificati con carta vetro. Ad ogni modo per ciascun test di germinazione si è effettuata una prova di controllo su semi non scarificati. La capacità di germinazione è stata valutata per lotti raccolti in 4 anni successivi, dal 2001 al 2004, grazie alla maggior continuità di raccolta rispetto alle centauree. Per ciascun anno sono state effettuate 3 o 4 repliche di 20 semi ciascuna. I dati raccolti hanno permesso di determinare la germinazione totale, il ritardo di germinazione e la velocità di germinazione (T50) utilizzando la formula $[(N/2-N_1) \times (T_2-T_1)] / (N_2-N_1) + T_1$ (AA.VV., 2006).

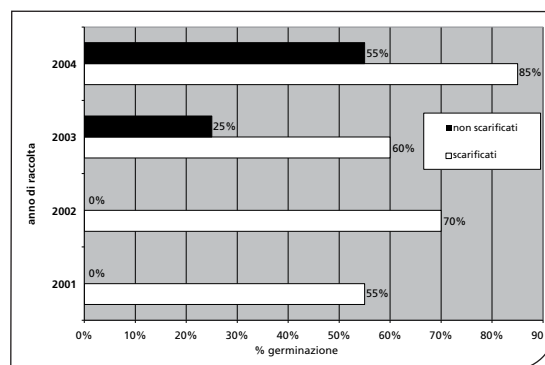


Fig. 2. Germinazione totale di *Halimium halimifolium*.

Specie	anno raccolta	anno test	n. semi testati	% germ.	dev. st.
<i>C. gymnocarpa</i>	2004	2009	230	95	0.04
<i>C. jacea</i>	2005	2009	230	87	0.09
<i>C. paniculata subciliata</i> test 1	2005	2007	90	83	0.06
<i>C. paniculata subciliata</i> test 2	2007	2009	150	75	0.08
<i>C. paniculata maremmana</i>	2005	2009	140	81	0.09
<i>C. sphaerocephala</i>	2005	2009	80	79	0.1
<i>C. aethaliae</i>	2004	2009	45	43	0.15

Tab.1. Dati delle prove di germinazione per il genere *Centaurea*.

RISULTATI E DISCUSSIONE

In tutte le specie studiate appartenenti al genere *Centaurea* la germinazione totale (fig. 1) è risultata superiore al 70%. Unica eccezione *C. aethaliae* con solo il 43% di semi germinati, ma nella quale il numero di semi testati è stato molto basso. Si è comunque preferito non effettuare ulteriori test e conservare il lotto fino a quando non saranno disponibili nuove accessioni, considerata anche la forte variazione osservata nelle 3 repliche (35-55%).

Per *C. paniculata subciliata* la germinazione è stata valutata per due lotti diversi, ottenendo risultati molto simili (75-83%) e confrontabili con il valore (84%) ottenuto dalla Millennium Seed Bank (Royal Botanic Gardens Kew, web site) per semi forniti dall'Università di Pisa.

Anche il tasso di germinazione osservato per *C. jacea* (87%) è molto simile a quello ottenuto in alcuni test condotti presso la Millennium Seed Bank (80-90%), in questo caso su semi freschi.

Si può ritenere pertanto che le condizioni di conservazione e di germinazione adottate siano state complessivamente buone.

Per quanto riguarda *Halimium balimifolium* i risultati dei test mostrano che la scarificazione permette di ottenere una germinazione totale superiore al 50% e in alcuni casi anche molto più alta, in particolare per il lotto raccolto nel 2004 che ha raggiunto valori superiori all'80% (fig. 2).

Risultati confrontabili con quelli del presente studio sono stati ottenuti su altre Cistacee, come *Cistus heterophyllus* Desf. subsp. *carthaginensis* con valori di germinazione tra il 65 e l'80% (Escriba Baeza et al., 2007) e *Cistus crispus* L. e *Cistus albidus* L. con valori tra l'83 e il 90% (Perez Garcia & Pita Villamil, 1999). I valori riscontrati sono confrontabili anche con quelli ottenuti nei test effettuati presso la Millennium Seed Bank di Kew (Royal Botanic Gardens Kew, www.kew.org) su semi freschi. Infatti per semi di *H. balimifolium* scarificati con bisturi e seminati su gel di agar all'1% con T= 20° C e ciclo di illuminazione 8/16, è stato ottenuto un valore del 79%.

La germinazione dei semi non trattati (tab. 2) è risultata invece molto più variabile, più lenta e forse collegata al periodo di conservazione: le piastre di controllo con i semi non scarificati non hanno prodotto alcuna germinazione relativamente ai lotti raccolti nel 2001 e nel 2002, mentre nei campioni del 2003 e del 2004 si è osservata una germinazione rispettivamente del 25 e del 55%. Purtroppo la scarsità di semi disponibili non ha permesso di approfondire questo aspetto. Inoltre la notevole variabilità di capacità germinativa osservata in annate diverse ma vicine suggerisce che le raccolte effettuate una sola volta, a distanza di anni, possano incorrere in annate poco vitali. Appare quindi opportuno, effettuando raccolte cicliche, svolgerle per almeno due anni consecutivi.

Infine si può considerare che le percentuali di germinazione più basse osservate sui semi scarificati di

Test su semi scarificati				
Anno di raccolta	2001	2002	2003	2004
Ritardo di germinazione in giorni	2	2	3	1
T50 in giorni	10.5	7.3	17.6	4.3
Germinazione totale	55	70	60	85
Giorni per raggiungere la germinazione totale	21	11	24	22
Test su semi non scarificati				
Anno di raccolta	2001	2002	2003	2004
Ritardo di germinazione in giorni			20	7
T50 in giorni			23	17
Germinazione totale	0	0	25	55
Giorni per raggiungere la germinazione totale			31	31

Tab.2. Parametri di germinazione di *Halimium balimifolium*.

Halimium balimifolium (55-60%) sono comunque piuttosto buone e confermano che le condizioni di conservazione e di germinazione adottate siano state complessivamente buone. Infatti il Centro per le Risorse Genetiche dei Paesi Bassi considera come adeguati ad essere conservati i lotti che, in ingresso, hanno un valore minimo di germinazione del 60%. (Hoekstra et al., 2003),

I risultati dei test hanno quindi permesso di stabilire dei protocolli di germinazione per la reintroduzione, avvenuta nel 2010 con *Halimium balimifolium* a seguito di un progetto finanziato da MIUR e Regione Toscana, realizzato con la partecipazione delle scuole superiori di Livorno.

BIBLIOGRAFIA

AA.VV., 2006. *Manuale per la raccolta, studio, conservazione e gestione ex situ del germoplasma*. APAT, Roma, 244 pp.

ARRIGONI V., 2003. Le Centauree italiane del gruppo "*Centaurea paniculata* L.". *Parlatorea*, 6: 49-78.

BASKIN C.C., BASKIN J.M., 2001. *Seeds Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic Press, San Diego, 667 pp.

BERTACCHI A., KUGLER P. C., LOMBARDI T., MANNOCCI M., MONALDI M., SPINELLI P., 2005. *Prodromo della flora vascolare della provincia di Livorno*. Edizioni ETS, Pisa, 401 pp.

CARUEL T., 1860. *Prodromo della flora toscana*. Le Monnier, Firenze, 767 pp.

CONTI F., MANZI A., PEDROTTI F., 1992. *Libro rosso delle piante d'Italia*. Ministero dell'Ambiente, Ass. Ital. per il WWF e SBI, Roma, 637 pp.

CONTI F., MANZI A., PEDROTTI F., 1997. *Liste rosse regionali delle piante d'Italia*. WWF e SBI, Camerino.

ESCRIBA BAEZA M.C., ARREGUI J.M., LAGUNA E., 2007. Germinacion de *Cistus heterophyllus* Desf. Subsp. *carthaginensis* (Pau) M.B. Crespo e Mateo, taxon gravemente amenazado en la Comunidad Valenciana. *Lazaroa*, 28: 101-107.

FALK D.A., 1990. Integrated conservation strategy for endangered plants. *Natural Areas Journal*, 7:118-123.

FALK D.A., 1987. Integrated strategy for conserving plant genetic diversity. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 77: 38-47.

GUERRANT E.O. JR., RAVEN A., 2003. *Supporting in situ conservation: The Berry Botanic Garden, an ex situ regional resources in an integrated conservation community*. In: R.D. Smith, J.B. Dickie, S.H. Linington, H.W. Pritchard and R.J. Probert (eds.), *Seed Conservation: turning science into practice*. London Royal Botanic Garden, Kew, pp. 869-878.

HOEKSTRA R., VAN HINTUM, T.J.L., DE GROOT L.C., 2003. *Seed Conservation at the Centre for Genetic Resources, The Netherlands*. In: R.D. Smith, J.B. Dickie, S.H. Linington, H.W. Pritchard and R.J. Probert (eds.), *Seed Conservation: turning science into practice*. Royal Botanic Garden, Kew, pp. 897-900.

PEREZ GARCIA F., PITA VILLAMIL J. M., 1999. Ecofisiologia de la germinacion de las jara (genero *Cistus*). *Red Quercus*, 136: 49.

PIGNATTI S., 1982. *Flora d'Italia*. Edagricole, Bologna, 2324 pp.

WALTER K.S., GILLET H.J. (eds.), 1998. *1997. IUCN Red List of Threatened Plants*. IUCN, Gland, 862 pp.

ROYAL BOTANIC GARDENS KEW. Seed Information Database. Release 7.1, May 2008. <http://data.kew.org/sid/sidsearch.html> (accessed: 2011).