

LIFE GESTIRE 2020

Nature Integrated Management to 2020

Azione C18

Conservazione ex-situ e reintroduzione di specie vegetali (All. II e IV DH)

RELAZIONE ATTIVITÀ CFA ANNO 2019

A cura di
Roberta M. Ceriani



CENTRO FLORA AUTOCTONA

Centro Flora Autoctona della Regione Lombardia
Parco Monte Barro
Via Bertarelli n. 11
23851 Galbiate (LC)



PARCO MONTE BARRO

Via Bertarelli, 11 È Galbiate (LC)



Progetto LIFE IP GESTIRE 2020 - Azione C18

Conservazione ex-situ e reintroduzione di specie vegetali (All. II e IV DH)



RELAZIONE ATTIVITÀ CFA ANNO 2019

Indice

Premessa	2
Attività A - Richiesta di autorizzazione	4
Attività B - Raccolta del materiale di propagazione in natura	5
Attività C - Conservazione dei semi presso la LSB	10
Attività D - Messa a punto di protocolli di propagazione	11
Nuovi protocolli	11
Protocolli sviluppati da altri soggetti, ma coordinati dal LIFE	21
Protocolli esistenti oggetto di verifica	24
Attività F - Verifica della capacità germinativa di <i>Saxifraga tombeanensis</i>	25
Bibliografia	27

La presente relazione è stata redatta con i contributi di (in ordine alfabetico):

Thomas Abeli, Stefano Armiraglio, Guido Brusa, Marco Caccianiga, Roberta M. Ceriani, Simone Orsenigo, Simon Pierce, Graziano Rossi.

Per evitare confusione, la nomenclatura delle specie rispecchia quella riportata nel capitolato tecnico.

Foto di copertina, da sinistra a destra e dall'alto verso il basso:

Mannia triandra . foto G. Brusa; *Dracocephalum austriacum* . foto F. Mangili; *Marsilea quadrifolia* . foto G. Parolo; *Himantoglossum adriaticum* . foto S. Pierce; *Physoplexis comosa* . foto S. Pierce; *Linaria tonzigii* . foto A. Ferrario; *Eleocharis carniolica* . foto G. Brusa; *Saxifraga tombeanensis* . foto S. Armiraglio.

Premessa

Il Centro Flora Autoctona della Regione Lombardia (CFA), gestito dal Parco del Monte Barro è stato incaricato da ERSAF tramite procedura SINTEL, di partecipare all'azione C18 del LIFE IP GESTIRE 2020, relativa alla %Conservazione ex-situ e reintroduzione di specie vegetali (All. II e IV DH)+ Lincarico è stato affidato al CFA in virtù dell'esperienza maturata in circa 20 anni di attività nella propagazione *ex situ* di specie autoctone lombarde, nonché nella conservazione del germoplasma presso la Banca del Germoplasma delle Piante Lombarde (o *Lombardy Seed Bank*, LSB) che del CFA è parte integrante.

Secondo il capitolato tecnico associato all'incarico, il CFA, nel periodo 2019-2023, deve procedere allo svolgimento di 10 Attività riguardanti tutte o in parte le 27 specie floristiche incluse negli Allegati II e IV della Direttiva Habitat, presenti in Lombardia.

Le 10 Attività possono essere riassunte come segue:

- A) richiesta di autorizzazione al Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare per la raccolta e conservazione del germoplasma e conservazione *ex situ*.
- B) raccolta del materiale di propagazione in natura.
- C) conservazione nelle migliori condizioni di germinabilità degli *stock* raccolti, presso la Banca del Germoplasma delle Piante Lombarde.
- D) messa a punto di protocolli di propagazione per le specie indicate nella colonna %Protocolli e avvio alla coltivazione+del capitolato tecnico, conservando tutte le piante eventualmente prodotte.
- E) propagazione vera e propria con produzione di piante radicate in vaso.
- F) assistenza tecnica per la verifica della reale capacità germinativa *in situ* di *Saxifraga tombeanensis*.
- G) assistenza tecnica a reintroduzioni e/o rafforzamenti.
- H) assistenza tecnica e produzione di materiale vegetale per la realizzazione di 3 %Display Garden+.
- I) collaborazione nella stesura del %Rapporto sui risultati conseguiti con l'azione C18 per il miglioramento dello stato di conservazione delle specie vegetali+.
- J) collaborazione nell'organizzazione nell'ultimo anno di progetto di un *workshop*.

Come consuetudine del CFA, per la realizzazione delle Attività previste, oltre al proprio personale e alle proprie strutture, si è deciso di fare ricorso ad esperti per le singole specie e/o per specifici gruppi tassonomici, afferenti a istituti di ricerca lombardi e/o liberi professionisti, di nota e riconosciuta esperienza. Sono stati pertanto formalmente coinvolti nell'azione:

- Università degli Studi di Milano - Dip.to di Bioscienze, rif. Prof. Marco Caccianiga, per *Dracocephalum austriacum*
- Università degli Studi di Milano - Dip.to di Scienze Agrarie e Ambientali, rif. Dott. Simon Pierce, per *Himantoglossum adriaticum* e *Liparis loeselii*
- Università degli Studi di Pavia - Dip.to di Scienze della Terra e dell'Ambiente, rif. Prof. Graziano Rossi, per *Marsilea quadrifolia* ed *Isoetes malinverniana*
- Museo Civico di Scienze Naturali - Comune di Brescia, rif. Dott. Stefano Armiraglio, per *Saxifraga tombeanensis*
- Dott. Biol. Guido Brusa, libero professionista ed esperto briologo, per *Buxbaumia viridis*, *Dicranum viride*, *Hamatocaulis vernicosus*, *Mannia triandra*, *Riccia breidleri*.

Nei paragrafi che seguono viene descritto quanto svolto relativamente alle Attività A, B, C, D, F; le restanti attività saranno avviate nei prossimi anni e/o sono già esplicitamente previste per l'ultima fase di progetto.

Pur non essendo prevista un'attività specifica dedicata in generale alla divulgazione, il personale del CFA e/o i collaboratori esperti sopra citati hanno partecipato alle iniziative divulgative organizzate e segnalate dal committente ERSAF; in particolare si evidenziano:

- 11 luglio 2019: inaugurazione della Mostra "Lombardia un tesoro di Biodiversità" presso l'Orto Botanico Alpino "Rezia" di Bormio (SO);
- 19 settembre 2019: Seminario Life IP Gestire 2020 "La flora in Direttiva Habitat: azioni di conservazione" presso l'Orto Botanico Città Studi di Milano.

Si precisa infine che, in merito all'attività H, il personale del CFA ha provveduto a raccogliere germoplasma di alcune specie compagne di quelle oggetto di studio conservazione e propagazione *ex situ*. L'attività è stata effettuata in vista di un eventuale avvio della produzione di altre piante per l'allestimento di *Display Garden*. Questa produzione non è parte del presente incarico, essendo il CFA coinvolto solo nella fornitura di specie inserite nella Direttiva Habitat. Il CFA garantisce in ogni caso la disponibilità a collaborare per la realizzazione dell'attività H, con particolare riferimento all'individuazione di aziende florovivaistiche cui affidare la propagazione, e al necessario supporto tecnico. L'attività andrà comunque pianificata nel dettaglio insieme al committente ERSAF.



Figura 1: Capsule e semi di *Linaria tonzigii* al momento della raccolta (foto A. Ferrario).

Attività A - Richiesta di autorizzazione

Relativamente alla richiesta di autorizzazione al Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare, sulla base dell'art.16 della direttiva Habitat per la raccolta e conservazione del germoplasma e conservazione *ex situ*, si è verificato che le azioni oggetto dell'incarico fanno parte delle attività routinarie del CFA (raccolta e conservazione del germoplasma, ricerca e stesura di protocolli di coltivazione, coltivazione *ex situ* finalizzata ad interventi di reintroduzione s.l.), per le quali è già stato acquisito il permesso del Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare per la raccolta di flora di interesse comunitario a scopo scientifico in deroga alla normativa vigente.

Come da prassi CFA, il permesso è stato esteso ai collaboratori interni ed esterni coinvolti nel progetto e precisamente (in ordine alfabetico):

Stefano Armiraglio - Museo Civico di Scienze Naturali di Brescia

Jessica Bellingardi - Parco Monte Barro/CFA

Mario Beretta - Università degli Studi di Milano, Dip.to di Bioscienze

Guido Brusa - libero professionista ed esperto briologo

Marco Caccianiga - Università degli Studi di Milano, Dip.to di Bioscienze

Roberta M. Ceriani - Parco Monte Barro/CFA

Mario Ferrari - Museo Civico di Scienze Naturali di Brescia

Simon Pierce - Università degli Studi di Milano, Dip.to di Scienze Agrarie e Ambientali

A questi sono stati aggiunti anche i permessi concessi al seguente personale ERSAF:

Claudio Bertella - ERSAF, Ufficio di Gargnano (BS)

Battista Ghidotti - ERSAF, Ufficio di Gargnano (BS)

Vincenzo Ghidotti - ERSAF, Ufficio di Gargnano (BS)

Gli esperti dell'Università degli Studi di Pavia confermano che il Dip.to di Scienze della Terra e dell'Ambiente è in possesso di autorizzazione ministeriale per la coltivazione di *Isoetes malinverniana* e *Marsilea quadrifolia*.

In questo contesto appare opportuno segnalare anche:

- il permesso acquisito dall'Ufficio della Natura e del Paesaggio della Repubblica e Cantone Ticino (CH) per il campionamento di semi dalle popolazioni ticinesi di *Liparis loeselii* e *Cypripedium calceolus*, a favore di R.M Ceriani, J. Bellingardi e S. Pierce a decorrere dal 19 giugno 2019 fino al termine del presente progetto;
- il permesso acquisito dall'Ufficio Svizzero per l'Ambiente e la Natura della Repubblica e Cantone Grigioni (CH), per il campionamento di semi di *Dracocephalum austriacum*, a favore del Prof. Marco Caccianiga e collaboratori, per le proprie ricerche in modo indipendente dal presente progetto.

Attività B - Raccolta del materiale di propagazione in natura

Il personale del CFA così come ciascuno degli esperti delle singole specie o dei gruppi di specie, ha curato direttamente la raccolta del materiale di propagazione, differenziato a seconda dei *taxa* considerati.

Per quanto riguarda le **Briofite**, la raccolta di materiale vegetale ha riguardato le specie oggetto di propagazione sperimentale e redazione di nuovi protocolli di coltivazione (v. Attività D) e precisamente *Hamatocaulis vernicosus*, *Mannia triandra* e *Riccia breidleri*. Per tutte le specie sono state prelevate in natura porzioni di materiale vegetativo, in piccolissime quantità per non intaccare la capacità di sopravvivenza delle singole popolazioni (Tabella 1); il materiale vegetativo delle diverse provenienze è stato mantenuto separato nelle varie fasi di propagazione sperimentale.

Per le **Pteridofite**, *Isoetes malinverniana* e *Marsilea quadrifolia* si è proceduto tenendo conto del materiale riproduttivo disponibile presso il Dipartimento di Scienze della Terra e dell'Ambiente dell'Università degli Studi di Pavia sotto la supervisione del Prof. Graziano Rossi.

Per quanto riguarda *Isoetes malinverniana*, il materiale di partenza non necessita di essere raccolto in natura, in quanto già disponibile presso l'Università di Pavia (Orto Botanico), conservato *ex situ* in coltivazione, e acquisito nel tempo in altre occasioni dall'area della Pianura Padana. Da questo materiale è infatti possibile prelevare spore prodotte da individui maturi o giovani piante da trapiantare per l'uso che se ne intende poi fare. Sulle caratteristiche genetiche della specie, Gentili *et al.* (2010a) evidenziano come la diversità tra popolazioni sia incredibilmente bassa, quasi nulla, più alta entro una popolazione che tra popolazioni diverse, addirittura; quindi non avrebbe senso tenerle separate in fase di utilizzo a scopo di traslocazione e anzi un certo mescolamento può essere favorevole per aumentare la *fitness* stessa della specie in fase di ricostituzione o rafforzamento di una popolazione lombarda in natura.

Considerazioni analoghe riguardano *Marsilea quadrifolia*: il materiale conservato *ex situ* in coltivazione presso l'Orto Botanico dell'Università di Pavia, è stato acquisito nel tempo in vari progetti dall'area della Pianura Padana (Gentili *et al.*, 2010b); le diverse provenienze sono mantenute opportunamente separate e distanziate tra loro. Dall'altro canto in un lavoro a cui ha collaborato l'Università di Pavia, Bruni *et al.* (2013) evidenziano come la diversità tra popolazioni sia molto bassa: anche in questo caso quindi, non avrebbe senso tenere le popolazioni separate per le attività di interesse conservazionistico.

Tabella 1: Dati identificativi delle popolazioni di provenienza del materiale di propagazione delle Briofite esaminate nel presente progetto.

Taxon	Località di raccolta	Quota s.l.m. (m)
<i>Hamatocaulis vernicosus</i>	San Gemolo, Valganna (VA)	459
<i>Hamatocaulis vernicosus</i>	Torbiera di Nesso (LC)	946
<i>Mannia triandra</i>	Porta di Prada, Mandello del Lario (LC)	1683
<i>Mannia triandra</i>	Monte Barro, Galbiate (LC)	673
<i>Mannia triandra</i>	Dosso della Fornace, Valdidentro (SO)	1548
<i>Mannia triandra</i>	Costabella, Varese (VA)	602
<i>Mannia triandra</i>	Fornace Brivio, Ispra (VA)	217
<i>Riccia breidleri</i>	Val Verva, Valdidentro (SO)	2235

Per quanto riguarda le **Spermatofite**, una fase preliminare svolta nella primavera 2019, è consistita nell'esame dei campioni di semi già presenti in LSB, con una valutazione dello stato generale e delle quantità disponibili.

Complessivamente sono conservate in Banca 51 accessioni riferite alle specie oggetto di studio, per un totale stimato di circa 191.000 semi (v. Tabella 2). Si è tuttavia rilevato che la rappresentatività è molto disomogenea, con specie altamente rappresentate in termini di quantità, località di raccolta e/o anni di raccolta (ad es. *Gladiolus palustris* e *Primula glaucescens*), specie mediamente rappresentate (ad es. *Linaria tonzigii* e *Physoplexis comosa*), e specie completamente assenti (ad es. *Aquilegia alpina* e *Dracocephalum austriacum*). Tra le specie non rappresentate nella LSB spiccano le orchidee che vengono comunque trattate in modo distinto rispetto alle altre Angiosperme, in quanto non sempre producono semi ortodossi (Hong *et al.*, 1998): di queste specie si parlerà in modo specifico più avanti in questo stesso paragrafo.

La pianificazione delle nuove raccolte è stata impostata tenendo conto delle accessioni già esistenti, ed esaminando i dati inerenti le popolazioni lombarde secondo Brusa *et al.* (2018): questo ha permesso di valutare la consistenza delle stesse e conoscerne l'ubicazione, individuando quelle più adatte al prelievo del germoplasma sia per la conservazione *ex situ* (Attività C), sia per la sperimentazione finalizzata alla definizione dei protocolli di coltivazione (Attività D).

A partire dalla tarda primavera sono quindi state effettuate numerose uscite in campo e sin dall'inizio vari operatori (anche esterni al progetto) hanno notato anomalie nella fenologia di alcune specie e/o in alcune località. Il 2019 è stato infatti caratterizzato da una stagione invernale piuttosto asciutta e relativamente calda, e da un mese di maggio freddo e umido con nevicate tardive sulle montagne lombarde. In alcuni siti sono state anche segnalate forti grandinate estive, con evidenti danni alle piante fiorite sottoposte a monitoraggio. Questi problemi di fioritura e fruttificazione hanno indotto a prendere la decisione di seguire meticolosamente solo alcune specie/popolazioni, in alcuni casi con controlli settimanali, rimandando e concentrando la raccolta del germoplasma delle altre al 2020.

Nella stagione 2019, si è inoltre deciso cautelativamente di non raccogliere in natura i semi di *Dracocephalum austriacum* dalle uniche due popolazioni lombarde segnalate (Brusa *et al.*, 2018): la raccolta dei semi lombardi verrà effettuata nei prossimi anni quando si avrà un buon grado di certezza sulle conoscenze relative alle procedure di propagazione *ex situ* (v. Attività D).

In Tabella 3 si riportano i dettagli dei lotti campionati, evidenziando anche le quantità in peso e una stima del numero di semi disponibili. Una volta raccolti, i semi sono stati infatti avviati a pulitura e caratterizzazione secondo le procedure in uso presso la LSB. Tali procedure prevedono tra l'altro la determinazione del peso medio di 1000 semi, parametro di un certo interesse anche per la valutazione dello stato di salute delle popolazioni di origine, nonché correlato alla capacità germinativa (Baskin & Baskin, 1998; Moles *et al.*, 2007; Linkies *et al.*, 2010).

L'attività di raccolta del germoplasma delle Spermatofite ha anche previsto una giornata in campo con il dipendente ERSAF Vincenzo Ghidotti, che è stato istruito dal personale CFA sulle corrette modalità di campionamento e conservazione temporanea dei semi di specie erbacee, con particolare riferimento alle specie rare e appunto a quelle oggetto di studio del presente progetto. Il Sig. Ghidotti ha provveduto poi in autonomia alla raccolta di semi delle specie *Primula spectabilis* e *Saxifraga tombeanensis* in alcune località della provincia di Brescia. I semi sono stati poi conferiti al CFA e trattati secondo le procedure in uso.

Tabella 2: Accessioni di semi già conservati presso la LSB prima dell'avvio del presente incarico.

Taxon	LOCALITA' RACCOLTA	DATA RACCOLTA	peso lotto (g)	stima n° semi
Daphne petraea	Tremalzo (BS)	2006	0,0321	17
Eleocharis carniolica	Ternate (VA)	2013	1,1533	6.885
Gladiolus palustris	Monte Barro (LC)	2007	147,2000	51.937
Linaria tonzigii	Corna Piana (BG)	2010	0,8666	2.132
Linaria tonzigii	Monte Ferrantino (BG)	2010	0,0850	209
Linaria tonzigii	Pizzo Arera (BG)	2001	0,1901	468
Linaria tonzigii	Pizzo Arera (BG)	2004	1,1216	4.407
Linaria tonzigii	Pizzo Arera (BG)	2004	0,5877	956
Linaria tonzigii	Pizzo Arera (BG)	2005	0,1526	455
Linaria tonzigii	Pizzo Arera (BG)	2006	1,8668	4.230
Linaria tonzigii	Pizzo Arera (BG)	2009	1,5443	3.471
Physoplexis comosa	Val Brona (CO)	2004	0,1648	2.891
Physoplexis comosa	Val Taleggio (BG)	2008	0,0512	473
Primula glaucescens	Baite di Mezzeno (BG)	2005	0,0235	63
Primula glaucescens	Colere (BG)	2009	0,1127	304
Primula glaucescens	Monte Ferrante (BG)	2015	1,9323	5.211
Primula glaucescens	Corni di Canzo (CO)	2005	0,0145	39
Primula glaucescens	Corni di Canzo (CO)	2004	0,0334	69
Primula glaucescens	Cornizzolo (CO)	2004	0,0165	20
Primula glaucescens	Cornizzolo (CO)	2005	0,0116	7
Primula glaucescens	Grigna Meridionale (LC)	2005	0,0790	213
Primula glaucescens	Grigna Settentrionale (LC)	2004	0,5146	1.772
Primula glaucescens	Monte Alben (BG)	2005	0,0544	147
Primula glaucescens	Monte Alben (BG)	2008	1,0625	3.618
Primula glaucescens	Monte Barro (LC)	2005	0,0080	22
Primula glaucescens	Monte Doppo (BS)	2005	0,1028	277
Primula glaucescens	Monte Ferrante (BG)	2008	2,0185	8.352
Primula glaucescens	Passo Croce Domini (BS)	2005	0,0254	69
Primula glaucescens	Passo Croce Domini (BS)	2005	0,1032	278
Primula glaucescens	Piani di Bobbio (LC)	2009	3,4794	11.977
Primula glaucescens	Piani di Bobbio (LC)	2009	1,1553	3.116
Primula glaucescens	Pizzo Arera (BG)	2005	0,0243	66
Primula glaucescens	Pizzo Arera (BG)	2005	0,0753	203
Primula glaucescens	Pizzo Arera (BG)	2004	1,3884	4.843
Primula glaucescens	Pizzo Arera (BG)	2004	1,5989	5.523
Primula glaucescens	Pizzo Arera (BG)	2005	1,7076	4.766
Primula glaucescens	Pizzo Arera (BG)	2007	0,3783	990
Primula glaucescens	Pizzo Arera (BG)	2008	3,9577	14.658
Primula glaucescens	Pizzo Arera (BG)	2010	1,4299	4.721
Primula glaucescens	Pizzo Arera (BG)	2010	0,8445	3.928
Primula glaucescens	Pizzo Arera (BG)	2006	0,1955	904
Primula glaucescens	Pizzo Arera (BG)	2004	0,3569	963
Primula glaucescens	provincia di Brescia	2004	0,1090	400
Primula glaucescens	Sodadura (BG)	2009	6,4750	15.589
Primula glaucescens	Val Taleggio (BG)	2005	0,0222	60
Primula spectabilis	Monte Manos (BS)	2005	0,9549	3.665
Primula spectabilis	Passo del Berga (BS)	2005	0,7957	2.841
Saxifraga presolanensis	Monte Ferrante (BG)	2009	0,1557	3.638
Saxifraga presolanensis	Monte Ferrante (BG)	2008	0,0794	1.855
Saxifraga tombeanensis	Cocca d'Idro (BS)	2004	0,3821	4.660
Saxifraga tombeanensis	Monte Caplone (BS)	2006	0,1248	3.120

Tabella 3: Lotti di semi raccolti e acquisiti dal CFA nella stagione vegetativa 2019.

Taxon	LOCALITA' RACCOLTA	DATA RACCOLTA	peso lotto (g)	stima n° semi
<i>Eleocharis carniolica</i>	Besnate (VA)	2019	1,2296	8.975
<i>Linaria tonzigii</i>	Pizzo Arera (BG) lotto A	2019	14,8356	37.730
<i>Linaria tonzigii</i>	Pizzo Arera (BG) lotto B	2019	0,0885	523
<i>Physoplexis comosa</i>	Bellagio (CO)	2019	0,3656	5.283
<i>Primula glaucescens</i>	Pizzo Arera (BG)	2019	7,5833	33.495
<i>Primula glaucescens</i>	Monte Doppo (BS)	2019	0,0305	134
<i>Primula spectabilis</i>	Corna Rossa (BS)	2019	0,1381	858
<i>Primula spectabilis</i>	Dosso Alto (BS)	2019	3,2271	12.725
<i>Primula spectabilis</i>	Tremalzo (BS)	2019	27,7361	107.783
<i>Primula spectabilis</i>	Turano (BS)	2019	1,0010	4.227
<i>Saxifraga tombeanensis</i>	Cadria (BS)	2019	0,0177	610
<i>Saxifraga tombeanensis</i>	Corna Rossa (BS)	2019	0,0115	301
<i>Saxifraga tombeanensis</i>	Idro (BS)	2019	0,0022	54
<i>Saxifraga tombeanensis</i>	Tremalzo, Corno della Marogna (BS)	2019	0,0153	279

Per quanto riguarda le **Orchidee**, la produzione di semi in natura è strettamente associata al successo nell'impollinazione: per alcune specie è pertanto necessaria la fecondazione manuale per aumentare le probabilità di una fruttificazione ottimale. Di seguito si descrive quanto effettuato per le singole specie oggetto di studio.

Nel caso di *Cypripedium calceolus*, sono state monitorate 6 popolazioni, di cui una in Svizzera secondo le indicazioni e le autorizzazioni dall'Ufficio della Natura e del Paesaggio della Repubblica e Cantone Ticino (CH). La raccolta dei semi è stata effettuata in due popolazioni in provincia di Sondrio previa impollinazione manuale (Figura 2) e complessivamente sono stati campionati 4 frutti con semi immaturi e 10 con semi maturi. Si segnala che gli apparati vegetativi di una popolazione sita in provincia di Bergamo, sono stati distrutti da una grandinata nel mese di giugno: un successivo controllo nel mese di luglio ha evidenziato che non c'è stata ripresa da parte della popolazione.

Figura 2: Impollinazione manuale di *Cypripedium calceolus* (foto S. Pierce; 3/6/2019).

Per *Himantoglossum adriaticum* sono state individuate e controllate 3 popolazioni e in 2 di queste è stata effettuata l'impollinazione manuale, con il successivo campionamento di 60 frutti (Figura 3).

Liparis loeselii è stata osservata e monitorata in tre popolazioni, inclusa una in Svizzera secondo le indicazioni e le autorizzazioni dall'Ufficio della Natura e del Paesaggio della Repubblica e Cantone Ticino (CH). Non essendo note la fenologia e le modalità di maturazione dei frutti di questa specie, è stato effettuato un monitoraggio serrato di una popolazione nel periodo giugno - settembre (Figura 4). Al termine del monitoraggio si è proceduto con il campionamento di 10 frutti.

Per quanto riguarda *Spiranthes aestivalis*, le piante, individuate in un'unica popolazione, non hanno prodotto frutti o semi e non è stato pertanto possibile raccogliere il germoplasma per la propagazione sperimentale *ex situ* (Figura 5).



Figura 3: Impollinazione manuale di *Himantoglossum adriaticum* a sinistra, e frutto maturo a destra (foto S. Pierce; 3/6/2019).



Figura 4: Sviluppo di *Liparis loeselii* nel periodo giugno-settembre 2019 (foto S. Pierce).



Figura 5: Individui di *Spiranthes aestivalis* in fiore nel mese luglio 2019 (A), e infiorescenze secche non sviluppate in infruttescenze nel successivo mese di agosto (B, C; foto S. Pierce).

Attività C È Conservazione dei semi presso la LSB

L'attività C prevede la conservazione nelle migliori condizioni di germinabilità degli stock raccolti presso la Banca del Germoplasma delle Piante Lombarde (Lombardy Seed Bank, LSB).

I semi raccolti nel 2019 sono destinati per lo più alla sperimentazione per la definizione dei protocolli di coltivazione, come meglio descritto nell'attività D. Al momento della stesura della presente relazione, si sta valutando se già da quest'anno avviare alla conservazione definitiva in banca del germoplasma parte dei lotti più numerosi, come ad esempio *Linaria tonzigii*, località Pizzo Arera (BG), e *Primula spectabilis*, località Tremalzo (BS). La procedura standard prevede il congelamento dei semi essiccati suddivisi nei duplicati Active e Base, identificati con codice univoco e inseriti in congelatori distinti.

Attività D - Messa a punto di protocolli di propagazione

Secondo il capitolato tecnico di incarico, la messa a punto di protocolli di coltivazione è diversificata a seconda delle specie considerate prevedendo le seguenti 3 categorie:

- Nuovi protocolli e avvio alla coltivazione: *Hamatocaulis vernicosus*, *Mannia triandra*, *Riccia breidleri*; *Isoetes malinverniana*, *Marsilea quadrifolia*; *Dracocephalum austriacum*, *Eleocharis carniolica*, *Himantoglossum adriaticum*, *Liparis loeselii*, *Saxifraga presolanensis*.
- Protocolli sviluppati da altri soggetti, ma coordinati dal LIFE: *Primula spectabilis*, *Gladiolus palustris*, *Cypripedium calceolus*, *Spiranthes aestivalis*.
- Protocolli esistenti da verificare per il controllo della vitalità dei semi conservati in LSB (Attività C) e per la produzione di piante ai fini delle Attività E e H: *Linaria tonzigii*, *Physoplexis comosa*, *Primula glaucescens*.

Tale suddivisione viene mantenuta nei paragrafi che seguono.

Nuovi protocolli

Per le specie di cui non è risultato disponibile un protocollo di coltivazione ottimizzato e/o sono note solo informazioni frammentarie, non verificate sulle popolazioni lombarde, si è proceduto innanzitutto alla verifica del materiale bibliografico esistente anche relativo a specie diverse, congeneri o affini s.l. Per ogni specie si è poi impostata una procedura sperimentale specifica, già attivata e/o in fase di attivazione da parte dei singoli gruppi di ricerca coinvolti; di seguito si sintetizza lo stato della sperimentazione al momento della stesura della presente relazione.

Briofite

Hamatocaulis vernicosus

Per il muschio *Hamatocaulis vernicosus*, la propagazione sperimentale ha previsto l'allestimento di box forati alla base, contenenti torba ed inseriti a loro volta in contenitori più ampi, pieni di acqua piovana dove sono state immerse rocce calcaree. Ciascun box di coltivazione è stato coperto da un vetro trasparente lasciando una fessura di ca. 1 cm per il passaggio dell'aria. La propagazione è stata eseguita per via vegetativa disponendo sulla torba frammenti di muschio della lunghezza di 5-10 mm: alcuni frammenti erano pertanto dotati di apice vegetativo, mentre altri ne erano privi. La distribuzione dei frammenti è stata eseguita avendo cura che su ogni 1 cmq di torba ci fosse almeno un frammento. In Figura 6 si riporta la sequenza di sviluppo di *Hamatocaulis vernicosus* con cadenza più o meno mensile dal 28/03/2019 al 13/10/2019. Al momento attuale il muschio ha rallentato la crescita e ha assunto la tipica colorazione autunnale da *brown moss*.

Mannia triandra e Riccia breidleri

Per le due Marchantiales (epatiche a tallo), *Mannia triandra* e *Riccia breidleri*, la propagazione sperimentale ha previsto la preparazione di scatole in materiale plastico resistente con coperchio forato per il ricambio d'aria, contenente suolo prelevato nei siti di crescita delle specie e sterilizzato. Per *Mannia triandra* il substrato è pertanto caratterizzato da una componente elevata di argilla e da assenza di humus, ed è stato raccolto in presenza di rocce madre di natura carbonatica. Per *Riccia breidleri* si tratta invece di un substrato limoso a reazione acida. Per quanto riguarda la procedura di propagazione, per *Mannia triandra* si è provveduto alla semina di spore, mentre per *Riccia breidleri* la sperimentazione

ha previsto la distribuzione sul substrato di frammenti di tallo della lunghezza di qualche millimetro ciascuno con un unico apice vegetativo (propagazione vegetativa). In entrambi i casi la crescita è stata ed è costantemente monitorata, come riportano nelle Figure 7 e 8 che mostrano le sequenze di sviluppo rispettivamente di *Mannia triandra* e *Riccia breidleri*, a cadenza più o meno mensile dalla primavera 2019 al 13/10/2019. Al momento, *Mannia triandra* ha terminato la crescita vegetativa e iniziato la produzione dei gametangi, mentre *Riccia breidleri* ha inaspettatamente prodotto nuovi sporofiti.

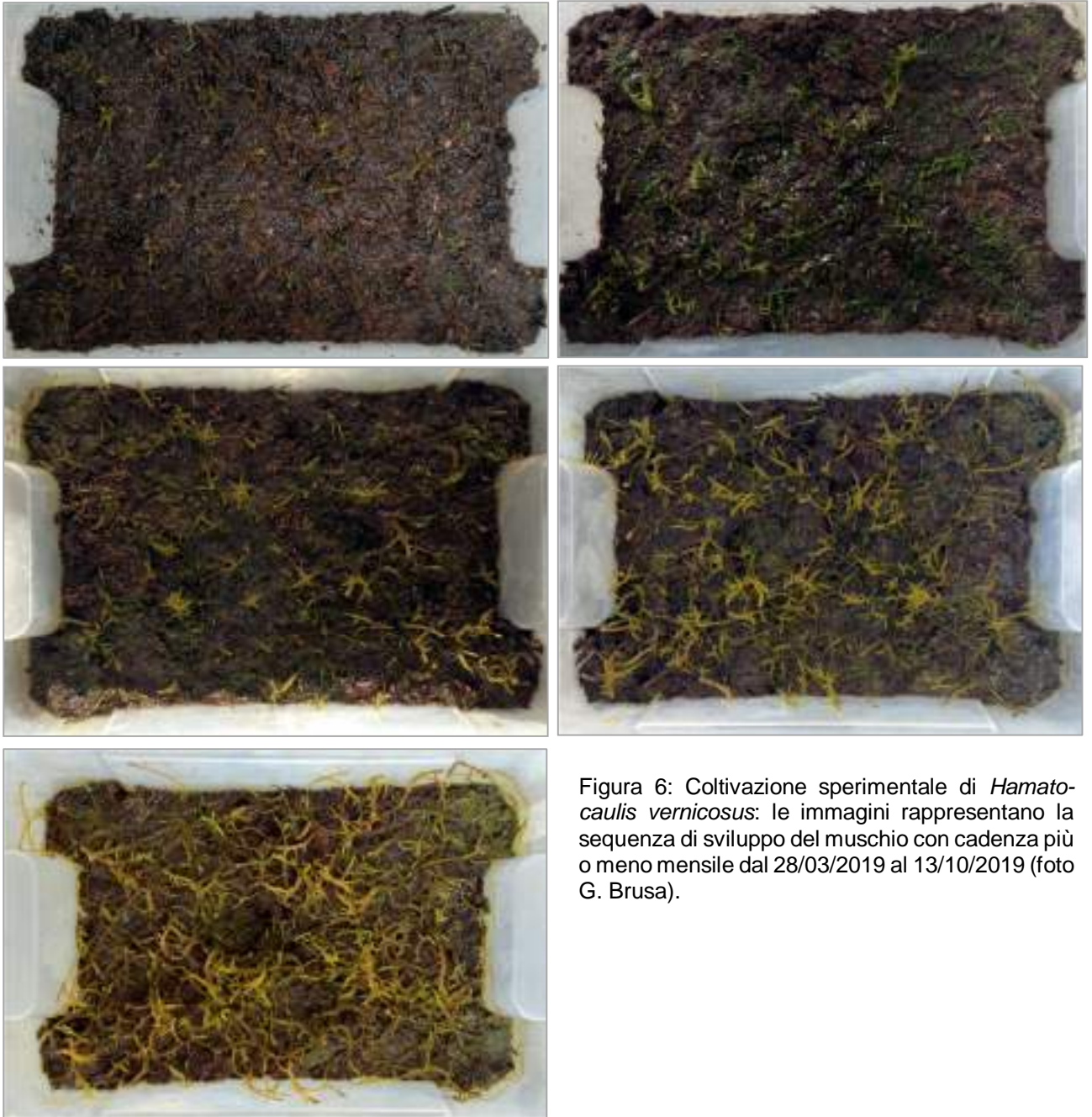


Figura 6: Coltivazione sperimentale di *Hamatocaulis vernicosus*: le immagini rappresentano la sequenza di sviluppo del muschio con cadenza più o meno mensile dal 28/03/2019 al 13/10/2019 (foto G. Brusa).

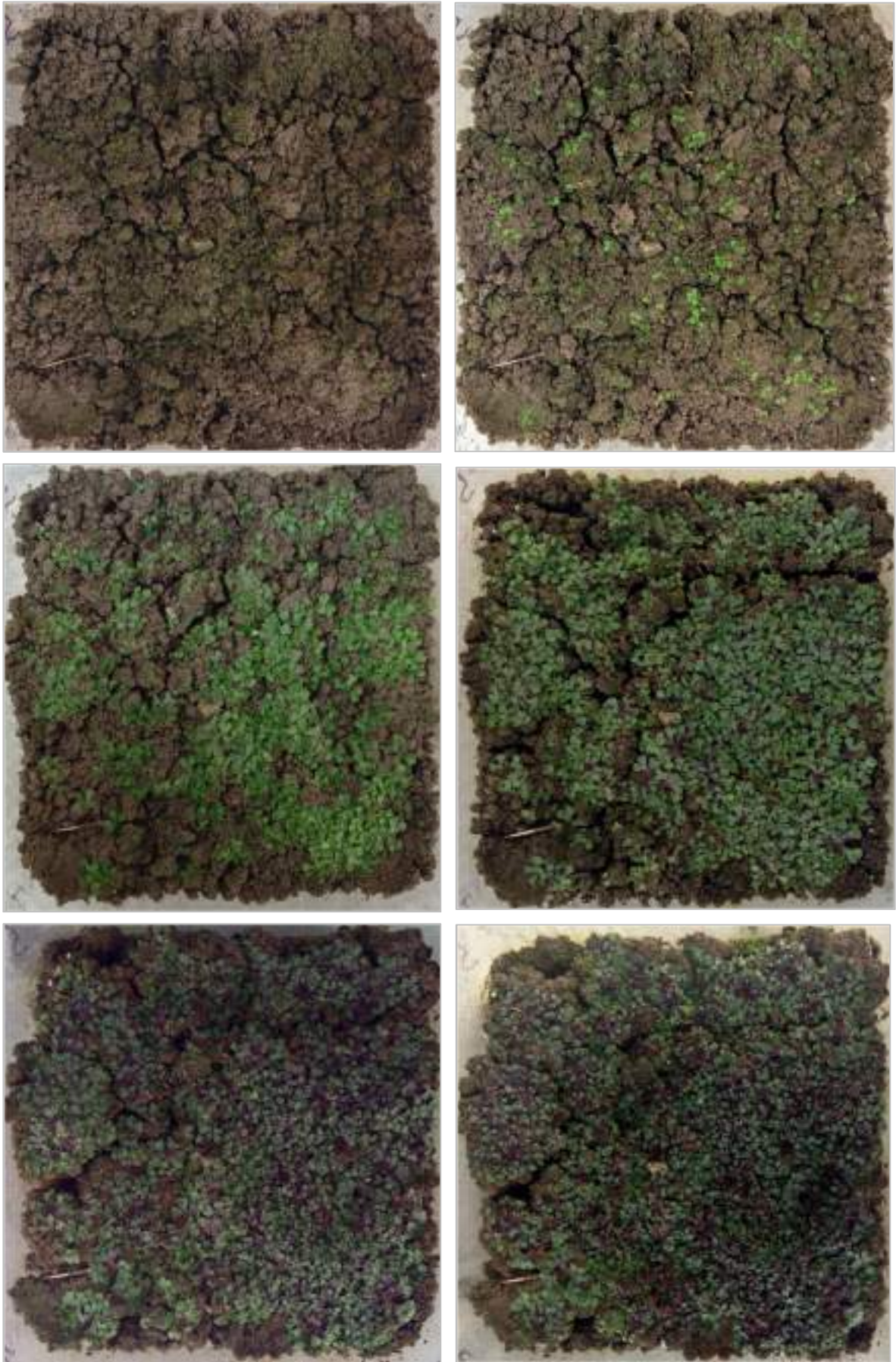


Figura 7: Coltivazione sperimentale di *Mannia triandra*: le immagini rappresentano la sequenza di sviluppo dell'epatica con cadenza più o meno mensile dal 07/06/2019 al 13/10/2019 (foto G. Brusa).

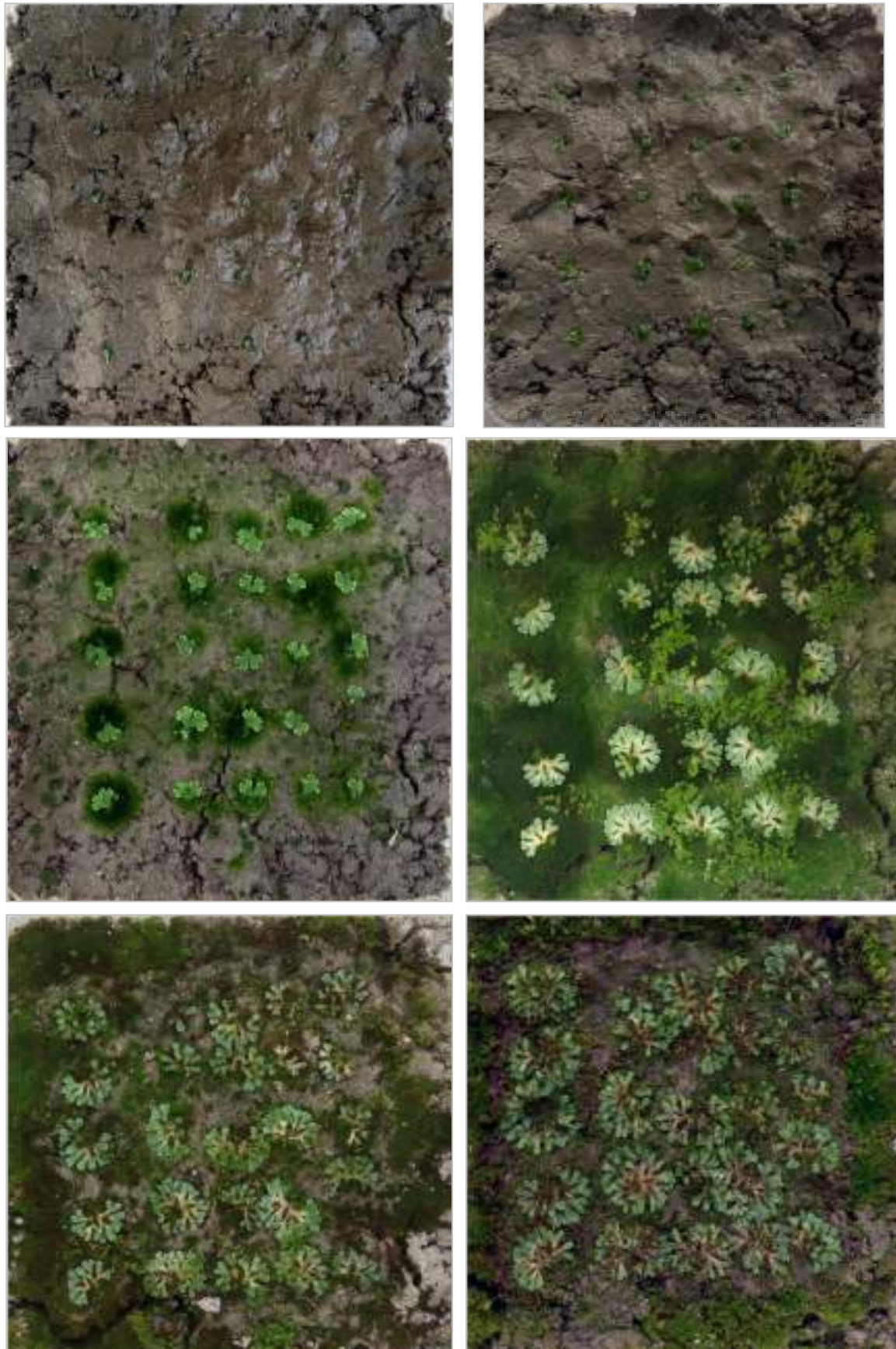


Figura 8: Coltivazione sperimentale di *Riccia breidleri*: le immagini rappresentano la sequenza di sviluppo dell'epatica con cadenza più o meno mensile dal 29/05/2019 al 13/10/2019 (foto G. Brusa).

Pteridofite

Isoetes malinverniana

Ci si orienta con questo progetto verso una riproduzione per via sessuata, con spore, a partire dagli individui coltivati presso l'Università degli Studi di Pavia, da far nascere tali e quali (come sperimentato da alcuni Orti Botanici es. Università di Torino), oppure acquisendo le spore e passando da micropropagazione in Laboratorio (come sperimentato in una collaborazione Università di Pavia - Università di Torino; Figura 9). L'allevamento iniziale può essere fatto con successo anche utilizzando nelle prime fasi di crescita delle plantule dei piccoli acquari. Il trasbordo in vasche all'aperto può essere fatto con maggior successo in un secondo tempo, quando le plantule sono diventate almeno piantine. Le spore vanno raccolte normalmente nel tardo inverno, almeno in natura, quando il livello delle acque è normalmente molto basso; in ambiente controllato, tipo vivaio sommerso e in Orto Botanico, le spore possono essere raccolte praticamente a piacimento, seguendo ovviamente i ritmi di riproduzione della pianta e quando sono in effetti ben mature.

Le spore possono essere disseminate in un ambiente acquatico (es. un acquario) con al fondo sabbia e ghiaietto fine fine, molto ben controllato dall'operatore e posto in ambiente illuminato e non caldo. Nell'acquario può esserci un problema di formazione di alghe sulle pareti e sulle plantule, da tenere rimosse. Come sopra accennato, poi le plantule andranno trapiantate in esterno, in vasche con acqua sempre corrente e povera di nutrienti (Figura 9). Per essere sicuri che non vengano espianate dalla piccola corrente delle vaschette, in fase di trapianto si possono fissare meglio al substrato, usando ad es. una retina di metallo, a sua volta fissata al substrato sciolto ghiaioso/sabbioso con alcuni chiodi infissi in esso.

In alternativa, si può optare per la micropropagazione seguita da trapianto in acquario e/o vasche in esterno al momento idoneo (plantule/piantine). In tal senso si possono adottare per la micropropagazione i protocolli descritti in Abeli & Mucciarelli (2010).



Figura 9: Fasi nella propagazione di *Isoetes malinverniana*: propagazione *in vitro* e sviluppo in vasche all'aperto con acqua corrente (foto G. Rossi).

Marsilea quadrifolia

Ci si orienta con questo progetto verso una riproduzione di tipo vegetativo, a partire dagli abbondanti rizomi che questa pianta produce, anche se spesso in natura (e anche in coltura) si sviluppano gli sporangi, sui quali però i ricercatori dell'Università degli Studi di Pavia non hanno mai sviluppato esperienza di riproduzione.

I rizomi di *Marsilea quadrifolia* vengono prelevati nella prima primavera, o volendo nel periodo autunnale, da zolle contenenti una buona quantità della pianta (già in coltura all'Orto Botanico di Pavia entro vasche), formanti un fitto e compatto feltro uniforme, in genere coprente tutta la superficie della vasca stessa. Queste zolle, successivamente, vengono suddivise mediante taglio delle stesse; vengono quindi immerse una ad una in un recipiente largo e non troppo alto, con acqua (meglio se corrente), al fine di lavare le piante fino ad ottenere rizomi ripuliti dalla terra, ben visibili. In questo modo si possono rimuovere, oltre alla terra, anche eventuali diaspore (semi, spore, pezzi di pianta) di altre specie, potenzialmente abili a riprodursi, che potrebbero inquinare le piante da reinmettere un giorno in natura e i siti stessi, magari introducendo *taxa* esotici o comunque non idonei ai siti di impianto. I rizomi di partenza sono poi suddivisi in parti di lunghezza limitata (tipo 4-6 cm di lunghezza), mentre le foglie se presenti vengono recisi con una forbice verso la base del picciolo. Anche radici troppo lunghe sono accorciate con un taglio netto.

Le nuove piantine così ottenute vengono poi coltivate in vaso (tendenzialmente di forma quadrata), oppure, meglio, in gabbiette in plastica forata, con terriccio idoneo torboso e ricco di sostanza organica, mescolato preventivamente con sabbia di fiume e una piccola percentuale di pomice o altro inerte. I contenitori vengono mantenuti in coltura ancora per parecchio tempo, fino al punto in cui si può mettere in natura o per ulteriori attività di riproduzione, nelle stesse vasche nere da muratore della prima fase di allevamento, riempite d'acqua; si avrà cura, nel caso di permanenza molto prolungata (oltre l'anno) di toglierle periodicamente dalla vasca principale e ridurre in lunghezza l'apparato radicale che eventualmente sporgesse troppo da vaschette/vasi.

Al momento sono state realizzate solo prove dimostrative per mettere a punto le tecniche qui illustrate.



Figura 10: Fasi nella propagazione di *Marsilea quadrifolia* (foto in alto G. Rossi; in basso A. Corli).

Spermatofite

Dracocephalum austriacum

Per la specie *Dracocephalum austriacum*, le attività svolte nell'anno 2019 sono state rivolte principalmente al proseguimento dello studio già avviato presso l'Orto Botanico Città Studi, con semi prelevati in natura dalla popolazione di Ardez (Canton Grigioni, CH), previa autorizzazione dell'Ufficio Svizzero per l'Ambiente e la Natura e alla presenza dell'esperto di flora locale, Angelika Abderhalden. Lo scopo è stato quello di effettuare test di germinazione in diverse condizioni per identificare un protocollo da applicare solo in un secondo tempo e a garanzia di successo, ai semi provenienti dalle stazioni lombarde. È stato inoltre proseguito il monitoraggio degli individui ormai adulti ottenuti con le semine del 2017 per valutarne le esigenze ecologiche, l'eventuale fioritura, i patogeni e le condizioni di crescita in Orto.

La specie ha mostrato un elevato tasso di germinazione (fino al 40%), ma anche una elevata mortalità delle plantule nelle fasi di acclimatazione. Questo rappresenta un limite alla semina in ambienti protetti (serra) che sembrano garantire tassi elevati di germinazione ma anche maggior mortalità. Una volta acclimatati, gli individui adulti attraversano periodiche fasi di buon accrescimento e di crisi con perdita talora totale della parte aerea (Figura 11). Determinante risulta la presenza di ristagno d'acqua, che non è tollerato neanche per brevi periodi. Questo comporta la necessità di monitorare le piante in corrispondenza degli eventi piovosi, soprattutto primaverili, rimuovendo i sottovasi. Di contro, coerentemente con l'habitat di origine, la specie tollera bene, anche in coltivazione, le temperature estive e i relativi momenti di aridità. Nella crescita in ambiente esterno è stata notata una spiccata appetibilità della specie da parte delle lumache, che hanno causato la perdita di numerosi individui.



Figura 11: Plantule di *Dracocephalum austriacum* in diverso stadio di sviluppo in ambiente controllato (serra riscaldata; foto M. Beretta e M. Caccianiga).

La fioritura, che si era verificata su più individui nel 2018, è avvenuta nel 2019 per un solo individuo della semina originale (Figura 12). Gli individui giovanili non fioriscono fino al secondo anno di vita. La fioritura non ha portato alla formazione di semi. Sarà importante indagare la presenza di insetti pronubi per la specie nell'ambiente dell'Orto Botanico. Al momento della stesura della presente relazione, gli individui presenti in Orto sono entrati in riposo invernale, con perdita della parte aerea tra ottobre e novembre (Figura 12). Verranno mantenuti in esterno per assicurare la necessaria vernalizzazione, importante per la successiva fioritura, evitando eccessivi ristagni idrici. Al risveglio vegetativo verrà valutato il tasso di mortalità invernale.



Figura 12: Individui di *Dracocephalum austriacum* in coltivazione presso l'Orto Botanico Città Studi: a sinistra pianta in fioritura; a destra piante in riposo invernale (foto M. Beretta e M. Caccianiga).

Eleocharis carniolica

Per quanto riguarda *Eleocharis carniolica*, la sperimentazione per la definizione del protocollo di coltivazione verrà avviata nel gennaio 2020 tenendo conto delle seppur scarse indicazioni bibliografiche esistenti (Brusa, comm pers.; Puchalski, 2014).

Himantoglossum adriaticum

I semi raccolti nell'estate 2019 sono stati seminati *in vitro* in condizioni di sterilità nel mese di settembre utilizzando il substrato sviluppato da Malmgren (1996) per le orchidee terrestri, modificato con 0.1 mM 6-benzilamminopurina come ormone stimolante, confrontato con un controllo senza l'aggiunta del ormone. Le capsule Petri sono attualmente sottoposte ad osservazione e per il momento non si segnalano fenomeni di germinazione.

Liparis loeselii

Ad oggi, i semi ottenuti da 5 frutti sono stati seminati *in vitro* in condizioni di sterilità; ulteriori semi sono stati seminati in tubi DeWitt (Figura 13). Inizialmente è stata prevista la propagazione utilizzando il substrato sviluppato da Vejsadová (2006) specificamente per *Liparis loeselii*: nella prova non è stato tuttavia possibile replicare un substrato solido a temperatura ambiente. È stato deciso allora di utilizzare il substrato proposto da Malmgren (1996) per le orchidee terrestri, modificato con 0.1 mM 6-benzylamminopurina come ormone stimolante, confrontato con un controllo senza l'aggiunta del ormone. Fino ad ora non è stato osservato alcun evento di germinazione, mentre le piastre prive di ormone sono risultate tutte contaminate da un fungo proveniente dai semi.

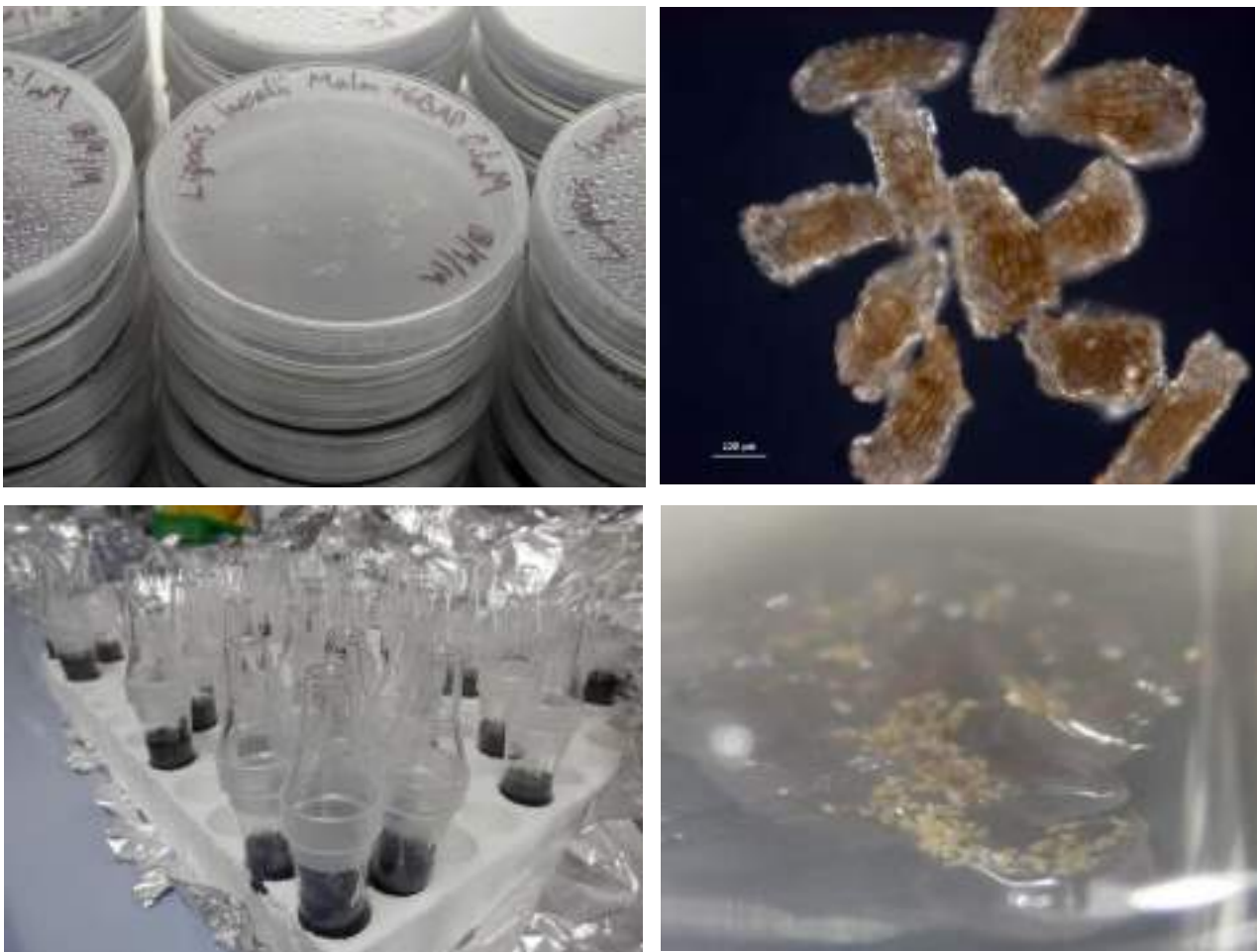


Figura 13. Semi di *Liparis loeselii* seminati in piastre Petri (in alto) e in tubi DeWitt (in basso; foto S. Pierce).

Saxifraga presolanensis

Per *Saxifraga presolanensis* si procederà nel 2020 alla verifica e ottimizzazione del primo protocollo di germinazione e propagazione *ex situ* già redatto dal CFA, che pur registrando tassi di germinazione intorno al 17%, evidenziava anche notevoli problemi di sviluppo delle plantule ed elevati tassi di mortalità (Ferrario & Ceriani, 2010).

Protocolli sviluppati da altri soggetti, ma coordinati dal LIFE

Cypripedium calceolus

Le indagini sulla propagazione *ex situ* di *Cypripedium calceolus* sono svolte dal Dip.to di Scienze Agrarie e Ambientali dell'Università degli Studi di Milano, nell'ambito del progetto *Cold&Warm - Cold-adapted species: lessons from the past to face future warming* (finanziamento LifeWatch Italy). Nel 2019 è stata effettuata una semina sperimentale *in vitro* in condizioni di sterilità con semi immaturi, subito dopo la raccolta in natura nel luglio 2019 (Figura 14). La semina è proceduta utilizzando il metodo di Ramsey (1998), con il substrato di Malmgren (1996). Si è posta particolare attenzione a mantenere una temperatura bassa (<25 °C) dopo la semina e successivamente ad esporre i semi ad un trattamento di gelo che simula i cambiamenti di temperatura ambientale graduale durante la stagione. Le capsule Petri riferite a questa sperimentazione sono al momento in fase di osservazione.

Per quanto riguarda i semi maturi, raccolti un mese dopo quelli immaturi, si predisporrà un esperimento per esaminare diversi metodi di interruzione della dormienza; l'esperimento è pianificato per gennaio 2020 e i semi sono attualmente conservati a 4°C.

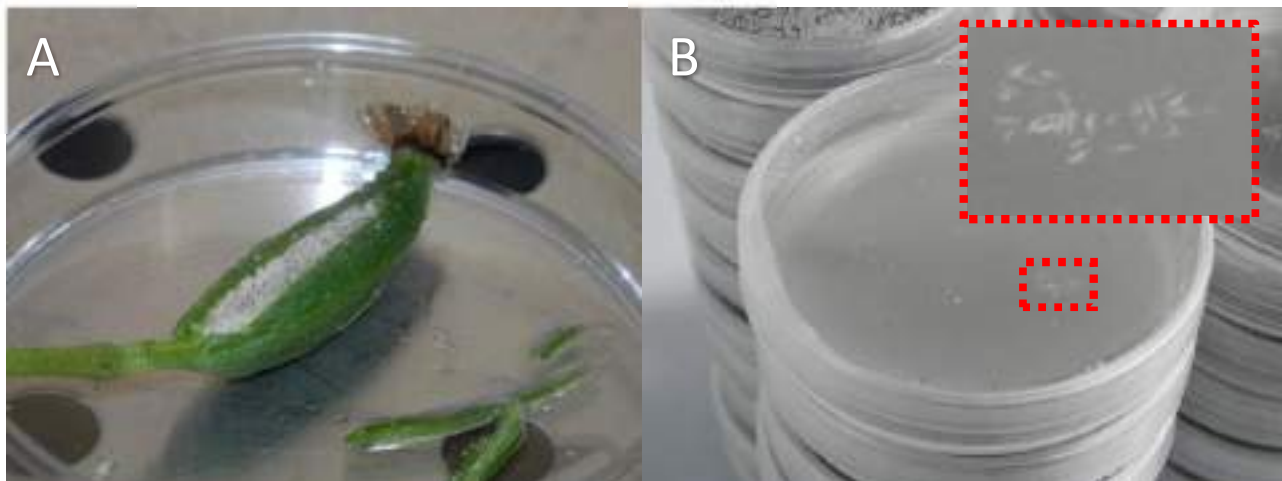


Figura 14: *Cypripedium calceolus*: semi immaturi seminati direttamente dal frutto (A) e in capsule Petri in condizioni di sterilità (B). (foto S. Pierce).

Gladiolus palustris

Riguardo alla specie *Gladiolus palustris*, prosegue presso le strutture del CFA, l'osservazione e la raccolta dati di un programma di propagazione sperimentale avviato nel novembre 2015 dal Parco Monte Barro nell'ambito del progetto Biodiversità 2015+ e ora seguito autonomamente dal personale CFA.

La germinazione dei semi di *Gladiolus palustris* e il successivo sviluppo delle piante e dei bulbi, appare molto lento, come peraltro tipico di molte geofite. La germinazione avviene infatti a circa 7 mesi dalla semina in terriccio e presenta tassi molto alti, anche fino al 100%. Dopo una stagione vegetativa i bulbi hanno dimensioni variabili, da molto piccoli (2-3 millimetri) e sottili (diam. 2 mm), a relativamente grossi (7-10 mm) e spessi (diam. 5-7 mm), come evidenziato in Figura 15. L'eterogeneità nelle dimensioni dei bulbi si osserva anche al termine della seconda stagione vegetativa, anche se accompagnata da un accrescimento generale degli individui.

Allo scopo di verificare l'efficacia del metodo di germinazione anche su semi conservati in banca del germoplasma, nel 2018 è stato avviato un test *ad hoc* su semi raccolti in natura nell'estate 2007 e congelati a partire dal settembre dello stesso anno. Il tasso di germinazione risulta più basso (70%) rispetto a quello ottenuto su semi freschi, e al termine della prima stagione vegetativa i bulbi appaiono sempre estremamente eterogenei per dimensioni e grado di sviluppo (Figura 16).

Per quanto riguarda le parti subaeree, le piccole piante sviluppano corte foglie lineari e chiaramente non sono ancora in grado di produrre fiori.



Figura 15: Eterogeneità nello sviluppo dei bulbi di *Gladiolus palustris*, dopo una stagione vegetativa (foto R.M. Ceriani, 02/10/2018).



Figura 16: Eterogeneità nello sviluppo dei bulbi di *Gladiolus palustris*, nati da semi conservati in banca del germoplasma per 11 anni. La foto è stata scattata al termine della prima stagione vegetativa (foto J. Bellingardi, 10/10/2019).

Primula spectabilis

Per quanto riguarda *Primula spectabilis*, il personale CFA ha avviato una sperimentazione per la definizione del protocollo di germinazione nell'autunno 2019: non sono note infatti le modalità di propagazione *ex situ* di questa specie e non ha alcun senso incrementare il numero di accessioni di germoplasma presso la LSB senza che sia poi possibile avviare test di germinazione almeno per il controllo della vitalità dei semi. Il protocollo è inoltre necessario per la produzione di piante per la realizzazione di Display Garden (Attività H). I test avviati a fine ottobre 2019, si basano in via preliminare ed esplorativa sull'applicazione del protocollo di germinazione *in vitro* della specie sorella *Primula glaucescens* (Cerabolini *et al.*, 2004), con ottimizzazione e affinamento specie specifico delle procedure, ed in particolare dei tempi di sterilizzazione superficiale dei semi. Al momento della stesura della presente relazione, si stanno registrando le prime germinazioni in alcune delle prove (Figura 17).



Figura 17: Plantule di *Primula spectabilis* germinate *in vitro* in condizioni di sterilità (foto J. Bellingardi; 22/11/2019).

Spiranthes aestivalis

Le indagini sulla propagazione *ex situ* di *Spiranthes aestivalis* sono svolte dal Dip.to di Scienze Agrarie e Ambientali dell'Università degli Studi di Milano, nell'ambito del progetto *Cold&Warm - Cold-adapted species: lessons from the past to face future warming* (finanziamento LifeWatch Italy). Tuttavia nel 2019 non è stato possibile procedere con la semina a causa della mancata produzione di frutti e semi in natura. Nel 2020 verrà effettuato un altro tentativo.

Protocolli esistenti oggetto di verifica

Per le specie *Linaria tonzigii*, *Physoplexis comosa* e *Primula glaucescens* sono già noti protocolli di coltivazione sviluppati in passato dal CFA (Cerabolini *et al.*, 2004; Pierce *et al.*, 2019). Questi protocolli vengono ora impiegati per le seguenti finalità:

- verificare la vitalità dei semi raccolti nel corso della stagione 2019;
- verificare la vitalità dei semi più vecchi presenti nella banca del germoplasma;
- produrre piante.

Attualmente sono in corso le fasi di germinazione *in vitro* in condizioni di sterilità di *Physoplexis comosa* e *Primula glaucescens* (Figura 18); i semi di *Linaria tonzigii* sono invece in fase di stratificazione secondo le procedure per l'interruzione della dormienza.

La coltivazione in corso permetterà eventualmente di apportare aggiustamenti nei protocolli esistenti. Tutte le informazioni saranno in un secondo tempo riorganizzate nel formato che verrà concordato con ERSAF per i protocolli di nuova definizione e per quelli sviluppati da altri soggetti, ma coordinati dal progetto LIFE.

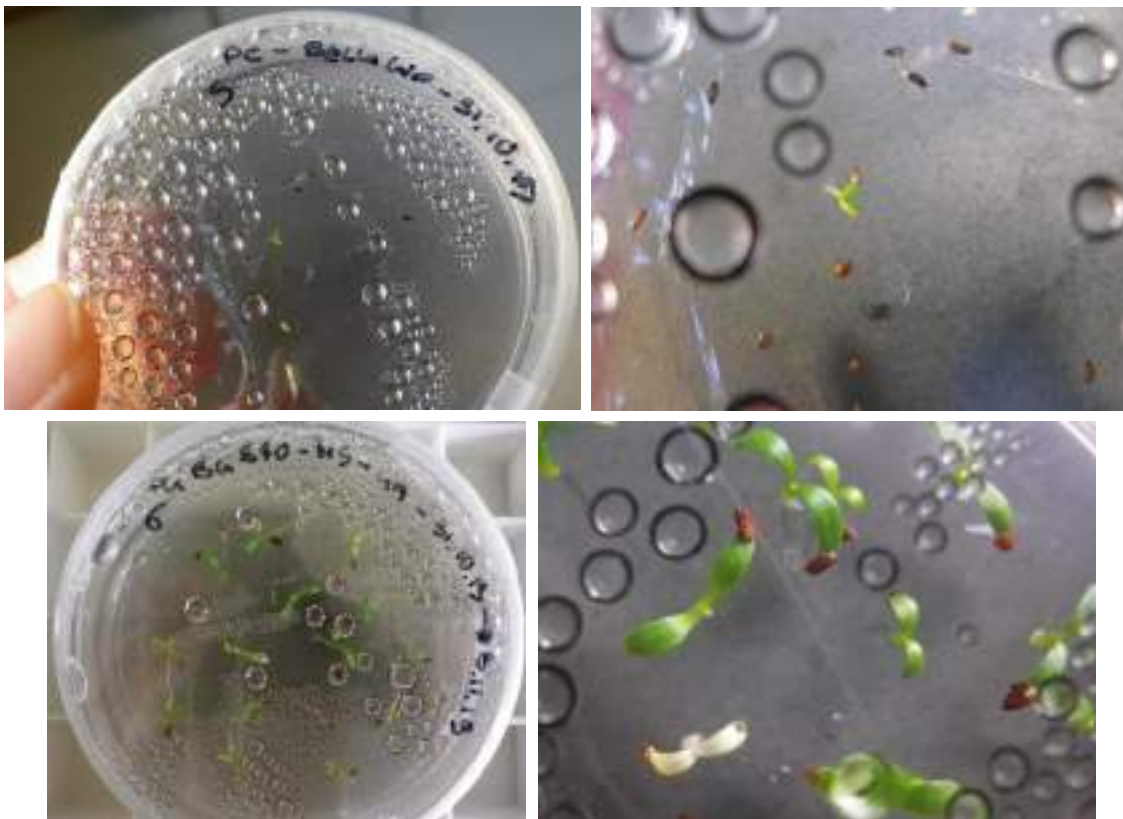


Figura 18: Plantule di *Physoplexis comosa* (in alto) e *Primula glaucescens* (in basso) germinate *in vitro* in condizioni di sterilità (foto J. Bellingardi; 22/11/2019).

Attività F - Verifica della capacità germinativa di *Saxifraga tombeanensis*

L'Attività F prevede la verifica della reale capacità germinativa *in situ* di *Saxifraga tombeanensis*, nonché lo studio della capacità di germinazione in laboratorio con la messa a punto di protocolli di coltivazione. Lo scopo è quello di procedere con il rafforzamento delle popolazioni esistenti e/o la reintroduzione della specie in alcune stazioni in cui la presenza in passato è testimoniata da dati provenienti da fonti bibliografiche ed attendibili (ad es. Arietti & Crescini, 1978).

L'Attività F viene svolta in stretta relazione con Dott. Stefano Armiraglio, curatore botanico del Museo Civico di Scienze Naturali di Brescia, nonché stretto collaboratore della Comunità Montana Parco Alto Garda Bresciano, nel cui territorio ricade la maggior parte delle stazioni lombarde note di *Saxifraga tombeanensis*.

Per quanto riguarda la stagione vegetativa 2019, l'attività ha riguardato innanzitutto il monitoraggio degli eventi di germinazione in natura, annotando la presenza di alcune presunte plantule e/o giovani individui di *Saxifraga tombeanensis* su di una parete rocciosa in località Cadria (BS; Figura 19): date le minuscole dimensioni degli individui, la loro osservazione continuerà nei prossimi anni, in modo da confermarne l'identificazione e monitorarne lo sviluppo.

Nel 2019 si è anche provveduto a campionare il germoplasma per avviare le prove di germinazione in laboratorio. Le raccolte sono state effettuate dal Dott. S. Armiraglio e dal Sig. Vincenzo Ghidotti in 4 diverse località. Nonostante i numerosi steli fruttiferi e capsule campionati, si è osservata una produzione di semi relativamente scarsa con in media 300 semi per località al momento della raccolta (Figura 20). Non è chiaro se questa sia la normale produzione di semi della specie, o se si tratti di una ridotta produzione associata alle condizioni meteo-climatiche dell'annata 2019 (v. Attività B). Si è già previsto pertanto di programmare per il 2020 un monitoraggio fenologico più approfondito, eventualmente con esame dello sforzo riproduttivo almeno in una popolazione di *Saxifraga tombeanensis*, pur tenendo conto delle condizioni di accesso alle pareti rocciose.

I semi raccolti sono stati puliti e trattati dal personale del CFA e a partire dal gennaio 2020 saranno avviati ai primi test di germinazione in laboratorio.



Figura 19: Presunte plantule e/o giovani individui di *Saxifraga tombeanensis* osservati su di una parete rocciosa (a sinistra nella visione di insieme) durante il monitoraggio previsto dal progetto (foto S. Armiraglio; 17.07.2019).



Figura 20: Semi di *Saxifraga tombeanensis* estratti dal campione raccolto in natura per la popolazione di Tremalzo . Corno della Marogna; a sinistra il materiale di scarto costituito da resti di steli fioriferi e capsule (foto J. Bellingardi).

Bibliografia

- ABELI, T., MUCCIARELLI, M., 2010. Notes on the natural history and reproductive biology of *Isoëtes malinverniana*. *American Fern Journal*, 100: 235-237.
- ARIETTI N., CRESCINI A., 1978. Gli endemismi della flora insubrica. La *Saxifraga tombeanensis* Boiss. ex Engl. Dalla scoperta alla ricostruzione dell'areale. *Natura Bresciana, Ann. Mus. Civ. St. Nat.*, 15: 15-35.
- BARNI, E., MINUZZO, C., GATTO, F., LONATI, F., ABELI, T., AMOSSO, C., SINISCALCO, C., 2013. Estimating influence of environmental quality and management of channels on survival of a threatened endemic quillwort. *Aquatic Botany*, 107: 39-46.
- BASKIN C.C., BASKIN J.M., 1998. *Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. San Diego: Academic Press.
- BRUNI I., GENTILI R., DE MATTIA F., CORTIS P., ROSSI G., LABRA M., 2013. A multi-level analysis to evaluate the extinction risk of and conservation strategy for the aquatic fern *Marsilea quadrifolia* L. in Europe. *Aquatic Botany*, 111: 35-42.
- BRUSA G., ARMIRAGLIO S., CERIANI R.M., 2018. Monitoraggio delle specie vegetali della Direttiva 92/43/CEE presenti in Lombardia, a supporto della redazione del IV rapporto ex art. 17. SBI sez. Lombardia, CFA - Regione Lombardia.
- CERABOLINI B., DE ANDREIS R., CERIANI R.M., PIERCE S., RAIMONDI B., 2004. Seed germination and conservation of endangered species from the Italian Alps: *Physoplexis comosa* and *Primula glaucescens*. *Biological Conservation*, 117: 351-356.
- FERRARIO A., CERIANI R.M., 2010. Produzione sperimentale di piante stenoendemiche delle Alpi Orobie. Centro Flora Autoctona. Relazione tecnica inedita.
- GENTILI R., ABELI T., ROSSI G., LI M., VAROTTO C., SGOBATI S., 2010. Population structure and genetic diversity of the threatened quillwort *Isoëtes malinverniana* and implication for conservation. *Aquatic Botany*, 93/3: 147-152.
- GENTILI R., ROSSI G., LABRA M., SELVAGGI A., GARIBOLDI L., BEDINI G., DALLAI D., PETRAGLIA ALESSANDRO, A. ALESSANDRO, BONAFEDE F., VILLANI C., SGOBATI S., BRUSONI M., 2010. *Marsilea quadrifolia* L. *Informatore Botanico Italiano* 42/2: 605-609.
- HONG T.D., LININGTON S.H., ELLIS R.H., 1998. *Compendium of Information on Seed Storage Behaviour*. RBG Kew.
- LINKIES A., GRAEBER K., KNIGHT C., LEUBNER-METZGER G., 2010. The evolution of seeds. *New Phytol.*, 186(4): 817-831.
- MALMGREN S., 1996. Orchid propagation. Theory and practice. In: Allen C, editor. *North American native terrestrial orchids. Propagation and production*. North American Native Terrestrial Orchid Conference Proceedings. Germantown, MD: C. Allen. pp. 63. 71.
- MOLES A.T., ACKERLY D.D., TWEDDLE J.C., DICKIE J.B., SMITH R., LEISHMAN M.R., *et al.*, 2007. Global patterns in seed size. *Glob. Ecol. Biogeogr.*, 16: 109. 116.
- PIERCE S., CERIANI R.M., FERRARIO A., CERABOLINI B.E.L. 2019. Germination and cultivation of several Lombardy flagship species: *Aquilegia einseleana*, *Campanula raineri* and *Linaria tonzigii*. Experiences in seed dormancy and germination. RIBES Series 2. In press.
- PUCHALSKI J., NIEMCZYK M., WALEROWSKI P., PODYMA W., KAPLER A., 2014. Seed banking of Polish endangered plants . the FlorNatur Project. *Biodiv. Res. Conserv.*, 34: 65-72.
- RAMSEY M.M., 1998. Re-establishment of the lady's slipper orchid (*Cypripedium calceolus* L.) in Britain. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 126: 173-181.
- VEJSADOVÁ H., 2006. Factors affecting seed germination and seedling growth of terrestrial orchids cultured in vitro. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 48/1: 109-113.