



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO
FACOLTÀ DI SCIENZE AGRARIE E ALIMENTARI

CORSO DI LAUREA IN
VALORIZZAZIONE E TUTELA DELL'AMBIENTE E DEL TERRITORIO MONTANO

ANALISI DELLA GERMINAZIONE DEI SEMI DI PIANTE ALPINE PIONIERE

Relatore: Prof.ssa Annamaria Giorgi

Correlatore: Dott. Luca Giupponi

Elaborato finale di:

Nicola Pellizzari

Matricola: 889028

Anno Accademico 2018-2019

INDICE

1 RIASSUNTO.....	3
2 INTRODUZIONE	5
2.1 Specie target	7
3 MATERIALI E METODI	16
3.1 Test di germinazione	16
3.2 Acido gibberellico.....	20
3.3 Carbonato di calcio.....	21
3.4 Raccolta e analisi dei dati	22
4 RISULTATI E DISCUSSIONE	27
4.1 Curve di germinazione.....	27
4.2 Germinabilità	33
4.3 Velocità di germinazione	44
4.4 Tempo di germinazione.....	55
5 CONCLUSIONI.....	66
6 BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA	70

RIASSUNTO

Il lavoro svolto, frutto del compimento del corso di Laurea in “Valorizzazione e Tutela dell’Ambiente e del Territorio Montano”, ha avuto come obiettivo lo studio della germinazione *ex-situ* di alcune specie alpine pioniere. Sono state prese in esame 9 specie di vegetali con spiccata adattabilità a substrati poco fertili come rocce e ghiaioni: *Papaver alpinum*, *Rumex scutatus*, *Tofieldia calyculata*, *Silene vulgaris* subsp. *glareosa*, *Dryas octopetala*, *Adenostyles glabra*, *Laserpitium peucedanoides*, *Laserpitium krapfii* e *Pulsatilla alpina*. I semi di tali piante, collezionati sulle Alpi, sono stati utilizzati per svolgere test di germinazione presso i laboratori del Centro di Ricerca Ge.S.Di.Mont. (Università degli studi di Milano) di Edolo (BS). I test sono stati svolti in capsule Petri contenenti 25 semi condizionati con quattro diversi trattamenti: 1) acqua distillata; 2) acqua distillata e carbonato di calcio; 3) acqua e acido gibberellico (AG3); 4) acqua, carbonato di calcio e acido gibberellico. Per ogni trattamento sono state effettuate quattro repliche. Una volta deposti i semi nelle capsule è iniziata la fase di osservazione e il conteggio dei semi germinati. Le osservazioni sono state effettuate ogni due giorni, per un totale di 48 rilevazioni. I dati raccolti sono stati poi analizzati statisticamente, tramite l’uso del pacchetto GerminaQuant del software R. In particolare sono state analizzate la curva di germinazione, la germinabilità, la velocità e il tempo di germinazione. Dall’analisi dei dati è emerso che alcune specie (*Papaver alpinum*, *Rumex scutatus*, *Tofieldia calyculata* e *Pulsatilla alpina*) germinano meglio in presenza di substrati con GA3, mentre per altre (*Silene vulgaris*, *Dryas octopetala*, *Adenostyles glabra*) l’apporto di acido gibberellico non è stato essenziale per la germinazione dei semi. Dalle rilevazioni è risultato altresì che in alcuni casi la presenza di GA3 ha limitato la velocità di germinazione dei semi e che la germinazione dei semi di alcune specie è stata favorita dal substrato contenente CaCO₃ o solamente acqua. In base ai risultati di questo lavoro è possibile fare alcune considerazioni sull’impiego di tali specie nelle pratiche di ripristino ambientale e non solo.

INTRODUZIONE

Il presente elaborato è frutto del tirocinio formativo effettuato presso i laboratori del Centro di Ricerca Ge.S.Di.Mont. (Università degli studi di Milano, Polo di Edolo) alla conclusione del corso di Laurea in “Valorizzazione e Tutela dell’Ambiente e del Territorio Montano”. Tramite le conoscenze acquisite durante questo corso di laurea, è stato possibile attuare un test di laboratorio e una successiva analisi dei dati riguardanti la germinazione dei semi di alcune piante alpine.

Le piante alpine sono generalmente considerate come entità preziose da proteggere dai fattori di disturbo, sempre più intensi al giorno d’oggi, e hanno da sempre affascinato botanici e ricercatori per la loro bellezza e la loro attitudine a crescere in ambienti “difficili”. Le specie alpine solitamente presentano diversi fattori limitanti per la crescita: crescono e si sviluppano in ambienti aspri e spesso privi di substrati fertili, l’areale in cui si sviluppano è principalmente legato a fattori abiotici come: temperatura (che raramente supera i 20 °C nei periodi più caldi), quota (che si attesta intorno ai 2000/2500 m.s.l.m. con picchi fino ai 2800 m.s.l.m. - anche se alcune specie alpine estendono l’areale fino a 200 metri di altitudine) e caratterizzazione del substrato. Cambiando questi fattori, di norma, le piante incontrano grosse difficoltà nello sviluppo (*Comparisons of germination traits of alpine plants between fellfield and snowbed habitats*, Shimono e Kudo, 2005). La presenza di acqua invece non è fortemente limitante; infatti le specie vegetali prese in esame si sono evolute per crescere e sopravvivere in ambienti dove la presenza di piogge è molto variabile. È risaputo che in contesti montani la caduta d’acqua meteorica è legata al periodo. Nella stagione estiva, in cui fioriscono queste specie, le piogge possono essere abbondanti giornalmente o assenti per settimane e quindi questo parametro non risulta particolarmente limitante per lo sviluppo delle piante. Grazie alle caratteristiche sopra citate, che rendono questi fiori abili a crescere in zone aspre e senza particolari facilitazioni, si può desumere che essi posseggano intrinsecamente la funzione di piante pioniere e spesso anche quella di indicatori ambientali per lo studio del cambiamento di

temperatura e del clima, basandosi sulla loro presenza o assenza negli areali di appartenenza.

Le specie montane pioniere sono importanti all'interno del loro ecosistema e sono oggetto di studio in quanto potrebbero risultare utili nei processi di stabilizzazione dei versanti o in fase di bonifica dei suoli. Inoltre sono rilevanti nel campo industriale, alimentare e negli usi officinali. Di queste specie montane si conosce ancora poco: non sono stati effettuati studi approfonditi sulla germinazione dei loro semi e sui loro possibili utilizzi. Con questi test di germinazione si vuole prendere in esame l'adattabilità dei semi di 9 specie di piante montane di germinare in diversi substrati (*ex-situ*) sia in presenza sia in assenza dell'ormone chiamato GA3. L'obiettivo dello studio è quello di applicare i risultati ottenuti da una crescita delle specie vegetali al di fuori del loro habitat, come in serre, così da portare ad un loro maggiore e più facile utilizzo in diversi ambiti.

2.1 Specie target

Di seguito sono elencate, con una breve descrizione, le specie considerate in questo studio (specie target). Gran parte di esse sono specie erbacee pioniere che crescono su rocce e ghiaioni calcarei del piano alpino e subalpino.

Papaver alpinum L.

Pianta erbacea della famiglia delle *Papaveraceae*. È perenne e si presenta con un'altezza di 10-15 cm. Il fiore ha quattro petali separati, obovati e di colore giallo, seppur osservabili con variazioni cromatiche o striature bianche e arancioni (Figura 1). Le foglie, se presenti, sono lanceolate segmentate e si collocano solamente sulla parte basale; l'apparato radicale risulta particolarmente esteso, così da permettere l'ancoramento su ghiaioni e suoli detritici che sono gli habitat ideali per questa specie: gli esemplari si trovano infatti sui principali gruppi montuosi alpini, ad altitudini che si aggirano tra i 1800 e i 2600 m.s.l.m. su morene, rocce, detriti e ghiaioni con substrato calcareo. Facilmente riconoscibile grazie ai vistosi colori dei petali, il fiore ha un periodo di fioritura che si aggira tra luglio e agosto, quando il clima montano si fa meno rigido. I semi di *Papaver alpinum* sono di forma reniforme e hanno dimensioni piccole, che si aggirano tra i 0.5 e 1.5 mm.

Papaver alpinum è una specie non protetta ed è indigeno del territorio alpino, il suo areale si estende però anche sui Balcani e sulla penisola Iberica (Pignatti 1982).

Figura 1: *Papaver alpinum* e suoi semi.



Rumex scutatus L.

Pianta erbacea della famiglia *Polygonaceae*. Perenne, presenta un rizoma grande e cilindrico posto superficialmente, ha un'altezza che varia tra i 15 e i 40 cm con un fusto flessuoso e fragile. Le foglie sono di colore verde acceso e sono sagittate con forma ovato-lanceolata (Figura 2). Quelle poste in posizione basale posseggono un picciolo lungo a differenza di quelle sul fusto, che presentano un picciolo più corto ma più largo. L'inflorescenza è una pannocchia allungata con fiori ermafroditi oppure unisessuali. I fiori sono di colore verde, con striature rosse e presentano tre stimmi e sei stami, mentre il frutto è un achenio di 5 mm. L'habitat di crescita si estende su tutta la penisola con altitudine che varia tra i 400 e i 2600 m.s.l.m. Predilige ghiaioni e detriti, ma si trova anche su sabbioni sempre con substrato carbonatico e fiorisce da maggio ad agosto.

Sono presenti due sottospecie in Italia: la prima è *Rumex scutatus* subsp. *scutatus* che si distingue per un arrossamento basale sul fusto, foglie basali più corte e una pannocchia ramosa. È presente su tutta la penisola, fatta eccezione dell'Emilia e delle Isole dove vi è la sottospecie *Rumex scutatus* subsp. *glaucescens*. (Pignatti 1982).

Figura 2: *Rumex scutatus* e suoi semi.



Tofieldia calyculata (L.) Wahlenb

Pianta perenne erbacea della famiglia delle *Tofieldiaceae*. Il fusto si presenta di forma cilindrica e porta la pianta ad un'altezza di 10-30 cm. Anche in questa specie le foglie sono visibili sulla parte basale e si riconducono ad una conformazione graminiforme mentre, salendo sul fusto, le foglie si mostrano come ridotte a squame. Il fiore è un'inflorescenza di tipo racemo posto all'apice della pianta (Figura 3); è di forma cilindrica ed è costituito da fiori con sei tepali giallo-verdastri chiusi a calice, che si inseriscono con un peduncolo in un'ascella di una brattea. I semi sono di dimensioni piccole (circa 2 mm), di colore bianco e reniformi. Il periodo di fioritura va da giugno ad agosto in ambienti umidi e freschi quali torbiere, prati umidi e zone limitrofe a sorgenti.

In Italia si trova principalmente nelle regioni del Nord ad un'altitudine che varia da 0 a 2600 m.s.l.m. Tuttavia è particolarmente rara nelle regioni Piemonte e Liguria.

Figura 3: *Tofieldia calyculata* e suoi semi.

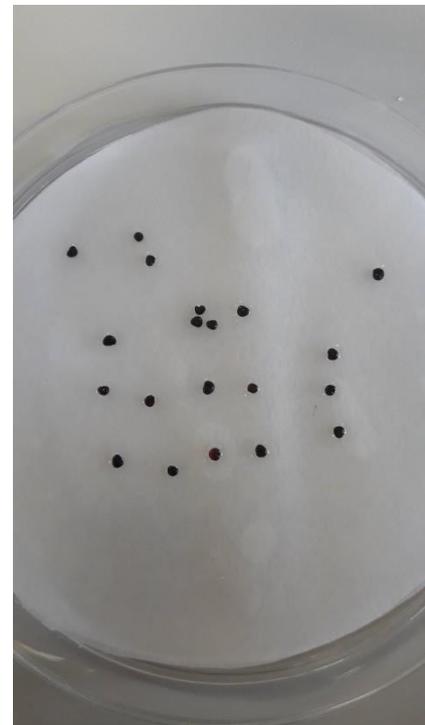


Silene vulgaris subsp. *glareosa* (Moench) Garcke

Pianta perennante della famiglia *Caryophyllaceae*. La pianta si presenta con un aspetto erbaceo, ma con un fusto alto ed eretto spesso privo di foglie. L'apparato radicale è rizomatoso con numerose radici secondarie che fuoriescono dal rizoma. L'altezza della pianta si aggira tra i 10 e i 30 cm e le foglie, se presenti (solo nella parte basale), sono glabre e lunghe 1-3 cm. L'inflorescenza è a forma di pannocchia con fiori a cinque petali biancastri con dieci stami e tre stili. Il calice è globoso, di colore verde/rosa con circa 20 nervature evidenti che diverrà il frutto dentato a forma di capsula.

Il suo habitat ideale sono i ghiaioni di ambiente alpino, ad altitudine che varia tra i 1000 e i 2500 m.s.l.m. In Italia il suo areale è tutto l'arco alpino e l'Abruzzo. Sul territorio nazionale sono presenti 6 sottospecie di *Silene vulgaris*, alcune usate nell'industria del sapone; la sottospecie *glareosa* presa in esame ha la particolarità di avere le foglie giovani commestibili.

Figura 4: *Silene vulgaris* subsp. *glareosa* e suoi semi.



Dryas octopetala L.

Pianta perenne a portamento strisciante della famiglia delle *Rosaceae*. L'altezza del fiore, considerate le sue caratteristiche, arriva ad un massimo di 12-15 cm con radici fibrose e forti. Le foglie sono sempreverdi alterne e situate solamente nella parte basale; hanno una lunghezza di circa cm 1 e larghezza di 6-8 mm, la pagina superiore è di colore verde brillante, mentre quella inferiore ha colore verde/biancastro. Il fiore è di colore bianco dal diametro di 2-4 cm e si compone di otto petali, con un calice glanduloso sottostante e con otto sepali. Stami e stigmi sono numerosi e concentrati al centro del fiore. Il frutto è composto da vari acheni con reste setose e filamentose. Il periodo di fioritura va da giugno ad agosto.

L'habitat prediletto è formato da ghiaioni detritici, terreni calcarei e pascoli pietrosi tra i 200 e i 2700 m.s.l.m. Si trova in tutte le regioni alpine e nelle regioni centro-appenniniche. In Italia è presente solo la sottospecie nominale che viene utilizzata come erba officinale.

Figura 5: *Dryas octopetala* e suoi semi.



Adenostyles glabra (L.) Bluff & Fingerh

Pianta erbacea della famiglia delle *Asteraceae*. La sua altezza può arrivare fino a 60 cm grazie al fusto robusto a sezione cilindrica, che assume virescenze rossastre nella parte finale ramificata. Le radici sono secondarie da rizoma ipogeo. Le foglie basali hanno forma reniforme o cuoriforme di dimensioni che si aggirano attorno ai 20 cm, quelle cauline sono progressivamente più piccole e di forma lanceolata. All'apice il fiore presenta inflorescenze a corimbi composte da tre o quattro fiori, sorretti da un involucro cilindrico a squame violacee. Questi fiori sono ermafroditi, con calice ridotto a squame e una corolla a forma cilindrica lunga 7-8 mm di colore viola a tratti bianco con cinque punte, gli stami sono cinque e vi è un solo stilo con stimma bifido. La fioritura avviene tra giugno e agosto.

Il fiore è presente su tutte le regioni alpine a un'altitudine compresa tra i 1000 e i 2500 m.s.l.m., tuttavia è stato segnalato erroneamente anche in molte altre regioni centro/meridionali. Il suo habitat sono i pendii franosi e i ghiaioni morenici e calcarei. Questa specie trova una sua nicchia anche nei boschi umidi di abete rosso e faggio, ma il suo ambiente prediletto è la fascia alpina. Non è attualmente protetta ed è citata in quanto risulta tossica, ma molto utile nella produzione mellifera.

Figura 6: *Adenostyles glabra* e suoi semi.



Laserpitium peucedanoides L.

Laserpitium è un genere di piante della famiglia *Apiaceae*. Le specie di *Laserpitium* sono piante erbacee perenni ed entrambe quelle prese in esame posseggono radici profonde e fusti cilindrici forti e alti. Le foglie sono disposte in modo alternato e possono essere bi oppure tripennate. Le foglie della specie *peucedanoides* risultano di forma lanceolata sottili e lunghe. I fiori ermafroditi sono riuniti in infiorescenze ad ombrello, che sono composte da fiori bianchi o bianco/giallastri. I semi di entrambe le specie presentano quattro ali ialine, di cui due posteriori poste ad angolo piatto e due anteriori quasi unite e perpendicolari a quelle retrostanti; il periodo di fioritura va da giugno ad agosto.

L'habitat di crescita è quello dei pendii pietrosi e cespugliosi in zona subalpina e si può trovare dai 200 ai 2700 m.s.l.m. La specie *Laserpitium peucedanoides* si trova nelle regioni alpine orientali.

Figura 7: *Laserpitium peucedanoides* e i suoi semi.



Laserpitium krapfii Crantz

Specie vegetale appartenente alla famiglia *Apiaceae*. Pianta erbacea perenne con fusto cilindrico e alto, ma di altezza minore rispetto alla specie *peucedanoides*. Le foglie si presentano cuoriformi e larghe, con la pagina superiore più lucida rispetto a quella inferiore. I fiori sono riuniti in infiorescenze ad ombrello che sono composte da fiori bianchi oppure di color verde chiaro. Come per *Laserpitium peucedanoides*, i semi di questa pianta presentano quattro ali ialine che sono disposte con la medesima conformazione, tuttavia in quest'ultima specie hanno dimensioni inferiori.

Per le due specie il periodo di fioritura e l'habitat sono uguali. La specie *Laserpitium krapfii* estende il suo areale a tutto l'arco alpino.

Figura 8: *Laserpitium krapfii* e i suoi semi.



Pulsatilla alpina subs. *austroalpina* (L.)

Pulsatilla alpina è una pianta erbacea della famiglia delle *Ranunculaceae*. L'altezza del fiore va dai 10 ai 30 cm e può avere picchi di 40 cm. Le foglie basali sono disposte a rosetta e attaccate al fusto per mezzo di un picciolo, quelle cauline invece sono unite nello stesso verticillo a circa metà dell'altezza. Il fiore è singolo sul fusto e presenta dai cinque ai sette petali di colore bianco con numerosi stami. I semi sono acheni di color bruno nerastro con una resta piumosa; il periodo di fioritura è tra giugno e luglio.

L'habitat di crescita è quello dei pascoli alpini e subalpini con substrati calcarei o dolomitici. Il suo areale si estende su tutte le regioni italiane, ad eccezione di quelle meridionali ed è compreso tra i 1000 e i 2700 m.s.l.m. In Italia questo fiore non rientra nelle specie protette, ma viene ricordato per la sua tossicità dovuta alla presenza di alcaloidi.

Figura 9: *Pulsatilla alpina* e suoi semi.



MATERIALI E METODI

3.1 Test di germinazione

I semi delle specie target del test sono stati raccolti durante l'estate del 2018, ad una altitudine di circa 2000 m.s.l.m., in due aree distinte delle Alpi: Dolomiti di Brenta e Alpi Orobie (Giupponi *et al.*, 2017). Successivamente sono stati conservati ad una temperatura di 4°C in un laboratorio per sei mesi, fino all'inizio dei test di germinazione.

I test sono stati svolti presso i laboratori del Centro di Ricerca Ge.S.Di.Mont. (Università degli studi di Milano) di Edolo (BS), ad un'altitudine nettamente inferiore rispetto all'areale naturale dei semi: circa 700 m.s.l.m. I test si sono basati sul controllo costante dei semi delle 9 specie target posti in capsule Petri sterili con quattro diversi trattamenti:

- A) aggiunta di acqua distillata;
- B) aggiunta di acqua distillata e 1 g di CaCO₃;
- C) aggiunta di acqua distillata e acido gibberellico (GA3) 100 ml l⁻¹;
- D) aggiunta di acqua distillata, 1 g di CaCO₃ e acido gibberellico (GA3) 100 ml l⁻¹.

L'aggiunta di acido gibberellico era mirata a promuovere la germinazione dei semi *ex-situ*, per poter studiare l'incidenza di questo ormone nei processi di germinazione, in vitro, fuori dal loro habitat naturale (*Chemical and physical pre-treatments to improve in vitro seed germination of Humulus lupulus L., cv. Columbus*, Liberatore *et al.*, 2018).

Ogni capsula Petri conteneva 25 semi e, per ogni trattamento, sono state effettuate quattro repliche così da massimizzare le possibilità di successo dei test. In totale sono stati dunque gestiti 3600 semi, considerando le 9 specie target, i trattamenti e le repliche. I test sono stati svolti a temperatura ambiente (18-20°C) (Figura 10).

La prima fase del lavoro è stata la preparazione dei semi e delle capsule. La preparazione dei semi è iniziata con il loro lavaggio prelevandoli, una specie dopo l'altra, da diversi contenitori e immergendoli in un becher contenente ipoclorito di sodio (NaClO) in

soluzione acquosa al 10% per 10 minuti (Figura 11). I semi sono stati successivamente sottoposti a tre risciacqui con acqua distillata. Questo primo trattamento è risultato essenziale per pulire i semi da microrganismi dannosi, muffe e piccoli insetti che avrebbero potuto ostacolare la germinazione.

Successivamente, sono state preparate 144 capsule Petri, contenenti due dischi di carta filtro che hanno fornito la base per il substrato di crescita. Questi sono stati tagliati da fogli di carta filtro da 58x58 cm e poi sono stati sottoposti, insieme alle capsule vuote, ad un trattamento di sterilizzazione con lampada. Le 144 capsule sono state poi fornite di questi due strati di carta filtro e divise per il numero delle specie. Il passo successivo è stato quello di creare nelle capsule i diversi substrati; la scelta è stata quella di replicare condizioni il più possibilmente simili a quelle naturali, ma con presenza o meno di gibberelline. Per ogni specie quindi sono state create quattro diverse basi di crescita: la prima composta da carta filtro imbevuta con acqua distillata, la seconda con acqua distillata saturata con CaCO_3 , una terza base composta da acqua distillata e una quantità pari a 100 ml l^{-1} di GA3 soluto in essa e l'ultima base con acqua distillata con 1 g di CaCO_3 e con la stessa quantità di gibberelline presenti nella precedente base.

Dopo aver preparato tutte le capsule con i diversi substrati si è passati alla fase di posizionamento dei semi nelle capsule (Figura 12 e Figura 13). Operando con pinzette appositamente pulite e sterilizzate, i semi sono stati presi singolarmente e posti con ordine all'interno dei contenitori, così da facilitarne il conteggio e le osservazioni degli sviluppi del progresso germinativo. Questo posizionamento dei semi è stato particolarmente proficuo poiché i semi di alcune specie, in particolare quelli della *Tofieldia calyculata* e di *Papaver alpinum*, sono di piccolissime dimensioni (circa 1 mm), perciò se disposti in ordine geometrico risultano più facili da rintracciare durante le osservazioni, necessarie per analizzare lo sviluppo della radichetta dal seme. Per avvicinarsi alle migliori condizioni che permettessero la germinazione dei semi, le capsule sono state poste sotto una cappa illuminata per 12 ore al giorno con una lampada LED apposita per la crescita delle piante.

Figura 10: Capsule Petri sotto cappa.



La preparazione dei semi, delle capsule e dei fogli di carta filtro ha impegnato due pomeriggi, conclusi i quali sono iniziati il lavoro di osservazione della germinazione dei semi e la relativa raccolta dei dati. Le capsule Petri sono state monitorate ogni due giorni, per mantenere uno standard nelle osservazioni, per un totale di 48 rilevamenti. Per l'individuazione della radichetta germinativa ci si è avvalsi dell'uso di uno stereomicroscopio.

Figura 11: Lavaggio dei semi con ipoclorito di sodio al 10%.



Figura 12: Deposizione dei semi di *Tofieldia calyculata*.



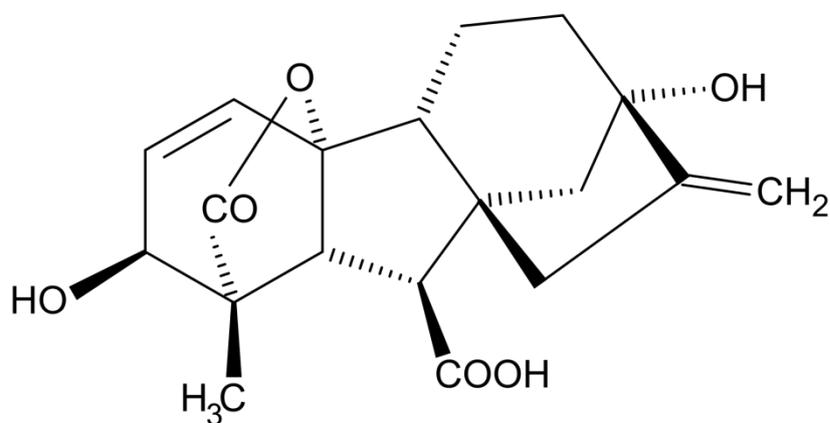
Figura 13: Semi di *Tofieldia calyculata* su substrato contenente acqua.



3.2 Acido gibberellico

L'acido gibberellico fa parte di una particolare famiglia di molecole dei composti terpenici, che prende il nome di gibberelline. L'acido gibberellico possiede funzione ormonale, ha formula bruta $C_{19}H_{22}O_6$ ed è chiamato con la sigla GA3. Le gibberelline sono prodotte da giovani foglie e semi in germinazione e ne sono state scoperte più di 125; quelle più importanti, oltre l'acido gibberellico, sono le GA1 e GA4. Le gibberelline possono essere formate da 19 o da 20 atomi di carbonio, quelle maggiormente bioattive (GA1, GA3 e GA4) sono costituite da 19 atomi di C. Chimicamente tutte le gibberelline bioattive possiedono un lattone-4, 10, un acido carbossilico (-COOH) nel C-6 e un gruppo ossidrilico (-OH) nel C-3 con orientamento β . Le GA bioattive possono avere altre funzionalità al variare, in diverse posizioni della molecola, di elementi come il doppio legame fra il C-1 e il C-2 (come nella GA7 e nella GA3) o un gruppo -OH nel C-13 (come nella GA1 e nella GA3).

Figura 14: Struttura chimica dell'acido gibberellico.



Questo particolare fitormone ha svariati effetti sulla pianta: la distensione cellulare che funge da regolazione per la fruttificazione e sviluppo del frutto, l'inibizione dell'induzione a fiore delle gemme, la crescita delle piante, l'induzione alla germinazione dei semi (*Effects of Light, Scarification, and Gibberellic Acid on Seed Germination of Eight Pedicularis Species from Yunnan, China*, Rong Li et al., 2007) e l'interruzione della dormienza dei semi. Ha inoltre effetti sulla transizione dallo stadio giovanile a quello adulto della pianta e sull'induzione della mitosi.

3.3 Carbonato di calcio

Il carbonato di calcio è un sale ternario che si forma partendo da Ca^{2+} e CO_3^- e che costituisce, insieme a dei cristalli di calcite, la roccia che prende il nome di calcare. Oltre a questa origine chimica, il calcare può avere un'origine organica, legata alla presenza di carbonato di calcio in gusci e scheletri di alcuni esseri viventi dell'epoca Triassica che alla loro morte si depositarono sul fondale degli oceani. Una volta avvenuta la degradazione delle parti molli la rimanente componente, costituita da CaCO_3 , andò incontro ad un processo di mineralizzazione che portò alla formazione di questa roccia.

Figura 15: Calcare con fossili di bivalvi.



Questo particolare substrato ha un'influenza negativa sullo sviluppo di alcuni tipi di piante per la sua chimica e per la sua limitata capacità di trattenere acqua. Il carbonato di calcio, invece, agevola la crescita delle specie calcofile.

3.4 Raccolta e analisi dei dati

Le osservazioni si sono svolte in un arco temporale che comprende tre mesi, durante i quali è stato svolto un lavoro di osservazione e registrazione di tutti gli sviluppi nella fase di germinazione, prendendo in esame ogni singola capsula e ricercando la presenza della prima radichetta emessa dal seme. Notando la crescita di questa radichetta si è potuto dedurre che il seme era germinato, ed era iniziata la crescita della pianta. Procedendo al controllo dei diversi campioni si è approntata in ogni contenitore una quantità d'acqua utile alla sopravvivenza e alla germinazione dei semi. Il processo è avvenuto tramite l'uso di pipette Pasteur per garantire un apporto di acqua tale da mantenere umido il substrato in modo costante. I rilievi sono stati effettuati ogni due giorni, cercando di mantenere lo stesso divario temporale tra le diverse osservazioni, così da non avere errori nel grafico finale e cercare di studiare più dati possibili negli sviluppi nel processo germinativo. I dati sono stati raccolti durante ogni controllo in un foglio di calcolo Excel, in cui erano riportati la specie presa in esame con i diversi trattamenti e le relative repliche e infine, nelle colonne adiacenti, il progressivo delle osservazioni con il numero di semi germinati volta per volta (Figura 16).

Figura 16: Estratto con esempio di foglio di calcolo compilato per le osservazioni.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	Dryas								
2			27/02/2019	01/03/2019	03/03/2019	05/03/2019	07/03/2019	09/03/2019	11/03/2019
3	H ₂ O	I				1	2	3	
4		II				6	4	5	
5		III				7		5	2
6		IV				3	4	4	1
7	CaCO ₃	I						10	
8		II						9	1
9		III						10	1
10		IV						17	1
11	AG + H ₂ O	I					1		2
12		II						10	4
13		III					2	10	1
14		IV					1	5	1
15	CaCO ₃ + AG	I						13	2
16		II					2	10	4
17		III						12	1
18		IV				1		10	2

Successivamente le tabelle sono state elaborate per poterle gestire online con il pacchetto GerminaQuant (*GerminaR: An R package for germination analysis with the interactive web application GerminaQuant for R*, Lozano-Isla et al., 2018), del programma di statistica R 3.5.1 (*R Development Core Team 2018*). L'elaborazione ha previsto la conversione delle date in una denominazione standard, così da permettere la lettura del *range* temporale in cui è avvenuto l'intero lavoro da parte del programma. Questa conversione è avvenuta implementando il prefisso "X" seguito dal numero dell'osservazione; è stata infine aggiunta una colonna "Semi" contenente il numero totale dei semi presenti in ogni capsula, indispensabile per il programma affinché potesse effettuare calcoli e costruire grafici. Altri piccoli accorgimenti hanno riguardato l'ordine delle colonne e l'inserimento della colonna "Specie" (nella quale è stato presentato il nome della specie vegetale presa in esame) e la colonna "Trattamenti" (in cui sono state inserite le quattro lettere relative ai diversi trattamenti).

Figura 17: Modifica della tabella Excel per l'uso nel programma R.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	Specie	Trattamento	Replica	Semi	X0	X2	X4	X6	X8	X10	X12	X14	X16
2	Dryas	A	1	25	0	0	0	0	1	2	3	0	0
3	Dryas	A	2	25	0	0	0	0	6	4	5	0	0
4	Dryas	A	3	25	0	0	0	0	7	0	5	2	0
5	Dryas	A	4	25	0	0	0	0	3	4	4	1	0
6	Dryas	B	1	25	0	0	0	0	0	0	10	0	0
7	Dryas	B	2	25	0	0	0	0	0	0	9	1	0
8	Dryas	B	3	25	0	0	0	0	0	0	10	1	0
9	Dryas	B	4	25	0	0	0	0	0	0	17	1	0
10	Dryas	C	1	25	0	0	0	0	0	1	0	2	0
11	Dryas	C	2	25	0	0	0	0	0	0	10	4	0
12	Dryas	C	3	25	0	0	0	0	0	2	10	1	0
13	Dryas	C	4	25	0	0	0	0	0	1	5	1	1
14	Dryas	D	1	25	0	0	0	0	0	0	13	2	1
15	Dryas	D	2	25	0	0	0	0	0	2	10	4	0
16	Dryas	D	3	25	0	0	0	0	0	0	12	1	0
17	Dryas	D	4	25	0	0	0	0	1	0	10	2	1

Una volta effettuate queste modifiche è stato possibile calcolare delle statistiche e costruire grafici con GerminaQuant. Questo programma è stato estremamente utile e particolarmente efficace per quanto riguarda i calcoli statistici sulla germinazione di semi e sulla costruzione di grafici legati alle formule. Il funzionamento dell'applicazione di calcolo statistico, si basa su un pacchetto di algoritmi che permette, dopo averlo installato e aperto tramite il programma R, di usufruire di varie funzioni attraverso il comando "*library(GerminaR)*", che rappresenta la totalità degli algoritmi racchiusi nel software. Tra gli algoritmi contenuti vi sono le funzioni "*dplyr*" e "*tidyr*" per un'efficiente organizzazione dei dati; la funzione "*ggplot2*" permette la costruzione automatica di grafici e istogrammi e lo svolgimento del test ANOVA (analisi della varianza), fornendo le classi di dati su cui lavorare e la risposta che si vuole ottenere da parte del programma. Altra funzione fondamentale è "*agricolae*", che raggruppa gli algoritmi che riportano risultati di analisi statistiche: le principali sono la percentuale di germinazione, il coefficiente di velocità con cui i semi germinano e il contatore cumulativo di semi germinati con allegata la visione grafica del numero di semi germinati. Tutte queste funzioni, racchiuse nella libreria, sono da esplicitare come primo comando sulla schermata di R, digitando "*library(GerminaR)*", affinché il programma possa attingere a questi algoritmi; a questo poi segue la codifica del comando "*GerminaQuant()*" che, una volta inserito, se tutti gli algoritmi sono presenti nel software e funzionanti, apre direttamente il browser collegandoci alla pagina GerminaQuant dove, dopo avere caricato la tabella di Excel nella sezione *Fieldbook*, permette di utilizzare tutte le funzioni del programma. La pagina web presenta vari livelli di operatività: il primo ambiente online di lavoro è chiamato *Boxplot* e permette la costruzione grafica dei dati raccolti, la seconda sezione denominata *Statistics* permette all'utente di inserire i parametri sui quali si vuol lavorare e scegliere che tipo di calcoli effettuare. Una volta inseriti i comandi, il programma eseguirà e riporterà matematicamente tutti gli algoritmi desiderati, fornendo anche una risposta grafica nella sezione *Graphics*. Ultima funzionalità di rilevante importanza è quella data dal sottomenù chiamato *InTime*, che costruisce in automatico un grafico che delinea nel tempo la percentuale di semi germinati (curva di germinazione). Usando questa applicazione sono stati creati più grafici per ogni specie presa in esame. Questi grafici mostrano vari risultati e statistiche interessanti per quanto riguarda la quantità di semi germinati nel tempo, la

velocità con cui essi germinano e soprattutto la differenza di quantità di semi germinati al variare del substrato. Quest'ultima informazione è particolarmente interessante, poiché da essa si deduce il vantaggio nell'utilizzo dell'ormone GA3 stimolante la germinazione del seme, che si può riscontrare in alcune specie, mentre per altre vi sono benefici o deficit al variare dei trattamenti senza l'aggiunta di gibberelline. Si può quindi osservare se lo sviluppo della radichetta del seme avvenga nel caso in cui ci si trovi in capsule dove la base di crescita fornita sia composta solo da acqua distillata o in contenitori nei quali sia presente anche la componente calcarea tipica dell'habitat di queste piante. Le tabelle presentate nel capitolo "Risultati e discussione" riguardano la percentuale di semi germinati nel tempo, la germinabilità, la velocità di germinazione e il tempo di germinazione. Come descritto nell'articolo "*GerminaQuant for R user manual*" (Lozano-Isla *et al.*, 2019), la germinabilità di ogni trattamento è stata calcolata con la formula:

$$GRP = \left(\frac{\sum_{i=1}^k n_i}{N} \right) 100$$

in cui "GRP" è la germinabilità espressa in percentuale, " n_i " indica il numero di semi germinati nel tempo totale " i^{th} " dei test e, infine, " N " è il totale dei semi del trattamento. Ai grafici della germinabilità susseguono quelli della velocità di germinazione, espressa in percentuale e calcolata come segue:

$$GSP = \left(\frac{\sum_{i=1}^k G_i}{\sum_{i=1}^k G_i X_i} \right) 100$$

dove "GSP" indica la velocità di germinazione, " G_i " il numero di semi germinati nel tempo " i " e " X_i " il tempo trascorso dall'inizio della semina.

Il tempo di germinazione MGT, invece, è stato calcolato come segue:

$$MGT = \frac{\sum_{i=1}^k n_i t_i}{\sum_{i=1}^k n_i}$$

Dove "MGT" è il tempo di geminazione espresso in giorni, "t" è il tempo calcolato dall'inizio delle osservazioni, " n_i " il numero di semi germinati e "k" l'osservazione conclusiva. In questo caso l'unità di misura è quella di tempo in cui son suddivise le osservazioni, perciò giorni.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Di seguito sono riportati i vari grafici, suddivisi in base allo studio e alle considerazioni effettuate. Le specie di *Laserpitium peucedanoides* e *Laserpitium krapfii* non sono state prese in esame poiché non sono germinati semi sufficienti per poter affrontare uno studio.

4.1 Curve di germinazione

Figura 18: Curva di germinazione dei semi di *Papaver alpinum*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3.

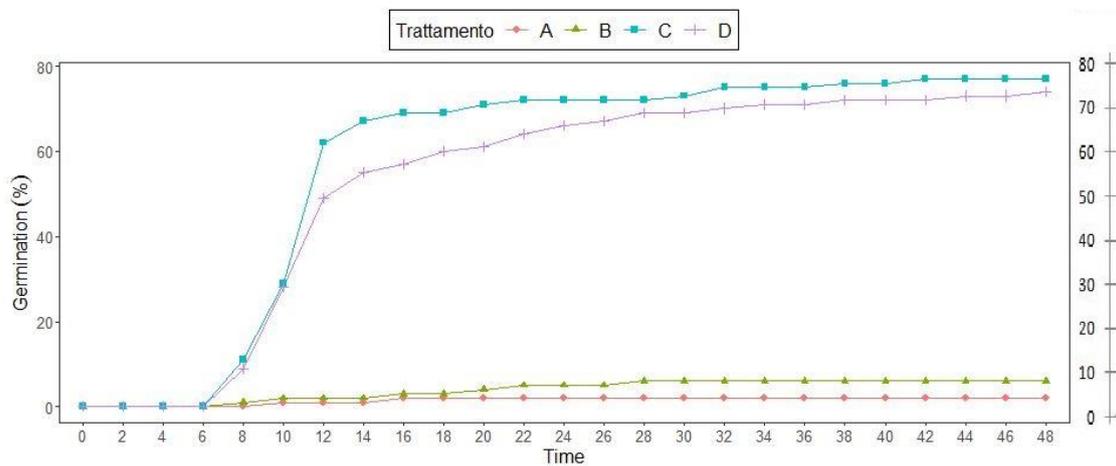


Figura 19: Curva di germinazione dei semi di *Dryas octopetala*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3.

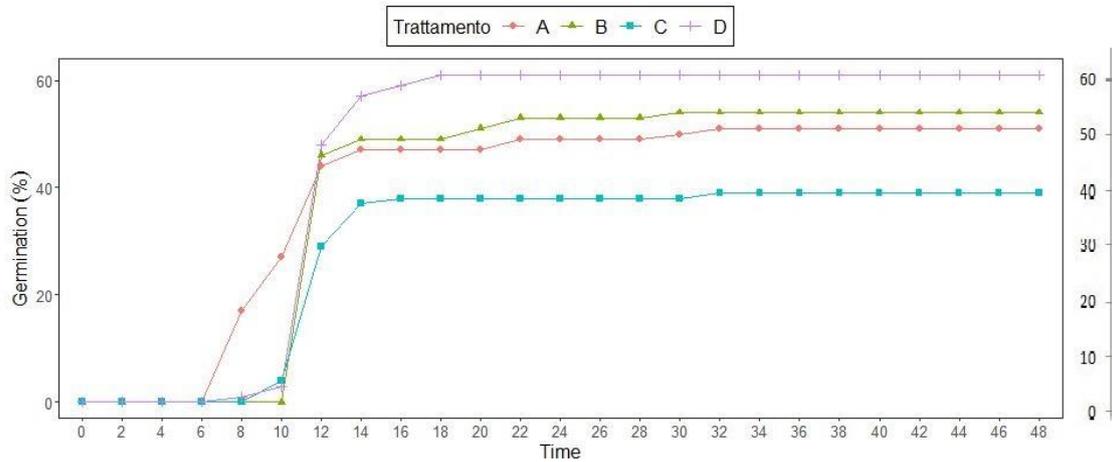


Figura 20: Curva di germinazione dei semi di *Tofieldia calyculata*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3.

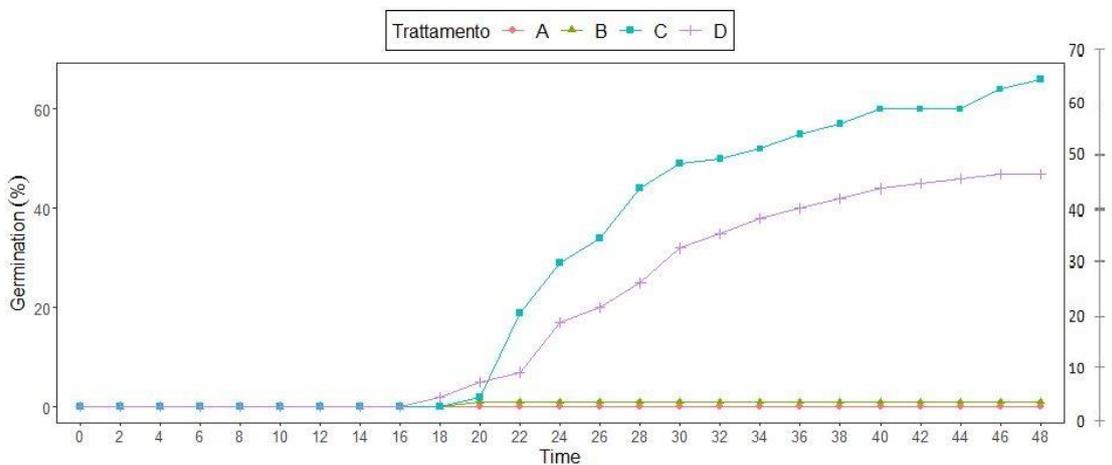


Figura 21: Curva di germinazione dei semi di *Rumex scutatus*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3.

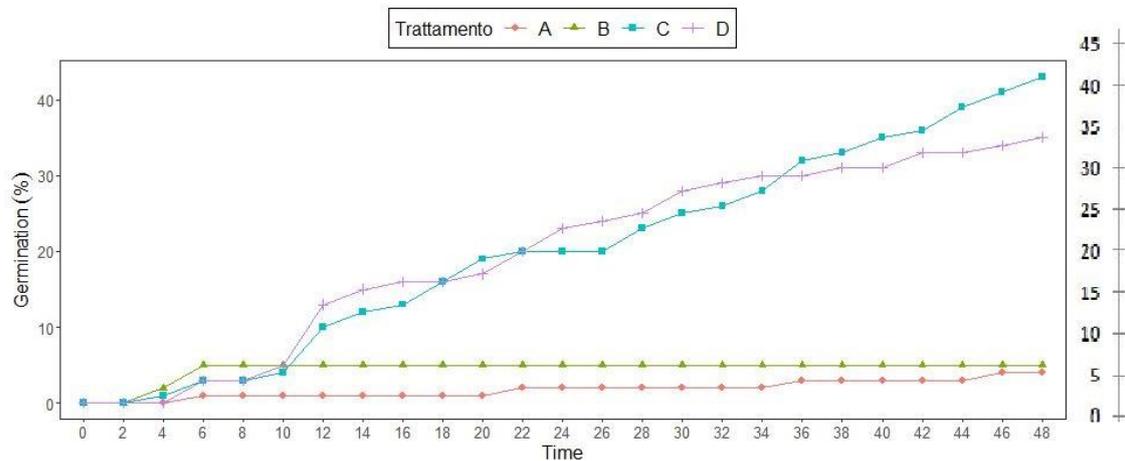


Figura 22: Curva di germinazione dei semi di *Adenostyles glabra*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3.

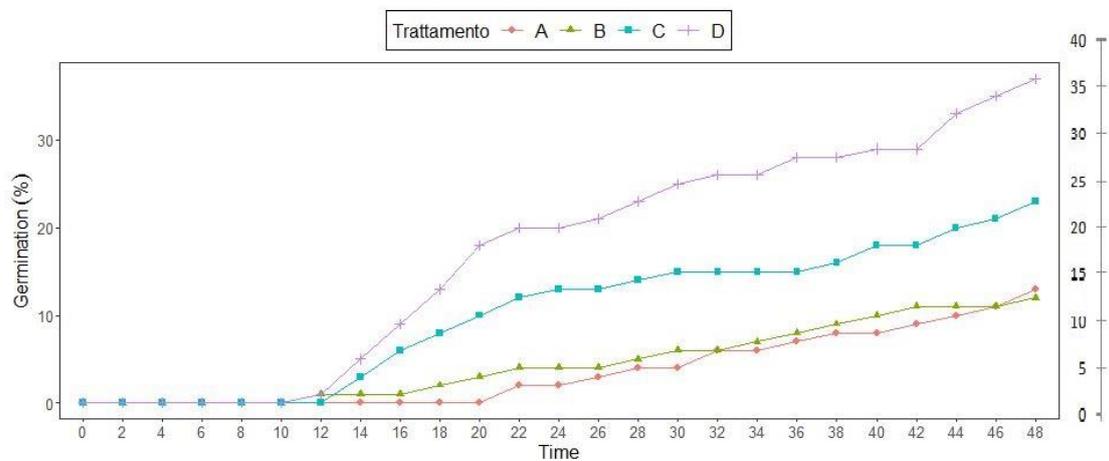


Figura 23: Curva di germinazione dei semi di *Pulsatilla alpina*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3.

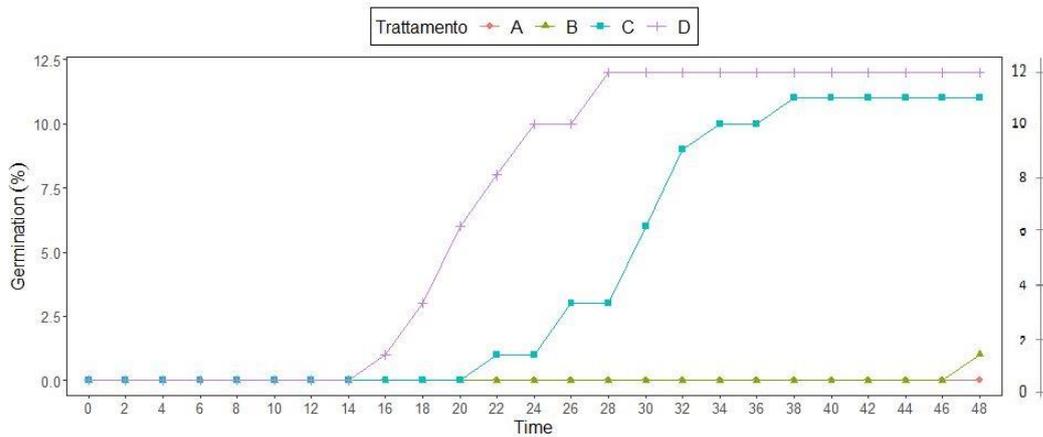
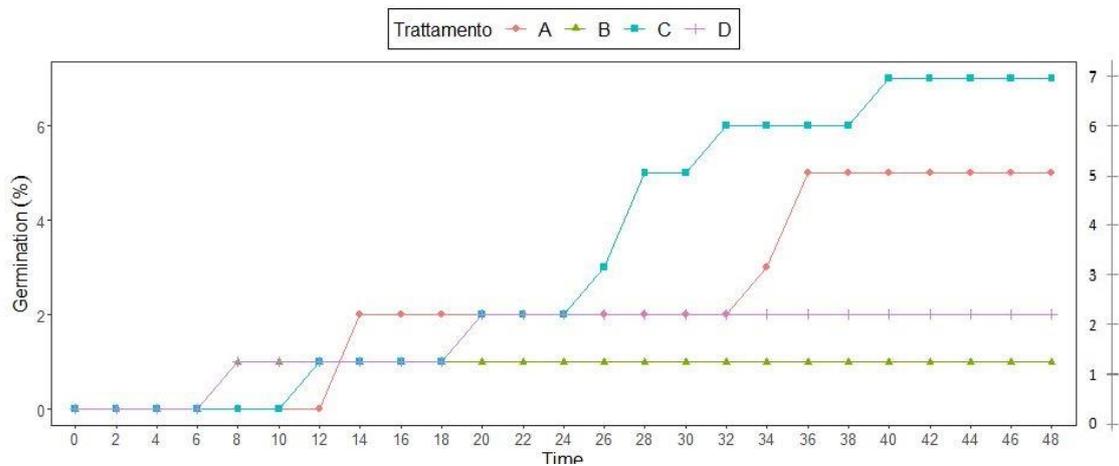


Figura 24: Curva di germinazione dei semi di *Silene vulgaris*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3.



Da questa serie di grafici si possono trarre informazioni inerenti i tratti germinativi delle varie specie. In primo luogo si può notare come, a prescindere dal trattamento usato, i semi delle diverse specie abbiano curve di germinazione molto differenti. Le prime due specie prese in esame, *Papaver alpinum* e *Dryas octopetala*, presentano un picco di semi germinati dopo una decina di osservazioni e poi la curva di germinazione diventa quasi orizzontale. Per *Dryas octopetala* (Figura 19) si nota che successivamente al picco di germinazione, avuto al 14° rilevamento dopo una brusca crescita, il numero di semi germinati si è abbassato, arrivando ad essere pari a zero intorno alla 32° osservazione, mentre per *Papaver alpinum* (Figura 18), la germinazione non si è mai fermata se non al terminare delle rilevazioni.

I successivi tre grafici, riferiti a *Tofieldia calyculata*, *Rumex scutatus*, *Adenostyles glabra* mostrano un andamento della curva di germinazione più graduale nel lasso di tempo preso in esame per il test. *Rumex scutatus* (Figura 21), è risultata essere la più precoce, in termini di germinazione, tra le tre diverse piante esaminate. Con essa anche *Tofieldia calyculata* e *Adenostyles glabra* presentano questo differente andamento del grafico, nonostante queste ultime due inizino il loro processo germinativo rispettivamente intorno al 20° e al 10° rilevamento. La crescita graduale della percentuale di semi germinati non subisce particolari punti di flesso o brusche variazioni nel grafico riguardante *Rumex scutatus* e *Adenostyles glabra*, mentre nella Figura 20 si osserva come nel caso di *Tofieldia calyculata* vi sia una prima parte della curva con una crescita maggiore rispetto all'andamento generale, poiché successivamente si nota una decrescita del parametro fino alla sua quasi linearità.

In Figura 23 e in Figura 24 sono presentati rispettivamente i grafici riferiti a *Pulsatilla alpina* e *Silene vulgaris*. Queste due specie hanno un andamento anomalo e diverso dalle precedenti: i semi infatti non germinano né in modo graduale né sviluppandosi in un breve lasso di tempo, bensì presentano un grafico che si può definire "a salti". Questo particolare andamento è ben visibile nel caso di *Silene vulgaris*, mentre nel caso di *Pulsatilla alpina* si assiste ad una crescita con vari salti, nonostante in alcuni tratti compresi da questi salti l'andamento della curva risulti essere a crescita graduale o addirittura in brusca risalita. Questi repentini cambi di pendenza della curva di

germinazione sono più numerosi nel caso di *Silene vulgaris* e questa specie, a differenza della precedente, non presenta crescita del numero di semi che son germinati se non in corrispondenza di questi flessi.

Analizzando i trattamenti, invece, è possibile trovare altre particolarità degne di nota. L'azione delle gibberelline è particolarmente rilevante in 4 specie *Papaver alpinum*, *Pulsatilla alpina*, *Tofieldia calyculata* e *Rumex scutatus*. Per queste specie le gibberelline, sia nel substrato con acqua sia in quello con il calcare, sono essenziali affinché i semi riescano a germinare *ex-situ*. *Tofieldia calyculata* e *Pulsatilla alpina* infatti hanno una quantità di semi germinati in substrati senza gibberelline, che risulta essere quasi pari a zero: un seme germinato per entrambe le specie nel substrato con CaCO_3 , mentre nella base contenente solo acqua non sono germinati semi. Per le altre due specie, *Papaver alpinum* e *Rumex scutatus*, si può notare che senza l'apporto di GA3 i semi germinati ammontano ad un totale di 10% e 5%, sempre in misura maggiore nel substrato contenente acqua. Nei grafici riguardanti le altre tre specie si può vedere come il beneficio apportato dalle gibberelline alla germinazione dei semi sia minore rispetto alle precedenti. La percentuale di semi germinati in substrati trattati con gibberelline è maggiore di quella riscontrabile in trattamenti che contengono solo acqua o carbonato di calcio; nonostante ciò questi substrati hanno avuto un successo germinativo non indifferente superando persino, nel caso di *Dryas octopetala*, il trattamento che prevedeva acqua e acido gibberellico.

Un altro parametro di analisi importante è la presenza o meno nei substrati del carbonato di calcio. Tutte le specie analizzate sono basifile, ma i trattamenti effettuati con CaCO_3 e GA3 hanno avuto un effetto positivo solo per certe specie: nelle prove effettuate con *Adenostyles glabra* e *Pulsatilla alpina* si nota come la componente ormonale, sommata alla presenza di calcare, fornisca alle specie maggior successo germinativo. Un caso rilevante è quello di *Dryas octopetala*, in cui le repliche, che hanno goduto del contributo di CaCO_3 (sia da solo sia con l'acido gibberellico), hanno avuto una maggiore germinazione di semi; da ciò si può dedurre che la germinazione di semi di questa pianta sia particolarmente legata alla presenza del carbonato di calcio.

4.2 Germinabilità

Figura 25: Germinabilità *Papaver alpinum*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3. Le differenti lettere minuscole poste sopra le barre di errore evidenziano le differenze significative tra i trattamenti.

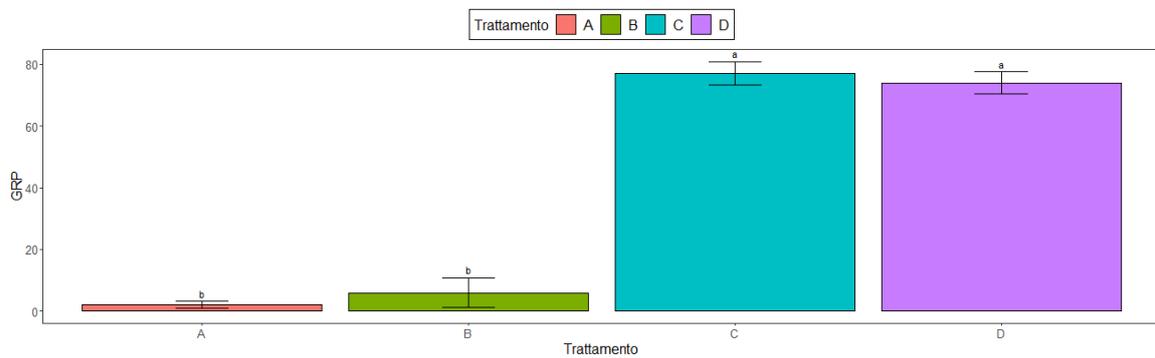


Tabella 1: Risultati del test ANOVA relativi alla germinabilità di *Papaver alpinum*.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Replica	3	19	6	0.097	0.959
Trattamento	3	20499	6833	105.123	2.52e-07 ***
Residuals	9	585	65		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1					

Figura 26: Germinabilità *Dryas octopetala*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3. Le differenti lettere minuscole poste sopra le barre di errore evidenziano le differenze significative tra i trattamenti.

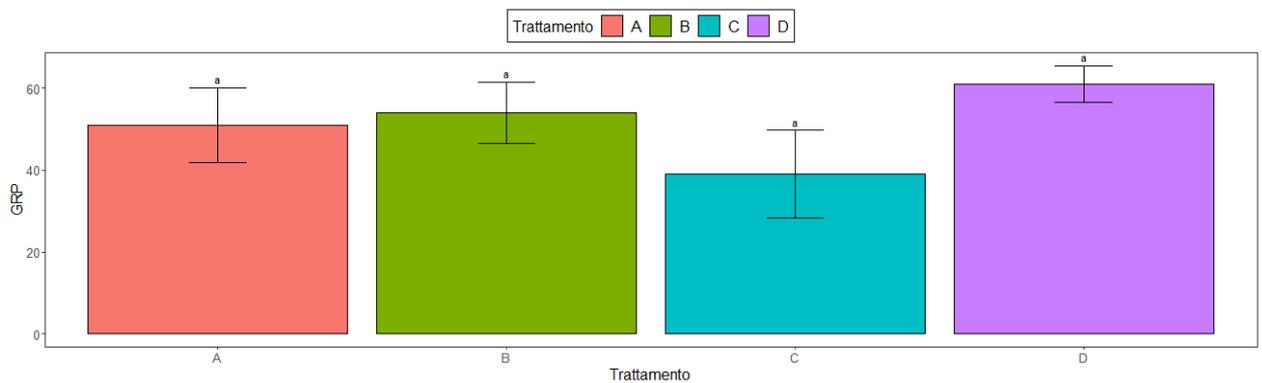


Tabella 2: Risultati del test ANOVA relativi alla germinabilità di *Dryas octopetala*.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Replica	3	1067	355.7	1.423	0.299
Trattamento	3	1011	337.0	1.349	0.319
Residuals	9	2249	249.9		

Figura 27: Germinabilità *Tofieldia calyculata*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3. Le differenti lettere minuscole poste sopra le barre di errore evidenziano le differenze significative tra i trattamenti.

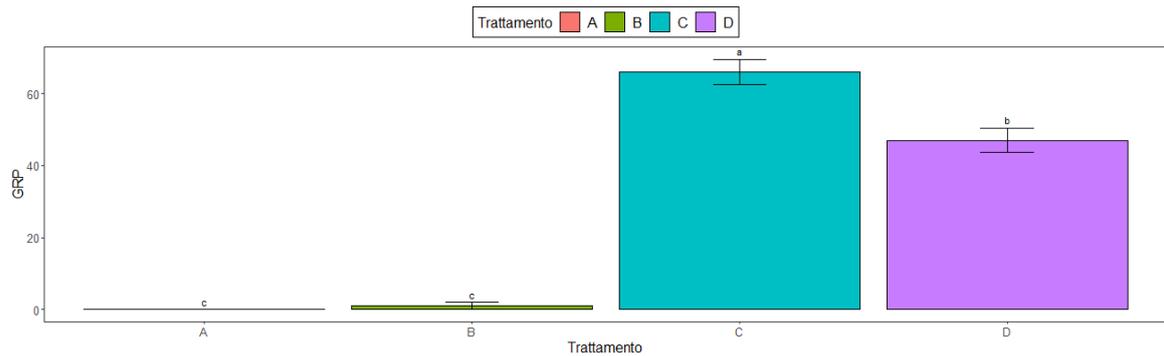


Tabella 3: Risultati del test ANOVA relativi alla germinabilità di *Tofieldia calyculata*.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Replica	3	132	44	2.415	0.134
Trattamento	3	13268	4423	242.707	6.32e-09 ***
Residuals	9	164	18		

 Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Figura 28: Germinabilità *Rumex scutatus*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3. Le differenti lettere minuscole poste sopra le barre di errore evidenziano le differenze significative tra i trattamenti.

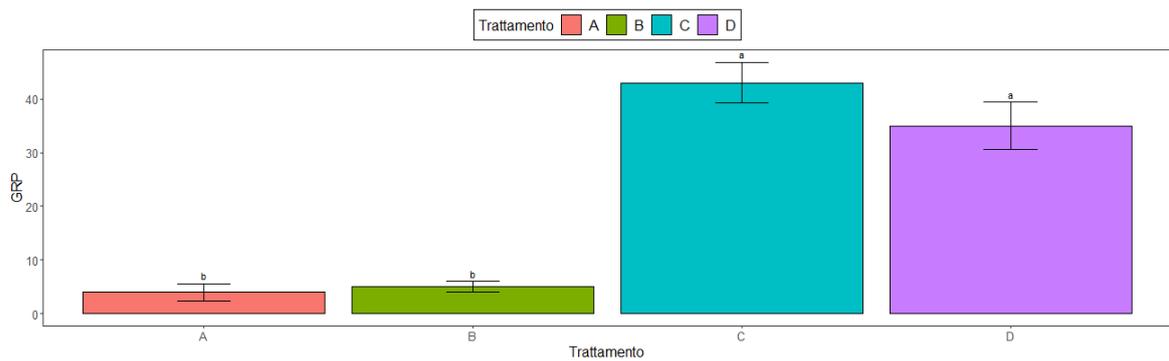


Tabella 4: Risultati del test ANOVA relativi alla germinabilità di *Rumex scutatus*.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Replica	3	187	62.3	2.117	0.168
Trattamento	3	4891	1630.3	55.370	4.01e-06 ***
Residuals	9	265	29.4		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1					

Figura 29: Germinabilità *Adenostyles glabra*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3. Le differenti lettere minuscole poste sopra le barre di errore evidenziano le differenze significative tra i trattamenti.

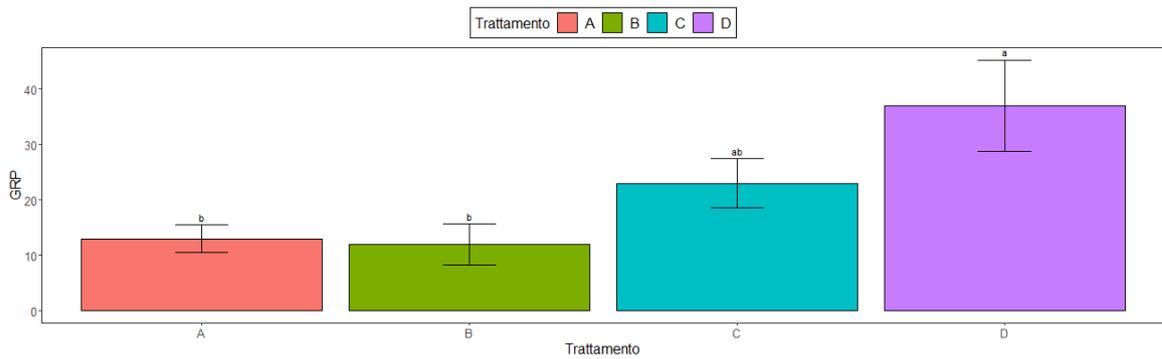


Tabella 5: Risultati del test ANOVA relativi alla germinabilità di *Adenostyles glabra*.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Replica	3	579	193.0	2.464	0.1289
Trattamento	3	1619	539.7	6.889	0.0105 *
Residuals	9	705	78.3		

 Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Figura 30: Germinabilità *Pulsatilla alpina*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3. Le differenti lettere minuscole poste sopra le barre di errore evidenziano le differenze significative tra i trattamenti.

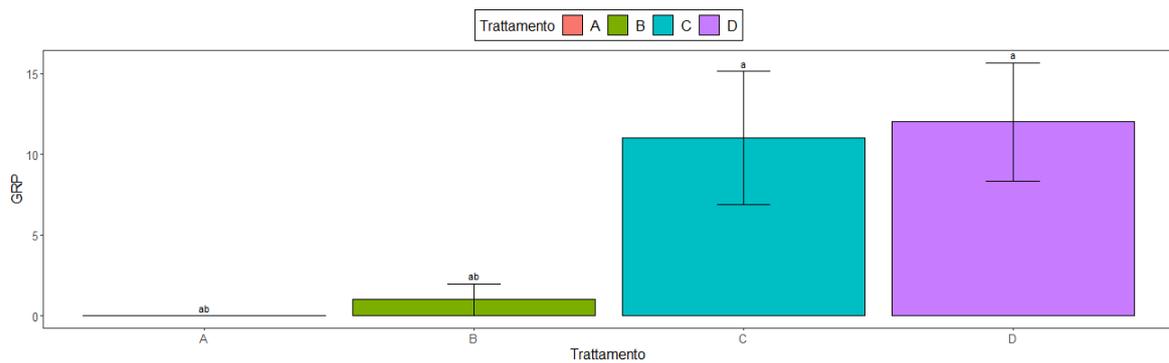


Tabella 6: Risultati del test ANOVA relativi alla germinabilità di *Pulsatilla alpina*.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Replica	3	56	18.67	0.525	0.6760
Trattamento	3	488	162.67	4.575	0.0329 *
Residuals	9	320	35.56		

 Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Figura 31: Germinabilità *Silene vulgaris* subsp. *glareosa*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3. Le differenti lettere minuscole poste sopra le barre di errore evidenziano le differenze significative tra i trattamenti.

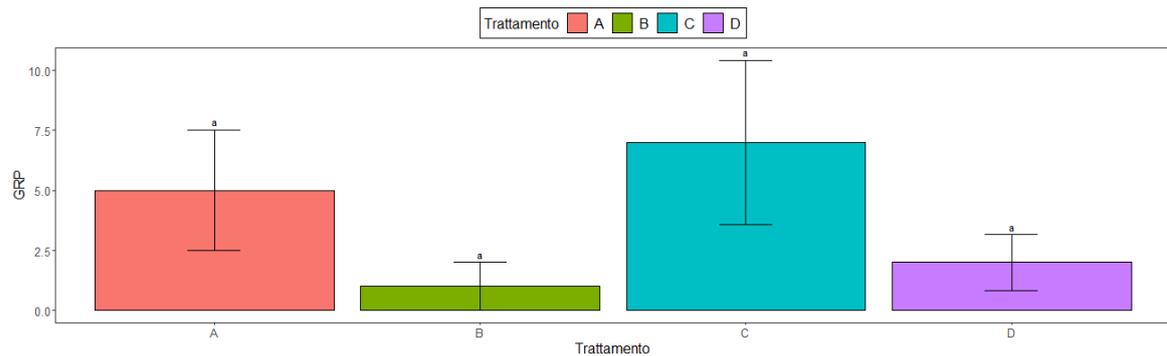


Tabella 7: Risultati del test ANOVA relativi alla germinabilità di *Silene vulgaris* subsp. *glareosa*.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Replica	3	75	25.00	1.331	0.324
Trattamento	3	91	30.33	1.615	0.253
Residuals	9	169	18.78		

Questi grafici e tabelle indicano la percentuale di semi germinati al variare del trattamento, facendo emergere delle differenze statisticamente significative.

La specie che presenta il numero di semi germinati più elevato è *Papaver alpinum* con una percentuale di germinazione che si avvicina all'80% per il trattamento con acqua e gibberelline (che ha portato alla germinazione di 77 semi), una percentuale pari a circa il 77% per quello con gibberelline e CaCO₃ (con 74 semi germinati) e i substrati con solamente acqua e CaCO₃ hanno portato rispettivamente alla germinazione di 2 e 6 semi. Per questa specie, quindi, si può notare chiaramente come l'effetto di GA3 sia stato essenziale per la germinazione e per lo sviluppo della radichetta germinativa dei semi. Senza il trattamento con GA3 è ben chiaro che i semi di *Papaver alpinum* non sarebbero mai germinati *ex-situ* così efficacemente come hanno fatto grazie alla presenza di gibberelline. Il tasso germinativo in trattamenti senza acido gibberellico si aggira infatti intorno a un massimo del 5% e questa discrepanza di risultati è rilevabile dal grafico in Figura 25 e nella Tabella 1.

La specie che ha avuto più semi germinati, dopo *Papaver alpinum*, è *Dryas octopetala*, seguita da *Tofieldia calyculata*. Nel caso di *Dryas octopetala* (Figura 26), si osserva come questa specie abbia avuto un elevato successo germinativo. Sia i trattamenti senza gibberelline sia quelli con gibberelline hanno portato alla germinazione di un discreto numero di radichette germinative. I substrati senza trattamento con GA3 hanno avuto una percentuale di semi germinati pari a circa il 50%: 51 plantule per la base con acqua e 54 per quella con la presenza di CaCO₃. La capsula contenente acqua e GA3 ha evidenziato un valore di circa 40% (con 39 semi germinati), mentre il trattamento con CaCO₃ ha permesso la germinazione del 60% dei semi (con 61 plantule). Per questa specie si nota come la presenza di acido gibberellico non sia particolarmente rilevante per la crescita dei semi: ciò si può dedurre dai valori riportati in Tabella 2. I risultati del test ANOVA, infatti, non hanno mostrato differenze significative fra i trattamenti, i valori indicati nelle colonne del grafico sono simili, ed è per questo che tutte le colonne sono indicate con la lettera "a". Rispetto agli altri grafici è interessante notare che in questo caso l'effetto acqua più gibberelline sia limitante alla germinazione dei semi, contrariamente alle altre 6 specie, per le quali la presenza di questo substrato ha fornito

una forte base di crescita. I semi germinati con questo substrato sono persino minori rispetto ai semi germinati senza l'ausilio di acido gibberellico. Ciò può far supporre che il livello percentuale di germinazione legato alla base di CaCO_3 con gibberelline, che risulta essere il più alto tra i quattro trattamenti, sia marcatamente alto grazie alla presenza della soluzione calcarea, più che alla presenza dell'acido gibberellico.

Altra specie che ha avuto un considerevole successo durante i test è *Tofieldia calyculata*. Questa specie vegetale, similmente a *Papaver alpinum*, ha avuto una buona germinabilità nei substrati con acido gibberellico. Al contrario, i trattamenti senza GA3 risultano di scarsa utilità per portare alla germinazione i semi, se non avere addirittura natura sterile nel caso della base contenente solamente acqua distillata. Le capsule contenenti acqua e GA3 hanno portato alla germinazione di circa il 65% dei semi con 66 semi germinati. La base con CaCO_3 e gibberelline è risultata efficace sul 45% dei semi, con un numero di successi germinativi pari a 47. Come già detto le altre basi, sprovviste della componente ormonale, hanno sortito effetto nullo nel caso del trattamento con acqua, mentre in quello con CaCO_3 si è vista la germinazione di un solo seme. Graficamente queste differenze sono ben visibili nella Figura 27; la Tabella 3 mostra i risultati del test ANOVA: i trattamenti hanno il 99% di possibilità di essere diversi. Come si può notare dal grafico, questa differenza riguarda tutte le quattro colonne.

La specie presa in esame successivamente è *Rumex scutatus* (Figura 28) che è molto simile, per quanto riguarda la tendenza del grafico, alla precedente specie di *Tofieldia calyculata* (Figura 27). Come nel caso appena preso in esame, i substrati con alto successo germinativo sono quelli contenenti l'ormone promotore di crescita, con percentuali di germinazione pari al 45% per il trattamento con acqua e GA3, con un totale di 43 semi germinati, mentre per la base con GA3 e calcare è possibile osservare una percentuale di semi germinati del 37% con 35 semi germinati. Gli altri trattamenti hanno avuto un successo germinativo nettamente inferiore, con 4 plantule per la base con solo acqua e 5 per quella contenente CaCO_3 . In Tabella 4, il test ANOVA mostra la marcata differenza tra le colonne indicanti i trattamenti. Come nel caso di *Tofieldia calyculata* e di *Papaver alpinum*, le colonne vengono divise in due gruppi: il primo gruppo è indicato con la lettera "a" e comprende le colonne con elevato successo e simili tra loro (che sono quelle con la

presenza ormonale), il secondo gruppo è indicato con la lettera “b” e contraddistingue le colonne simili, ma con valori percentuali bassi (quelle indicanti i trattamenti senza GA3). Queste particolari caratteristiche sono riscontrabili in cinque specie su sette, tre delle quali sono state già prese in esame e le rimanenti sono *Adenostyles glabra* e *Pulsatilla alpina*.

In Figura 29 sono mostrati i valori della germinabilità riferiti ad *Adenostyles glabra*. Il grafico della germinazione è simile a quello presentato per le precedenti specie, con un’alta percentuale di germinazione nei trattamenti di base ormonale, mentre una percentuale più bassa nei substrati senza gibberelline. Rispetto alle specie analizzate prima, la quantità di semi germinati è minore e si attesta intorno al 35% (con 37 semi germinati) per il trattamento con acido gibberellico e CaCO₃; per la base contenente solo acqua distillata si è osservata la nascita di 23 plantule con una percentuale pari a circa il 20%. Per i substrati senza GA3, i semi germinati sono circa il 10% del totale: 13 semi con l’acqua e 12 semi per il trattamento con CaCO₃. Queste due ultime colonne sono simili tra loro e sono indicate con la lettera “b”. Nel grafico si può vedere come queste due colonne sono diverse dalle altre due indicanti trattamenti con GA3; esse inoltre non risultano essere uguali tra loro. Si può quindi notare come i quattro trattamenti siano statisticamente diversi. Per *Adenostyles glabra* le gibberelline hanno aiutato la germinazione dei semi, anche se alcuni sono riusciti a germinare ugualmente senza l’aiuto ormonale, e hanno ottenuto un successo maggiore rispetto ai substrati senza GA3 di specie come *Rumex scutatus* in cui i semi germinati senza acido gibberellico sono un numero estremamente esiguo.

Ultimo grafico con sviluppo simile al precedente è quello della *Pulsatilla alpina*, in Figura 30. La colonna più alta è quella indicante il trattamento con calcare e gibberelline e presenta una percentuale germinativa pari al 13% circa, con 12 semi germinati seguita dalla colonna del trattamento con acqua e gibberelline con percentuale simile e 11 semi germinati. Le restanti due colonne sono di altezza simile con la percentuale germinativa prossima a 0% e presentano una plantula nella base contenente solo acqua e una plantula nel substrato calcareo. In questa specie si può notare come l’effetto delle gibberelline sia stato essenziale per la crescita della radichetta germinativa. Senza l’input ormonale i semi

non sarebbero riusciti a germinare nell'arco di tempo preso in esame, come per le specie di *Papaver alpium* e *Tofieldia calyculata*. Negli altri due casi con grafici dello stesso andamento le gibberelline non hanno avuto funzione essenziale per la germinazione ma, grazie al loro utilizzo, si è incrementata la percentuale di semi germinati.

L'ultima specie considerata è *Silene vulgaris* subsp. *glareosa* (Figura 31). Il grafico relativo a questa specie risulta essere anomalo rispetto al precedente: le colonne più alte, indicanti i trattamenti che hanno permesso la germinazione di più semi, sono quelle che comprendono i trattamenti con l'acqua: la base con acqua e gibberelline è indicata con la colonna più alta con un tasso germinativo di circa il 7.3% e 7 semi germinati, seguita dalla colonna rappresentante il substrato contenente solo acqua con una percentuale di circa il 5.5% di semi germinati. Le altre due colonne, con minore efficienza germinativa, sono quelle rappresentanti substrati contenenti CaCO_3 . La percentuale per entrambi non va oltre il 2% e i semi germinati sono uno per il trattamento con calcare e due per il substrato con calcare e gibberelline. Le colonne, nonostante graficamente siano diverse, non sono significativamente diverse a livello statistico, come confermato dalla Tabella 7. In minor misura, per questa specie, si può osservare come la presenza di CaCO_3 sia limitante per la germinazione dei semi e, nel caso di presenza di gibberelline, l'aiuto dato dall'acido gibberellico sia visibile. Tra i vari substrati, infatti, il maggiore successo germinativo lo hanno avuto quelli con solo acqua; tra i due trattamenti con acqua e i due con calcare, con basso successo germinativo, le basi che hanno favorito maggiormente la germinazione di semi sono quelle addizionate alle gibberelline.

Dai grafici della germinabilità si può dedurre che, tranne nel caso di *Dryas octopetala*, l'effetto delle gibberelline per la geminazione dei semi delle piante considerate, sia sempre marcato nelle specie studiate, anche se in misura più influente in alcune specie rispetto ad altre. *Dryas octopetala*, invece, non subisce particolari variazioni nella crescita della radichetta in presenza di GA3. Questa informazione ci può far dedurre che la pianta sia molto versatile e possa avere un successo germinativo, anche *ex-situ*, senza bisogno di nessun tipo di promotore ormonale.

4.3 Velocità di germinazione

Figura 32: Velocità di germinazione riferita a *Papaver alpinum*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3. Le differenti lettere minuscole poste sopra le barre di errore evidenziano le differenze significative tra i trattamenti.

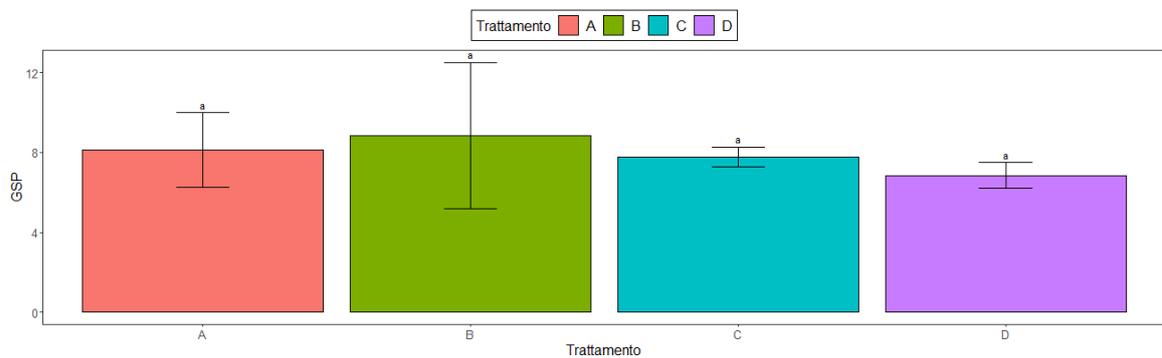


Tabella 8: Risultati del test ANOVA relativi alla velocità di germinazione di *Papaver alpinum*.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Replica	3	14.718	4.906	1.077	0.438
Trattamento	3	9.877	3.292	0.722	0.580
Residuals	5	22.787	4.557		

Figura 33: Velocità di germinazione riferita a *Dryas octopetala*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3. Le differenti lettere minuscole poste sopra le barre di errore evidenziano le differenze significative tra i trattamenti.

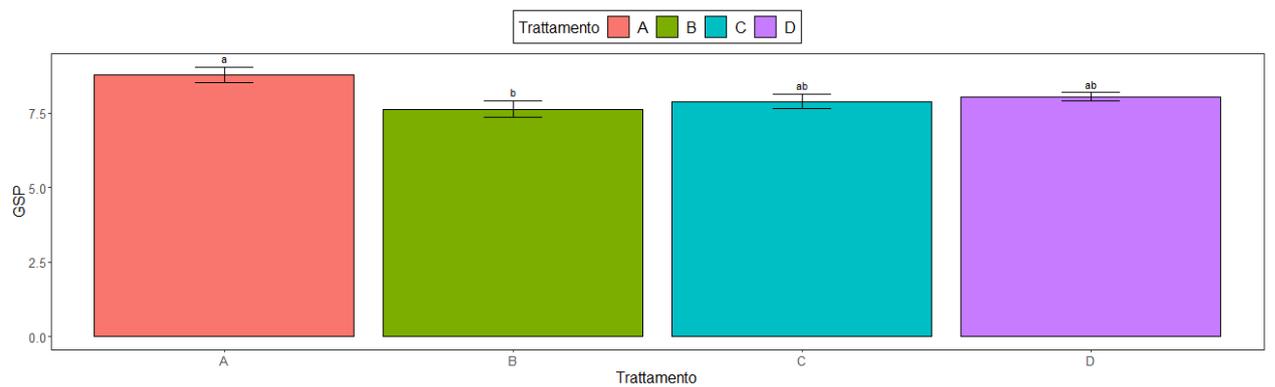


Tabella 9: Risultati del test ANOVA relativi alla velocità di germinazione di *Dryas octopetala*.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Replica	3	0.5282	0.1761	0.721	0.5644
Trattamento	3	2.9327	0.9776	4.002	0.0459 *
Residuals	9	2.1983	0.2443		

Figura 34: Velocità di germinazione riferita a *Tofieldia calyculata*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3. Le differenti lettere minuscole poste sopra le barre di errore evidenziano le differenze significative tra i trattamenti.

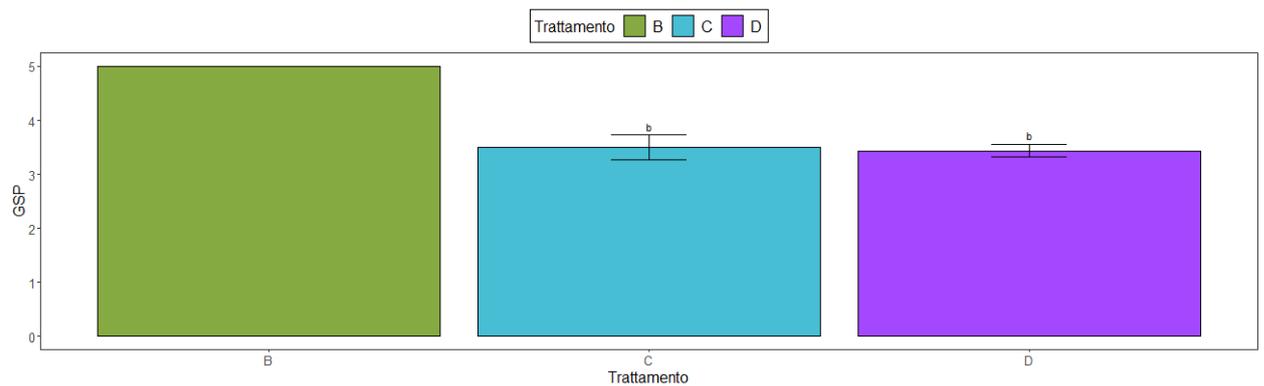


Tabella 10: Risultati del test ANOVA relativi alla velocità di germinazione di *Tofieldia calyculata*.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Replica	3	1.3030	0.4343	2.745	0.214
Trattamento	2	1.1504	0.5752	3.636	0.158
Residuals	3	0.4746	0.1582		

Figura 35: Velocità di germinazione riferita a *Rumex scutatus*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3. Le differenti lettere minuscole poste sopra le barre di errore evidenziano le differenze significative tra i trattamenti.

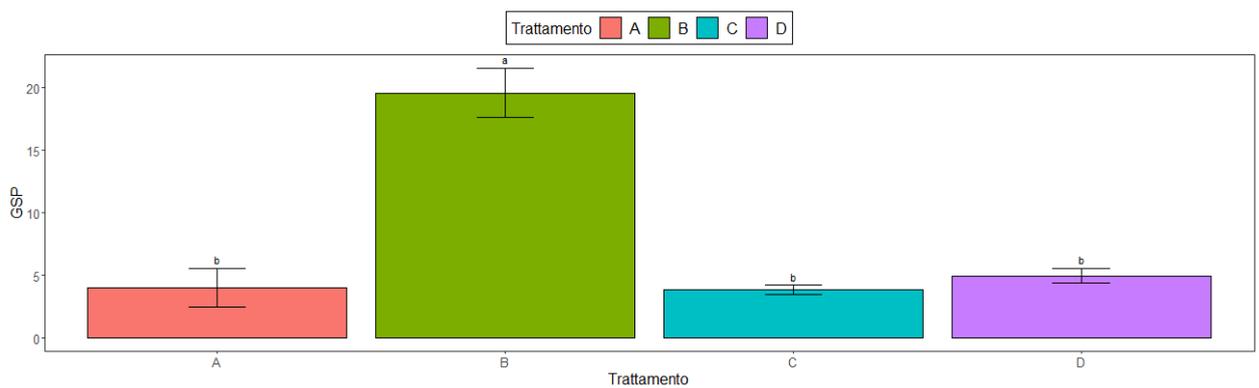


Tabella 11: Risultati del test ANOVA relativi alla velocità di germinazione di *Rumex Scutatus*.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Replica	3	56.3	18.77	4.278	0.0445 *
Trattamento	3	663.3	221.09	50.376	1.54e-05 ***
Residuals	8	35.1	4.39		

 Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Figura 36: Velocità di germinazione riferita a *Adenostyles glabra*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3. Le differenti lettere minuscole poste sopra le barre di errore evidenziano le differenze significative tra i trattamenti.

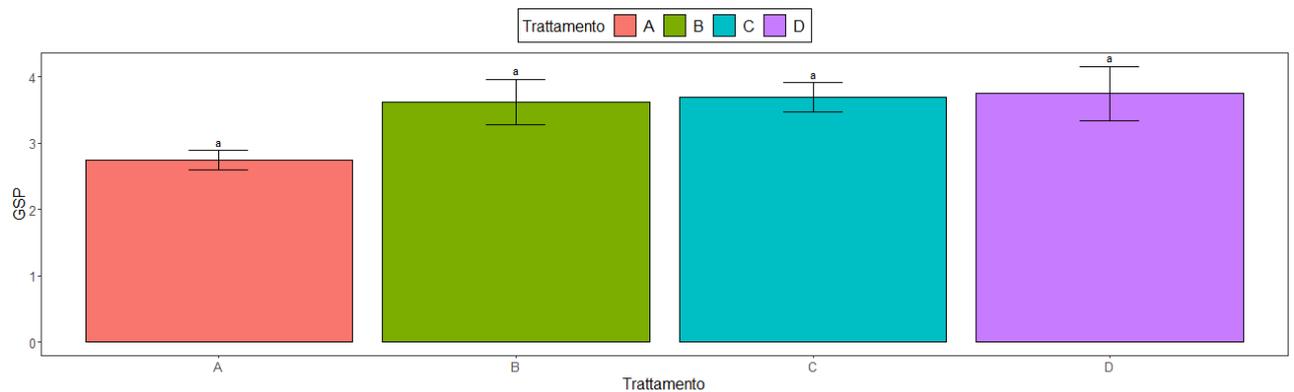


Tabella 12: Risultati del test ANOVA relativi alla velocità di germinazione di *Adenostyles glabra*.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Replica	3	1.550	0.5168	1.708	0.2344
Trattamento	3	2.680	0.8933	2.953	0.0906 .
Residuals	9	2.723	0.3025		

Figura 37: Velocità di germinazione riferita a *Pulsatilla alpina*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3. Le differenti lettere minuscole poste sopra le barre di errore evidenziano le differenze significative tra i trattamenti.

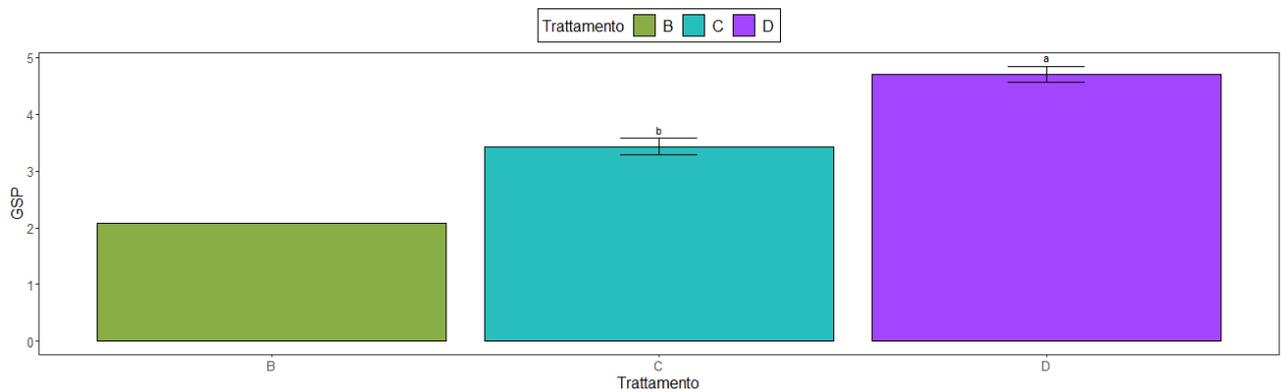


Tabella 13: Risultati del test ANOVA relativi alla velocità di germinazione di *Pulsatilla alpina*.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Replica	3	1.209	0.4029	5.047	0.10833
Trattamento	2	5.776	2.8881	36.179	0.00794 **
Residuals	3	0.239	0.0798		

 Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Figura 38: Velocità di germinazione riferita a *Silene vulgaris* subsp. *glareosa*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3. Le differenti lettere minuscole poste sopra le barre di errore evidenziano le differenze significative tra i trattamenti.

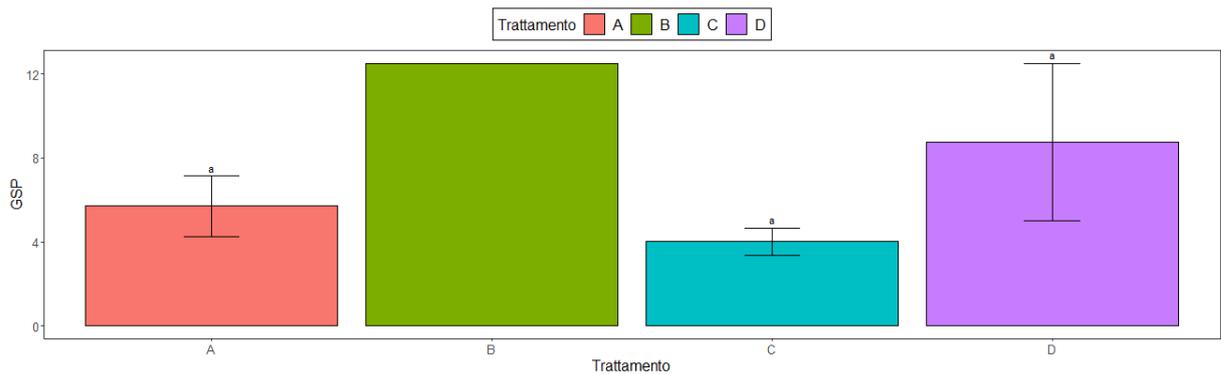


Tabella 14: Risultati del test ANOVA relativi alla velocità di germinazione di *Silene vulgaris* subsp. *glareosa*.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Replica	3	62.53	20.845	5.016	0.171
Trattamento	3	38.80	12.932	3.112	0.253
Residuals	2	8.31	4.156		

I grafici qui proposti rappresentano la velocità di germinazione, in percentuale, delle diverse specie prese in esame. La prima specie analizzata è *Papaver alpinum*. Nel grafico in Figura 32 si può chiaramente vedere come i trattamenti che hanno portato alla germinazione di una quantità di semi più velocemente di altri sono le basi senza componente ormonale. Esse infatti hanno una percentuale di velocità di germinazione pari a circa l'8% nella base con solo acqua e il 10% circa per il substrato contenente CaCO_3 . Gli altri substrati presentano un valore percentuale minore, che si attesta intorno al 7% per il trattamento con acqua e gibberelline e al 6% per la restante base di gibberelline e CaCO_3 . Questo è significativo poiché il grafico della germinabilità percentuale ci mostra come i semi germinati risultano essere maggiori in capsule, in cui è stato aggiunto dell'acido gibberellico. Ciò significa che la presenza di GA3 ha aumentato notevolmente la percentuale di semi germinati, ma i substrati che hanno permesso la germinazione della radichetta germinativa più velocemente sono quelli non trattati con questo fattore di aiuto. Nel grafico della velocità di germinazione, infatti, si può notare come questi due ultimi substrati presentino un coefficiente di velocità minore rispetto ai primi due, nonostante si noti l'assenza di GA3. Questo può far supporre che l'effetto ormonale sia efficace solo per quanto riguarda il numero di semi germinati e non la velocità con cui essi germinano. In Tabella 8 sono indicati i risultati del test ANOVA, dal quale si può osservare che i trattamenti non sono significativamente differenti e perciò le colonne risultano simili: in piccola scala sono osservabili delle diversità, che però sono poco rilevanti.

Il grafico in Figura 33 presenta la velocità di germinazione di *Dryas octopetala*. Le percentuali che indicano la velocità di germinazione sono tutte vicine tra loro al variare dei trattamenti: per il primo substrato il valore si attesta all'8%, mentre per tutti gli altri substrati è pressoché uguale ed è pari al 7.5%. Per questa specie è ipotizzabile quindi che, con qualsiasi substrato o trattamento effettuato, i semi sono riusciti a sviluppare, con velocità simili, un numero di radichette che risulta essere molto simile in tutti i trattamenti, con una sola carenza nel caso della capsula contenente acqua e gibberelline.

Il grafico in Figura 34 è riferito a *Tofieldia calyculata*. Nel grafico si osserva la presenza di solamente tre colonne, poiché la capsula contenente il trattamento con acqua non

presenta semi germinati. Il secondo substrato, contenente la base con CaCO_3 , ha ottenuto la germinazione di una sola plantula ed è stato quello che ha permesso la germinazione di un seme in modo visibilmente più veloce rispetto alle altre basi, con un valore di circa il 5%. Gli altri substrati di crescita sono quelli comprendenti acido gibberellico, addizionato ad acqua oppure a CaCO_3 . In questi due casi si osserva come il valore percentuale della velocità di germinazione sia del 3.5% circa. Da queste osservazioni si può notare che, nonostante ci sia un grande successo germinativo per ciò che riguarda gli ultimi due substrati con GA3, la velocità con cui essi germinano è minore rispetto a quella del substrato contenente CaCO_3 . Questo dato risulta però poco attendibile, poiché vi è un solo seme germinato su cui basare le osservazioni e perciò la velocità con cui è germinato è poco rilevante. Per le altre due colonne si può concludere che la velocità con cui la radichetta germinativa si è formata in tutti i semi sia la stessa.

La quarta specie presa in esame è *Rumex scutatus*, dal cui grafico è possibile osservare uno sviluppo particolare per quanto riguarda le percentuali di velocità. La colonna indicante il valore più elevato è quella che fa riferimento al trattamento con CaCO_3 , con un valore di circa il 20%. Questa percentuale è elevata rispetto a tutti gli altri trattamenti, che si avvicinano ad un valore di circa il 5%. Il fatto che solo il trattamento con il calcare sia risultato essere così veloce per la germinazione dei semi è curioso: i semi risultano essere germinati in numero maggiore nei trattamenti con gibberelline, con il 40% dei semi germinati, ma con una velocità quattro volte minore rispetto a quella con cui è germinato solamente il 5% dei semi trattati con il calcare. Questo può far presupporre che i trattamenti con GA3 abbiano fornito un importante *input* germinativo ma, dalle osservazioni, risulta che l'acido gibberellico sia un "freno" per quanto riguarda la velocità di germinazione, contrariamente alla base di solo calcare. L'unione di questi due fattori benefici (nella base contenente GA3 e CaCO_3) non porta ad un eccellente risultato: il trattamento non fornisce infatti un riscontro positivo per quanto riguarda la velocità di germinazione. Un altro particolare che rende *Rumex scutatus* degna di nota è dato dal fatto che sia l'unica delle 7 specie ad avere una differenza di valori non solo tra i trattamenti, ma anche tra le repliche. Nella Tabella 11 si può infatti osservare come vi sia la possibilità che i trattamenti siano diversi al 99% e le repliche lo siano al 95%.

Nella Figura 36 si può osservare il grafico riguardante *Adenostyles glabra*. Qui è presentato il grafico della velocità di germinazione che riporta, per i trattamenti presi in esame, un valore di circa 3.5%, con un unico indice leggermente diverso, rintracciabile nel trattamento con solamente acqua distillata, pari al 3%. Ciò è significativo, poiché nella Figura 29, in cui è riportata la quantità di semi germinati con i vari substrati, si può osservare come i due trattamenti senza GA3 abbiano riportato un successo di germinazione del 12% e come il trattamento con acqua e gibberelline abbia riportato un tasso germinativo del 20%; nell'ultimo substrato, contenente CaCO₃ e gibberelline, si è rilevato un tasso germinativo pari al 35%. Il dato cumulativo sulla germinazione è un parametro rilevante, perché ci mostra come i semi, a prescindere dal substrato su cui sono stati posti, siano riusciti a germinare con la stessa velocità e quindi l'effetto del calcare e delle gibberelline è riscontrabile solamente sulla quantità di semi germinati, poiché la velocità con cui essi germinano è la medesima. Uno svantaggio, in termini di velocità di germinazione, si è rilevato nella base costituita da acqua distillata.

La penultima specie presa in esame è *Pulsatilla alpina*. Come per *Tofieldia calyculata* il grafico riporta solamente tre colonne a causa della mancanza di semi germinati con il trattamento basato su acqua distillata. Le restanti tre colonne presentano valori percentuali diversi tra loro: il trattamento con CaCO₃ riporta un valore del 2% ma, come nel caso di *Tofieldia calyculata*, questo dato è inutilizzabile, poiché si riferisce alla germinazione di un solo seme. Per le restanti due colonne si osserva un valore del 3.5% per la base con acqua e GA3 e del 4.5% per quella con CaCO₃ e GA3. Nella Figura 30 si può osservare come le percentuali di semi germinati con i due diversi trattamenti ormonali siano simili, contrariamente ai valori riguardanti le velocità. La presenza di CaCO₃ risulta essere quindi di beneficio, come per la specie di *Tofieldia calyculata*, poiché grazie ad esso sono germinati più semi più velocemente rispetto al trattamento con acqua, sia nel caso di aggiunta delle gibberelline sia senza di esse.

L'ultima specie, riportata nella Figura 38, è quella di *Silene vulgaris*. In questo grafico si può vedere come i trattamenti con il calcare abbiano portato i semi a germinare molto più velocemente rispetto alle basi con acqua. Nel caso in cui si prenda in analisi la presenza o meno di GA3, i semi presenti nei substrati senza l'acido gibberellico sono stati

più efficienti in termini di velocità di germinazione. Nel caso del substrato contenente acqua, la velocità di germinazione si attesta intorno ad un valore pari al 5.8% mentre, nonostante sia poco rilevante poiché rappresenta la germinazione di un solo seme, la colonna indicante la base con CaCO_3 arriva ad un valore del 12%. Gli altri due trattamenti assumono valori inferiori: 3.9% per quanto riguarda acqua e gibberelline e 9.5% per quanto concerne il trattamento con CaCO_3 e GA3. Nel grafico di Figura 31 si osserva come il maggior numero di semi germinati si riscontri nei substrati privi della componente calcarea. Questo è rilevante poiché ci porta a pensare che il maggior successo germinativo sia legato all'acqua, mentre la velocità di germinazione sia maggiore se in presenza di CaCO_3 . Questa è una particolarità riscontrata solo in questa specie e ci mostra l'attitudine della pianta ad avere più successo, a livello di numero di semi germinati, in ambienti senza considerevole presenza di calcare, mentre quest'ultimo fattore è ciò che permette ai semi di germinare, anche se in numero inferiore, con una velocità più elevata.

In questi grafici, relativi alle velocità di germinazione, è riscontrabile un fattore comune nelle specie di *Papaver alpinum*, *Rumex scutatus* e *Silene vulgaris* e cioè quello di avere come fattore limitante la velocità di germinazione la presenza del GA3. Come già detto, questi *input* ormonali portano ad uno sviluppo maggiore in termini di quantità in tutte le specie ma, nel caso di queste ultime tre, sono un fattore di rallentamento della velocità di germinazione.

4.4 Tempo di germinazione

Figura 39: Tempo di germinazione di *Papaver alpinum*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3. Le differenti lettere minuscole poste sopra le barre di errore evidenziano le differenze significative tra i trattamenti.

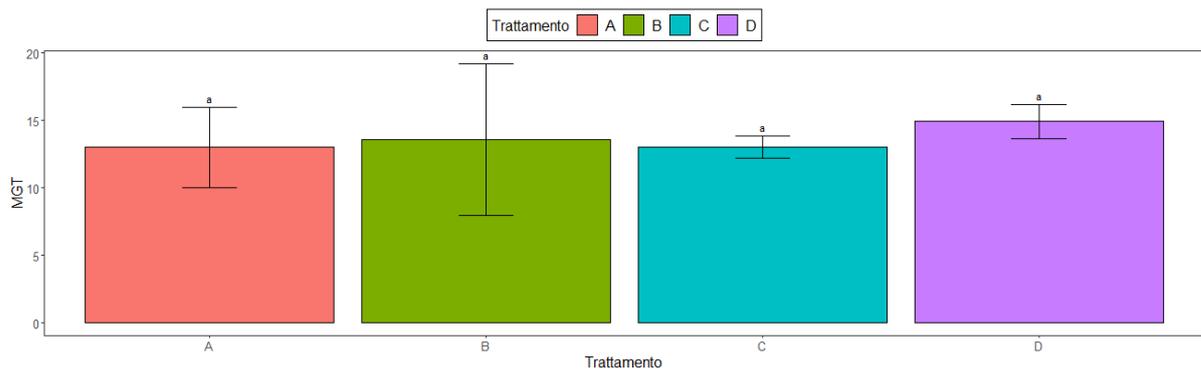


Tabella 15: Risultati del test ANOVA relativi al tempo di germinazione di *Papaver alpinum*.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Replica	3	45.70	15.234	1.289	0.374
Trattamento	3	12.64	4.212	0.357	0.787
Residuals	5	59.07	11.814		

Figura 40: Tempo di germinazione di *Dryas octopetala*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3. Le differenti lettere minuscole poste sopra le barre di errore evidenziano le differenze significative tra i trattamenti.

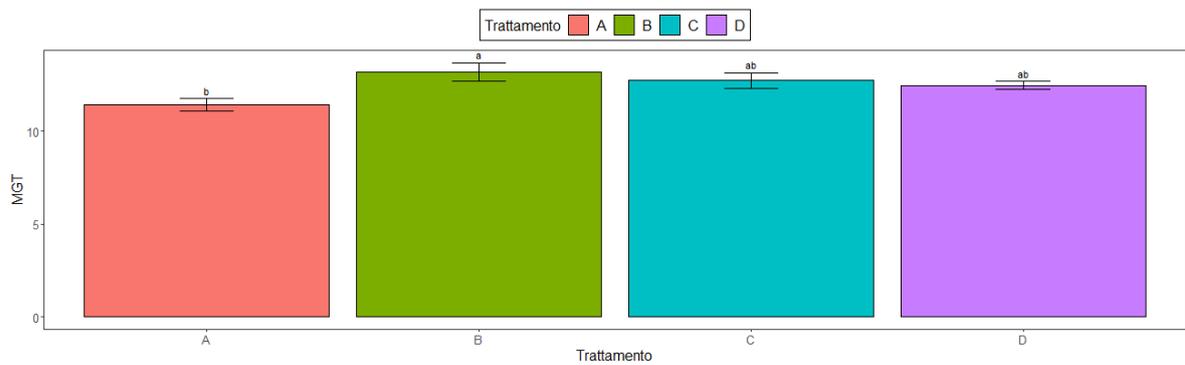


Tabella 16: Risultati del test ANOVA relativi al tempo di germinazione di *Dryas octopetala*.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Replica	3	1.700	0.5667	0.981	0.4439
Trattamento	3	6.591	2.1971	3.803	0.0519 .
Residuals	9	5.199	0.5777		

Figura 41: Tempo di germinazione di *Tofieldia calyculata*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3. Le differenti lettere minuscole poste sopra le barre di errore evidenziano le differenze significative tra i trattamenti.

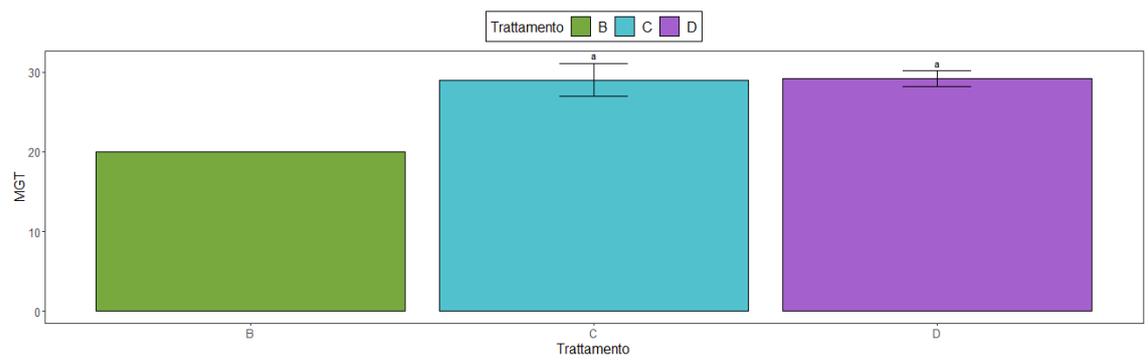


Tabella 17: Risultati del test ANOVA relativi al tempo di germinazione nei trattamenti di *Tofieldia calyculata*.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Replica	3	67.00	22.33	1.875	0.309
Trattamento	2	33.76	16.88	1.417	0.369
Residuals	3	35.73	11.91		

Figura 42: Tempo di germinazione di *Rumex scutatus*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3. Le differenti lettere minuscole poste sopra le barre di errore evidenziano le differenze significative tra i trattamenti.

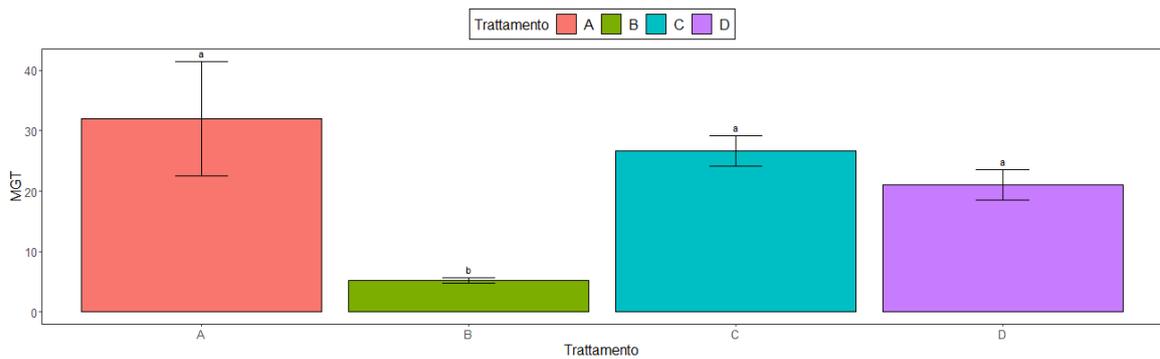


Tabella 18: Risultati del test ANOVA relativi al tempo di germinazione nei trattamenti di *Rumex scutatus*.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Replica	3	309.2	103.1	1.650	0.2537
Trattamento	3	1362.9	454.3	7.273	0.0113 *
Residuals	8	499.7	62.5		

 Signif. codes: 0 '****' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Figura 43: Tempo di germinazione di *Adenostyles glabra*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3. Le differenti lettere minuscole poste sopra le barre di errore evidenziano le differenze significative tra i trattamenti.

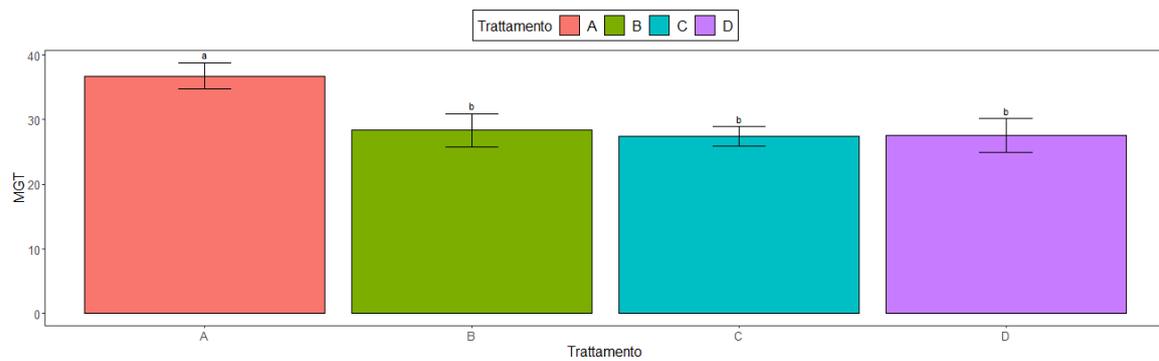


Tabella 19: Risultati del test ANOVA relativi al tempo di germinazione di *Adenostyles glabra*.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Replica	3	82.37	27.46	1.575	0.262
Trattamento	3	244.82	81.61	4.681	0.031 *
Residuals	9	156.91	17.43		

Figura 44: Tempo di germinazione di *Pulsatilla alpina*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3. Le differenti lettere minuscole poste sopra le barre di errore evidenziano le differenze significative tra i trattamenti.

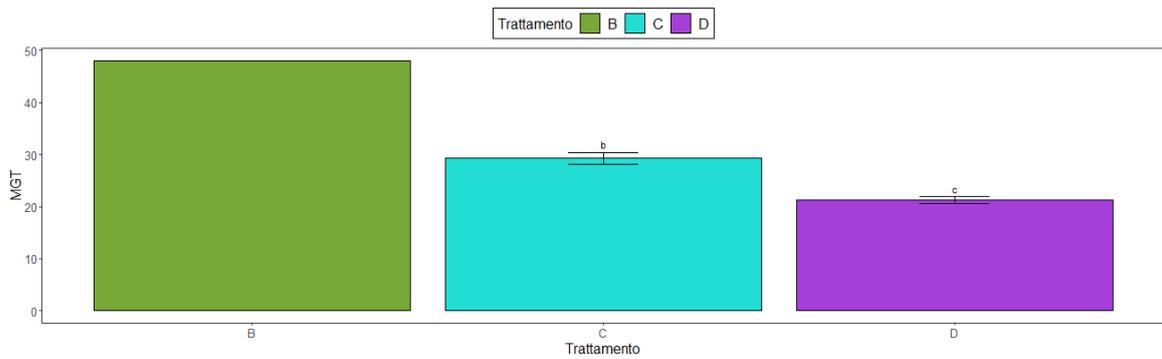


Tabella 20: Risultati del test ANOVA relativi al tempo di germinazione di *Pulsatilla alpina*.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Replica	3	133.2	44.42	12.76	0.03251	*
Trattamento	2	462.5	231.25	66.45	0.00328	**
Residuals	3	10.4	3.48			

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1						

Figura 45: Tempo di germinazione di *Silene vulgaris* subsp. *glareosa*. Legenda: A, trattamento con acqua (controllo); B, trattamento con acqua e calcare; C, trattamento con acqua e GA3; D, trattamento con acqua, calcare e GA3. Le differenti lettere minuscole poste sopra le barre di errore evidenziano le differenze significative tra i trattamenti.

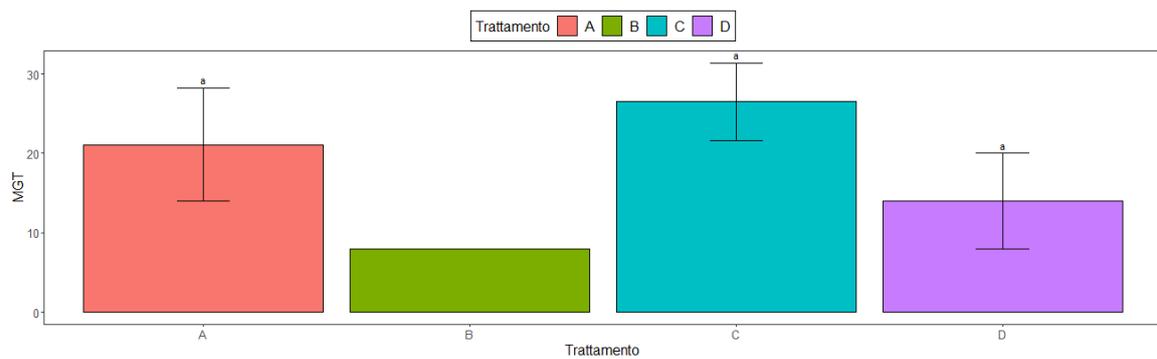


Tabella 21: Risultati del test ANOVA relativi al tempo di germinazione di *Silene vulgaris* subsp. *glareosa*.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Replica	3	566.2	188.73	3.829	0.214
Trattamento	3	198.4	66.14	1.342	0.454
Residuals	2	98.6	49.29		

Il grafico in Figura 39 è quello relativo a *Papaver alpinum*. È possibile osservare come per ogni substrato di crescita i tempi di germinazione siano simili tra loro e varino di pochissimo. Per le quattro basi si nota come la media dei tempi di germinazione si ha tra il 13° e 14° giorno. I trattamenti che hanno permesso la germinazione dei semi in minor tempo, anche se le differenze rispetto agli altri sono minime, sono quelli con CaCO_3 e acqua con gibberelline, come era stato previsto in Figura 32, nel grafico indicante la velocità di germinazione. Questi dati grafici risultano essere completamente diversi rispetto a quelli sviluppati nelle colonne del grafico sulla quantità di semi germinati. In Figura 25, infatti, è presentato un elevato numero di semi germinati in substrati contenenti GA3. Questi dati si discostano da quelli relativi a GSP e MGT poiché la velocità e il tempo di germinazione non presentano valori particolari. Infatti i valori sono simili a quelli degli altri trattamenti. Si può dedurre quindi che le gibberelline fungano solo da promotore di germinazione e non da fattore accelerante la germinazione.

Il secondo grafico dello studio relativo ai tempi di germinazione presenta *Dryas octopetala*, per la quale è possibile notare la presenza di un trattamento che, diversamente dagli altri, ha portato ad una germinazione dei semi più velocemente che con altre basi. Questo trattamento è quello contenente solo acqua distillata e ha permesso la germinazione della maggior parte dei semi all'11° osservazione circa. Gli altri substrati sono risultati efficienti in un tempo più lungo, più verosimilmente intorno alla 13°/14° rilevazione. La maggior efficacia del substrato trattato con acqua distillata si può notare anche nel grafico delle velocità in Figura 33, in cui si osserva che i semi posti in questo substrato sono germinati in breve tempo e più velocemente rispetto agli altri. Analizzando e comparando i grafici indicanti la GSP e il MGT con quello tracciato in base al numero di semi germinati, in Figura 26, si può osservare come non emergano particolari correlazioni tra la quantità di semi germinati e la velocità/tempo di germinazione.

Il terzo grafico (Figura 41) riguarda il tempo di germinazione di *Tofieldia calyculata*. In esso vengono rappresentate tre colonne. La prima è quella inerente il trattamento con CaCO_3 , il valore che viene riportato corrisponde al 19° giorno, ma non può essere considerato poiché è riferito alla germinazione di un solo seme. Per gli altri due substrati si nota come le colonne indichino un valore temporale pari al 26°/27° giorno di

osservazione. I due substrati risultano comportarsi allo stesso modo sia per la velocità di germinazione (Figura 34) sia per il tempo, mentre vi è discrepanza con il tasso di germinazione (Figura 27). Il substrato composto da CaCO_3 e gibberelline risulta efficace, in termini di tempo e velocità, in egual misura al trattamento con acqua e gibberelline, mentre per quanto riguarda il numero di semi germinati, il primo substrato (con GA3 e CaCO_3) risulta meno adatto rispetto al secondo (con acqua e GA3). Ciò può fare pensare che il trattamento con calcare e GA3 sia più limitante e meno efficace rispetto a quello contenente acqua e GA3, ma questa è solamente una supposizione, poiché non si può confermare tale ipotesi mancando il riscontro dei trattamenti senza componente ormonale.

In Figura 42 è possibile osservare il grafico relativo al tempo di germinazione di *Rumex scutatus*. I valori che si possono riscontrare risultano essere particolarmente diversificati: nel trattamento con acqua la maggior parte dei semi è germinata alla 30° osservazione, mentre per quello con CaCO_3 alla 4°. Per i substrati con GA3 si può notare che la germinazione dei semi è avvenuta al 22° giorno. I substrati con la componente calcarea hanno quindi permesso ai semi di germinare più velocemente. Questa particolare efficienza del trattamento con CaCO_3 si può dedurre anche dal grafico di velocità di germinazione (Figura 35) e da quello della germinazione dei semi (Figura 28). Da questi grafici si nota come i trattamenti con acqua risultino meno efficienti, per quanto riguarda la velocità con cui i semi germinano, rispetto al substrato con calcare e gibberelline, nonostante nel trattamento con acqua e GA3 il numero di semi germinati sia maggiore.

La quinta specie presa in esame è quella di *Adenostyles glabra*. Come si poteva dedurre dal grafico della velocità (Figura 36), il tempo di germinazione minore si riscontra nel substrato contenente acqua distillata. La colonna che indica questo trattamento ha un valore temporale di circa 33 osservazioni, a differenza degli altri tre substrati, che risultano simili, come nel caso della velocità, con un valore di circa 25 osservazioni. Nel grafico in Figura 29 si osserva che la base con il minor successo germinativo è quella contenente acqua. Quest'ultima, nonostante sia stata la più veloce a promuovere la germinazione dei semi, è quella che, successivamente alla base contenente CaCO_3 , ha permesso la germinazione di un minor numero di semi. Il substrato con CaCO_3 e GA3 è

risultato essere invece quello più adatto a promuovere la germinazione dei semi in termine di numero, ma i parametri di velocità e di tempo sono risultati essere simili a quelli degli altri trattamenti (escluso quello con solamente acqua). La stessa considerazione può essere effettuata per il trattamento con acqua e GA3, in cui si osserva che è il secondo substrato in termini di percentuale germinativa, ma risulta uguale ad altri due substrati (CaCO₃ e CaCO₃ con GA3) per quel che riguarda velocità e tempo di germinazione. Da tutto questo si può dedurre che le gibberelline siano un grande *input* per far aumentare i semi germinati, ma il substrato che permette loro di germinare più velocemente sia quello con acqua.

La penultima specie esaminata è *Pulsatilla alpina*, nella Figura 44. Come per *Tofieldia calyculata* vi sono tre colonne e quella indicante il trattamento con CaCO₃, con un valore temporale rappresentato dalla 42° osservazione, non è utilizzabile, poiché riguarda la germinazione di un solo seme. Per i restanti due trattamenti, si nota che i semi nel substrato con acqua e gibberelline sono germinati successivamente, intorno alla 27° osservazione in media, rispetto ai semi posti in calcare e gibberelline, che sono germinati alla 18° osservazione. Paragonando questo grafico alla Figura 37 (velocità di germinazione), e alla Figura 30 (tasso di germinazione), è osservabile come il substrato con CaCO₃ e gibberelline abbia permesso la germinazione di più semi, che tuttavia sono germinati più lentamente rispetto al trattamento con acqua e GA3.

L'ultimo grafico è quello relativo al tempo di germinazione di *Silene vulgaris*. In esso si osserva come le basi contenenti acqua abbiano permesso la germinazione dei semi più lentamente rispetto alle basi calcaree (la germinazione è avvenuta per la maggior parte dei semi alla 20° osservazione per la base con acqua distillata e alla 25° per quella con acqua e gibberelline). I substrati con CaCO₃, invece, hanno permesso uno sviluppo della plantula ben più rapido rispetto ai precedenti, alla 7° osservazione per il trattamento con CaCO₃ e alla 12° per quello con calcare GA3. Analizzando anche i precedenti grafici della stessa specie (Figura 31 per la germinabilità e Figura 38 per la velocità di germinazione) si può ipotizzare che le basi costituite dall'acqua siano più efficienti in termini di percentuale dei semi germinati e meno efficienti per quanto riguarda il tempo in cui essi germinano, contrariamente ai substrati con calcare.

Esattamente come l'ipotesi fatta per la velocità di germinazione, si può dire che i composti ormonali sembrerebbero limitare la velocità di germinazione dei semi, anche a livello temporale calcolato sulla media della maggior parte dei semi germinati, e non solamente sulle percentuali della velocità di germinazione dei singoli semi e repliche.

CONCLUSIONI

Il lavoro svolto, mirato a studiare le potenzialità germinative di alcune specie, ha portato alla luce diversi risultati interessanti. In primo luogo ha mostrato che non tutte le 9 specie studiate sono riuscite a germinare, infatti nel caso di *Laserpitium peucedanoides* e di *Laserpitium krapfii*, i semi non sono riusciti a sviluppare la loro radichetta. Questa mancata germinazione può avere vari motivi, difficili da rintracciare. Bisogna in primo luogo premettere che la causa non è attribuibile alla diversa altitudine a cui le specie vegetali germinano, dato che questa specie vive in un ambiente alpino che va dai 200 ai 2700 m.s.l.m. Si può supporre che il fattore ostacolante la germinazione sia da rintracciarsi in fattori come la mancanza di elementi essenziali nel substrato o un particolare fabbisogno di acqua e/o di luce. Anche la presenza di GA3 non ha promosso la germinazione dei semi e quindi si può dedurre che la causa sia un fattore abiotico ambientale.

Altra considerazione importante, che si può fare osservando tutti i grafici, è che per *Papaver alpinum*, *Tofieldia calyculata*, *Rumex scutatus* e *Pulsatilla alpina* l'acido gibberellico sia stato essenziale per permettere ai semi l'inizio del processo germinativo in laboratorio. Di queste specie solo *Pulsatilla alpina* e *Papaver alpinum* risultano essere piante che hanno un ambiente ottimale di crescita ad altitudini maggiori rispetto alle altre. Ciò significa che la presenza di gibberelline ha permesso loro di germinare al di fuori del loro ambiente, a differenza dei semi di *Tofieldia calyculata* e *Rumex scutatus*, specie che si adattano ad altitudine minore. Anche per queste due specie si è vista la germinazione dei semi solo grazie alla presenza di GA3. L'operato dell'ormone GA3 è da ricercarsi nella presenza di qualche ostacolo nel substrato di crescita o nelle condizioni in cui il test è stato effettuato. Una possibile causa è data dall'assenza di specifiche condizioni ambientali o da un fabbisogno particolare di acqua e/o sole.

Per *Dryas octopetala*, *Adenostyles glabra*, *Silene vulgaris* subsp. *glareosa* l'effetto dell'acido gibberellico è stato minore: nel caso di *Adenostyles glabra* la presenza di GA3

ha portato alla germinazione di circa 10 semi in più rispetto ai substrati senza questo fattore di aiuto. Per *Silene vulgaris* subsp. *glareosa*, invece, l'effetto dell'acido gibberellico ha aiutato la germinazione di solo 2 semi in più nel trattamento a base di acqua e GA3 rispetto a quello con acqua. Per *Dryas octopetala* non vi è stato nessun effetto positivo per la germinazione dei semi nell'uso dell'acido gibberellico nei trattamenti.

Prendendo in esame i substrati (trattamenti) si è potuto notare che la presenza di CaCO₃ (sia addizionato alla componente ormonale sia usato come base singolarmente) ha influito maggiormente sui semi di *Dryas octopetala*, *Adenostyles glabra* e *Pulsatilla alpina*. Queste specie infatti, come citato nella descrizione, sono particolarmente legate ad ambienti e substrati morenici calcarei. Per le altre specie invece la presenza della componente calcarea è risultata meno incisiva nel processo germinativo. Un caso rilevante è quello che riguarda la *Silene vulgaris*, in cui si osserva come la presenza di calcare sia persino limitante per quanto riguarda il processo germinativo dei suoi semi.

Analizzando i grafici riguardanti la velocità di germinazione (GSP) ed il tempo di germinazione (MGT) si deduce infine come alcune specie siano germinate prima di altre. Le specie di *Papaver alpinum* e *Dryas octopetala* sono risultate essere le due più veloci a germinare, con una percentuale pari a circa il 10%, iniziando il processo di germinazione al 6° giorno circa, con picchi di germinazione al 10°/13° giorno. I semi delle altre specie sono germinati con una velocità di circa il 5/7%, inferiore alle precedenti specie, con un tempo di germinazione maggiore; la maggior parte dei semi di queste specie è germinata infatti tra la 20° e 30° osservazione. Anche qui i substrati hanno giocato un ruolo fondamentale: nelle specie di *Rumex scutatus* e *Tofieldia calyculata* i loro semi sono germinati in tempi più brevi nel caso in cui essi siano stati trattati con CaCO₃ mentre, per le specie di *Pulsatilla alpina* e *Silene vulgaris* la maggior velocità di germinazione è stata riscontrata nei trattamenti con GA3 per la specie di *Pulsatilla alpina*, e CaCO₃ con GA3 per *Silene vulgaris*.

Da questi risultati è facile osservare come la specie di *Dryas octopetala* sia stata quella con maggior efficienza germinativa: i suoi semi sono germinati in maggior quantità e nel minor tempo. L'efficacia del GA3, in questa specie, è stata di scarsa importanza, poiché non ha sortito effetti positivi né per quanto riguarda l'aumento di semi germinati né per

la velocità con cui essi germinano. Si può dedurre anche che questa specie sia la più adatta a poter essere coltivata e replicata *ex-situ*. Insieme ad essa anche *Adenostyles glabra* non risulta particolarmente influenzata dall'uso di GA3, e per questo può essere coltivata *ex-situ*, tuttavia i semi sono germinati in tempo maggiore e in numero minore; le altre specie studiate sono risultate più influenzate dall'uso del GA3.

Grazie ai risultati di questa ricerca si possono ipotizzare successivi esperimenti, per iniziare uno studio mirato a stabilire la possibilità di utilizzare queste specie montane/alpine, soprattutto quelle più facili da coltivare *ex-situ*. Di particolare importanza risulterebbe l'applicazione di queste specie vegetali nei processi di stabilizzazione dei suoli. Come descritto da Giupponi *et al.* (2018), l'uso di specie vegetali montane per la stabilizzazione dei suoli, potrebbe fornire molteplici vantaggi. Usando specie adatte all'ambiente montano, si potrebbe ottenere una maggiore efficacia nel processo di stabilizzazione dei suoli e l'ecosistema non sarebbe penalizzato dall'introduzione di specie non autoctone, che per convenienza vengono abitualmente utilizzate. Inoltre l'impiego di queste specie potrebbe assumere importanza nell'ambito della conservazione ambientale ai fini di tutela per quel che riguarda le specie a rischio di estinzione e/o nella salvaguardia della biodiversità delle zone alpine che è sempre più a rischio per i diversi fattori inquinanti. L'aumento della biodiversità di un ecosistema e la sua preservazione potrebbe essere aiutato dalla crescita di piante *ex-situ*, come descritto nell'articolo *Seed germination and conservation of endangered species from the Italian Alps: Physoplexis comosa and Primula glaucescens* (Cerabolini *et al.*, 2003). In questo elaborato sono presentati i risultati di una germinazione in vitro delle specie di *Physoplexis comosa* e *Primula glaucescens*. Le prove sono avvenute con 10 o 5 semi e sette trattamenti basati su diverse quantità di GA3: 0, 1, 10, 50, 100, 250 e 500 mg/l. I risultati hanno mostrato come i semi presi in esame sono germinati, nel caso di *Primula glaucescens*, senza l'ausilio di GA3 (con l'80% di semi germinati), mentre quelli di *Physoplexis comosa* son germinati con un'apporto di GA3 pari a 250 e 500 mg/l (con l'82% di semi germinati). Questi risultati mostrano una quantità di semi germinati, nei test di Cerabolini, minore rispetto ai semi delle 7 specie trattate durante l'analisi effettuata, nonostante siano state trattate con un'elevata quantità di GA3. Ciò significa che le specie studiate durante il lavoro effettuato risultano essere più adeguate ad una germinazione

fuori areale e per un loro possibile reinserimento nell'ambiente, dopo uno sviluppo in vitro. Questo procedimento è stato descritto in un articolo da Pace *et al.* (2010), in cui è stata studiata la germinazione di *Artemisia petrosa* subsp. *Eriantha* (specie in via d'estinzione) in substrati trattati con CaCO₃. Il test di Pace ha portato ad osservare che i semi della specie sono germinati in maggior numero e più velocemente in substrati calcarei e, successivamente alla germinazione del seme, le plantule sono state reinserite nel loro habitat naturale per mantenere la biodiversità e le caratteristiche dell'ecosistema.

I test effettuati possono fornire una valida base per studi economici e agrari sull'uso di queste specie al fine di aumentare il loro valore nel panorama agro-ambientale e industriale.

BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

Acta plantarum: <https://www.actaplantarum.org/>;

AFOLAYAN A., MEYER J., LEEUWNER D., 1 Luglio 1996. *Germination in Helichrysum aureonitells (Asteraceae): Effects of temperature, light, gibberellic acid, scarification and smoke extract*, Botany Department, University of Pretoria, S. Ali J. Bot 63(1): 22-24, 1997;

CERABOLINI B., DE ANDREIS R., CERIANI R., PIERCE S., RAIMONDI B., 2003. *Seed germination and conservation of endangered species from the Italian Alps: Physoplexis comosa and Primula glaucescens*, Biological Conservation 117 351–356, 2004;

CERABOLINI B., PIERCE S., FERRARIO A., CERIANI R., VILLA M., 2014. *Germinazione, coltivazione su larga scala e rinforzamento della popolazione di Linaria tonzigii, una stenoendemica della direttiva habitat mai riprodotta prima*, 02 Settembre 2014;

Chimica online: <https://www.chimica-online.it/>;

EMAMIPOOR Y., MAZIAH M., 2014. *An efficient method in breaking of dormancy from Bunium persicum (Boiss) Fedtsch seeds: a valuable herb of Middle East and Central Asia*, Asian Pac J Trop Biomed, 4(8): 642-649, 2014;

Enciclopedia Treccani: <http://www.treccani.it/enciclopedia/>;

GIUPPONI L., BORGONOVO G., GIORGI A., BISCHETTI G. B., 21 Settembre 2018. *How to renew soil bioengineering for slope stabilization: some proposals*, Landscape and Ecological Engineering, 15: 37–50, 2019;

GIUPPONI L., GIORGI A., 2017. *Mount Cavallo botanical path: a proposal for the valorization of an area of the orobie bergamasche regional park (southern alps)*, <https://www.unimontagna.it/pubblicazioni/mount-cavallo-botanical-path-proposal-valorization-area-orobie-bergamasche-regional-park-southern-alps/>;

KRISANTINI, ARMINI WIENDI N. M., PALUPI E. R., 2017. *Evaluation of horticultural traits and seed germination of Tacca chantrieri 'André*, Agriculture and Natural Resources 51 169 e 172, 21 Luglio 2017;

- LI A., GUAN K., PROBERT R. J., 2007. *Effects of Light, Scarification, and Gibberellic Acid on Seed Germination of Eight Pedicularis Species from Yunnan, China*, Hortscience 42(5): 1259–1262, 2007;
- LIBERATORE C., MATTION G., RODOLFI M., GANINO T., FABBRI A., CHIANCONE B., 2018. *Chemical and physical pre-treatments to improve in vitro seed germination of Humulus lupulus L., cv. Columbus*, Scientia Horticulturae 235, 86–94, 2018;
- LOZANO-ISLA F., BENITES-ALFARO O., POMPELLI M., 2018. *GerminaR: An R package for germination analysis with the interactive web application “GerminaQuant for R”*, Ecol Res, 34: 339–346, 2019, <https://doi.org/10.1111/1440-1703.1275/>;
- MARTÍNEZ-DÍAZ E., MARTÍNEZ-SÁNCHEZ J., CONESA E., FRANCO J., VICENTE M., 2018. *Germination and morpho-phenological traits of Allium melananthum, a rare species from south-eastern Spain*, Flora 249 16–23, 2018;
- MORGAN E. R., BUTLER R. M., BICKNELL R. A., 1997. *In vitro propagation of Gentiana cerina and Gentiana corymbifera*, New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 25: 1, 1-8, DOI: 10.1080/01140671.1997.9513981, <http://dx.doi.org/10.1080/01140671.1997.9513981/>;
- NAVARRO A., 2018. *Dalla pianta al paesaggio agrario: il know-how come risorsa territoriale*, Scienze del territorio - n. 6 Le economie del territorio bene comune, 205-211, DOI: 10.13128, 2018;
- ORSENIGO S., MONDONI A., GANDINI M., ABELI T., BELOTTI J., SOSSAI E., PAROLO G., ROSSI G., 2012. *Le attività di ricerca sul cambiamento climatico del laboratorio di ecologia vegetale e conservazione delle piante dell'Università di Pavia*, Società botanica italiana - gruppo di ecologia giornata di studi cambiamento climatico: analisi ed impatti su specie ed ecosistemi vegetali, 80-84;
- ORSENIGO S., MONDONI A., TAZZARI E. R., VAGGE I., ROSSI G., ABELI T., 2019. *Seed dormancy and seedling growth changes in response to scarification treatments and population origin in Kosteletzkya pentacarpos (Malvaceae)*, Seed Science and Technology, 47, 1, 59-64, <https://doi.org/10.15258/sst.2019.47.1.07/>;
- PACE L., BRUNO A., SPANÒ L., 2010. *In vitro plant regeneration and clonal micropropagation of Leontopodium nivale (Ten.) Heut ex Hand.-Mazz. (Asteraceae)*,

- Plant Biosystem - Official journal of Società Botanica Italiana, S12-S16, 09 Febbraio 2010;
- PACE L., PACIONI G., SPANÒ L., 2010. *In vitro propagation of Artemisia petrosa ssp. eriantha: Potential for the preservation of an endangered species*, Plant Biosystem - Official journal of Società Botanica Italiana, 291-294, 15 Novembre 2010;
- PIGNATTI S., 1982. *Flora d'Italia*. Edagricole, Bologna;
- PRATIBHA R., PRAKASH P. K., 2018. *Regulation of Seed Germination: The Involvement of Multiple Forces Exerted via Gibberellic Acid Signaling*, Molecular Plant 12, 24–26, Gennaio 2019;
- R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2018. *R: A language and environment for statistical computing*, Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, <https://www.r-project.org/>;
- SHIMONO Y., KUDO G., 2004. *Comparisons of germination traits of alpine plants between fellfield and snowbed habitats*, Ecol Res 20: 189–197, DOI 10.1007/s11284-004-0031-8, 2005;
- Zanichelli: <https://www.zanichelli.it/>.

ALLEGATI

Di seguito sono allegate 3 foto per ogni specie target, raffiguranti i vari stadi di germinazione dei semi: la prima rappresenta il seme non germinato, la seconda mostra l'emersione della radichetta germinativa e la terza raffigura la plantula.

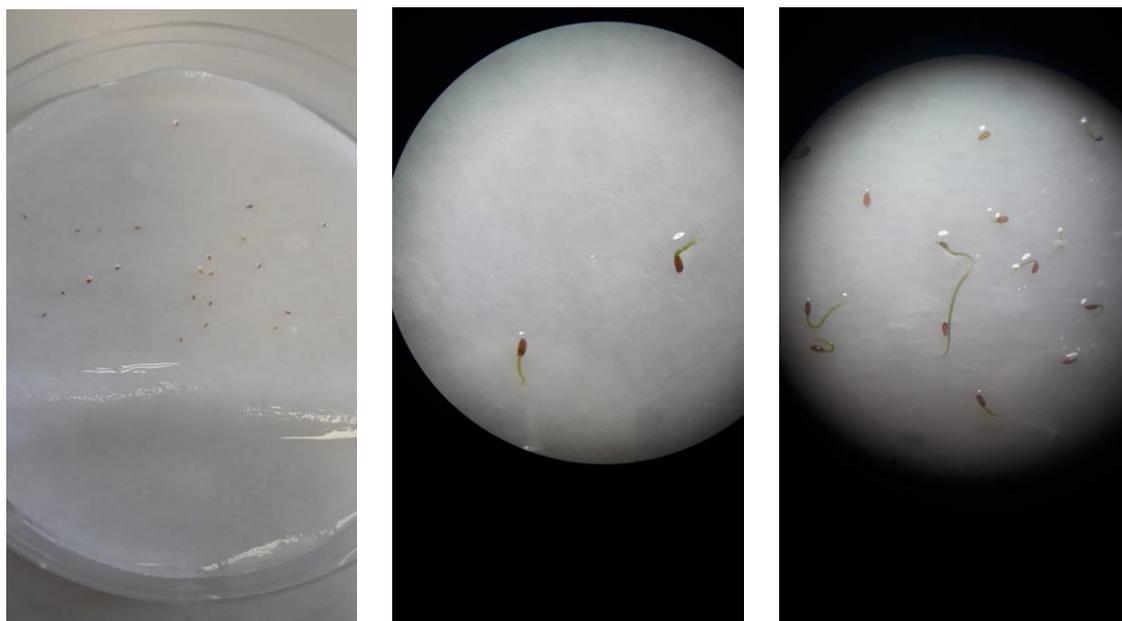
Allegato 1: Fasi di germinazione dei semi di *Papaver alpinum*.



Allegato 2: Fasi di germinazione dei semi di *Dryas octopetala*.



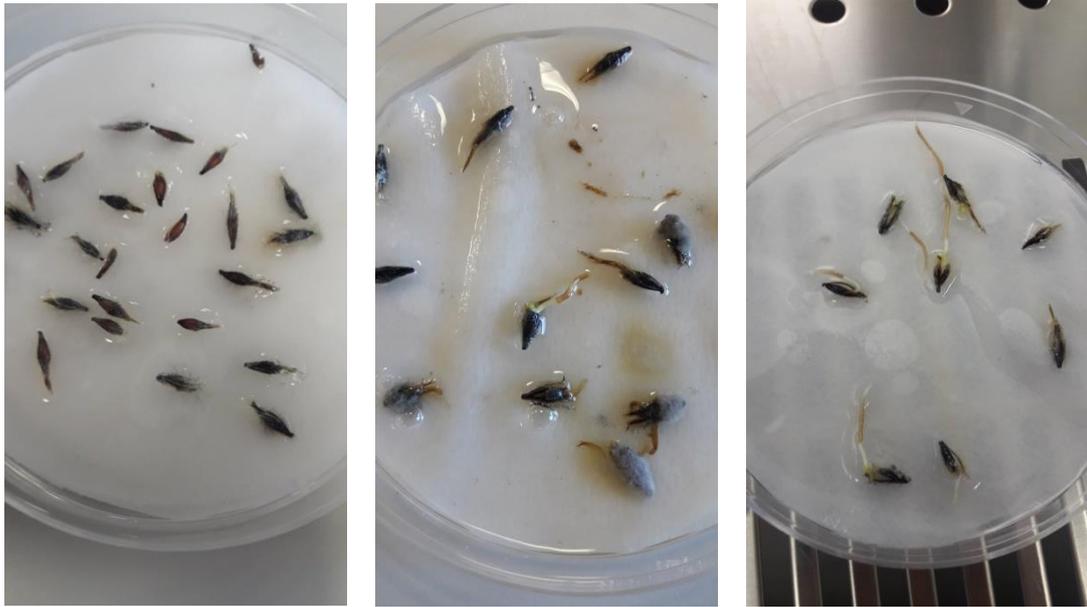
Allegato 3: Fasi di germinazione dei semi di *Tofieldia calyculata*.



Allegato 4: Fasi di germinazione dei semi di *Rumex scutatus*.



Allegato 5: Fasi di germinazione dei semi di *Adenostyles glabra*.



Allegato 6: Fasi di germinazione dei semi di *Pulsatilla alpina*.



Allegato 7: Fasi di germinazione dei semi di *Silene vulgaris*.

