

# Germinazione dei semi di alcune provenienze di pino cembro (*Pinus cembra* L.).

Oxf. 181.525 *Pinus cembra* :

## RIASSUNTO

Il seme di *Pinus cembra* L. presenta, oltre ad una dormienza fisiologica, una immaturità dell'embrione. Per rimuovere questi ostacoli alla germinazione sono stati sperimentati dei periodi di stratificazione a 20°C precedenti la stratificazione a 4°C. Si è confrontato lo sviluppo degli embrioni trattati con diverse sostanze di crescita a 20°C e, successivamente, con temperature di 4° e 20°C. In queste sperimentazioni sono stati utilizzati semi di varie provenienze italiane. Nel corso delle indagini sullo sviluppo embrionale è stato esaminato l'aspetto della poliembrionia.

## SUMMARY

The *Pinus cembra* L. seed presents embryo's immaturity besides physiological dormancy.

In order to remove these obstacles, some stratification periods at 20°C before stratification at 4°C were experimented. Embryos were treated with different growth substances at 20°C and subsequently at temperatures of 4°C, and their different growth was confronted.

Besides it was examined polyembryony aspect.

Seeds from various italian provenances were utilized.

## 1. Problema della germinazione del pino cembro

Esiste una complessa serie di fattori che influenzano in natura la germinazione del seme di pino cembro (*Pinus cembra* L.). Anche nel campo vivaistico sono ben noti questi problemi. Per esempio si conoscono casi in cui il seme utilizzato impiega più di tre anni per germinare (Rohmeder e Loebel, 1940; Nather, 1958). Anche le norme ISTA ad esempio prevedono un pretrattamento per almeno 6-9 mesi a 3-5°C (ISTA, 1974).

Questa forte inibizione appare legata in primo luogo alla immaturità dell'embrione

ed in seconda fase ad una dormienza fisiologica. Secondo vari autori l'embrione, al momento della maturazione del seme, misura mediamente 3-3,7 mm e deve arrivare ad un valore medio di almeno 5 mm per poter germinare. Queste dimensioni vengono raggiunte dal seme, se opportunamente imbibito, dopo 5 settimane a 20°C (Nather, 1958) od anche dopo 7 mesi a 4°C (Rohmeder e Loebel, 1940). Nather non riferisce la necessità di una stratificazione con basse temperature per l'uscita dalla dormienza, trattamento che invece Rohmeder e Loebel ritengono necessario e che è raccomandato anche da Krugman e Jenkinson (1974). Mentre i tegumenti le-

gnosi non hanno un ruolo negativo sull'assorbimento d'acqua, di ossigeno e sull'ostacolo fisico alla radichetta germinante (Rohmeder e Loebel, 1940), è importante il livello di umidità durante la stratificazione, che secondo Nather (1958) deve essere superiore al 50% della saturazione totale del substrato di germinazione; inoltre, secondo Rohmeder e Loebel (1940) il buio favorisce una germinazione più veloce ed abbondante. Non deve stupire questa scarsa importanza della luce, se si considera che nelle condizioni naturali, dopo un esuberante approvvigionamento della nocciolaia (*Nucifraga caryocatactes caryocatactes* L.) il seme germina spesso nelle buche o tra i tappeti di muschio. Il ruolo di questo corvide è determinante nella disseminazione del pino cembro; Contini e Lavarello (1981) evidenziano l'adattamento reciproco di queste due specie, che riflette una loro attuale coevoluzione.

Scopo di questa ricerca è la determinazione di alcuni parametri che regolano la germinazione dei semi di pino cembro, in particolare si è cercato di studiare il livello della immaturità dell'embrione e le cause e le modalità per superarla, e se a questo carattere si associa anche una dormienza fisiologica, dovuta ad inibitori endogeni. A questo proposito si sono eseguite delle prove di germinazione e delle prove di verifica dell'accrescimento dell'embrione.

## 2. Materiali e metodi

I semi utilizzati nella prima parte della ricerca sono stati estratti da strobili raccolti in Val de La Mare (comune di Cogolo, Trento) nel Parco Nazionale dello Stelvio<sup>1)</sup> ad una quota di circa 1800 m, il 22 settembre 1980, su piante scelte casualmente e distanti almeno 50 m tra di loro. Successivamente gli strobili, dopo la misurazione della loro lunghezza e larghezza, sono stati posti in vaschette di plastica, fatti asciugare e quindi disarticolati manualmente per

estrarne i semi. I semi, dopo essere stati pesati, sono stati conservati al buio in ambiente secco a  $4 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . Altri semi vennero richiesti per ciascuna delle otto provenienze di pino cembro riportate nel Libro Nazionale dei Boschi da Seme (Magini e Morandini, 1975) al Laboratorio dei Semi Forestali di Peri (VR). Ci sono giunti semi soltanto di quattro provenienze, anche se queste interessavano gran parte dell'arco alpino del versante italiano: Allevetto (Val Varaita, CN), Salbertrand (Val di Susa, TO), Passo delle Erbe (Antermoia, BZ), Passo Lavazè - Rionero (Varena, TN). I semi purtroppo erano stati raccolti un anno prima, e conservati a  $3^\circ\text{C}$  in ambiente secco.

Per il pretrattamento e la germinazione si è usato come substrato sabbia di fiume, che è stata vagliata, lavata ed asciugata.

Prima di ogni prova di germinazione i semi, disinfettati con cloruro mercurico ( $\text{HgCl}_2$ ) 1:1000 per 7 minuti, venivano posti ad imbibire per 48 ore in acqua deionizzata, fatta eccezione per alcune indagini specifiche. Per la stratificazione si sono usate vaschette da sviluppo fotografico, di materiale plastico inerte, contenenti 700 cc di sabbia che venivano bagnati con una quantità di acqua sufficiente ad avere una elevata umidità senza la presenza di acqua libera sul fondo. Per evitare differenti livelli di umidità sui tegumenti dei semi, questi venivano completamente coperti con sabbia. A seconda del trattamento le vaschette con i semi sono state tenute a  $4 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , od a  $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$  al buio in ambiente controllato: ogni 4 giorni veniva eseguito un controllo per verificare il grado di umidità della sabbia (aggiungendo all'occorrenza acqua deionizzata) e le condizioni dei semi. Dopo i rispettivi periodi di pretrattamento i semi venivano estratti dalle vaschette, ripuliti con acqua deionizzata e disposti in germinatoi. I germinatoi in polistirolo cristallo di 14 cm di diametro contenevano 300 cc di sabbia, a cui venivano aggiunti 100 cc di acqua deionizzata, ed i semi che venivano premuti leggermente nella sabbia in modo da essere immersi per metà.

Il trattamento ormonale (della durata di 48 ore) veniva eseguito a  $20^\circ\text{C}$  al buio, per immersione nella soluzione acquosa della

<sup>1)</sup> Si ringraziano le autorità ed il personale del Parco Nazionale dello Stelvio per i permessi di raccolta gentilmente accordati.

sostanza di crescita da saggiare. Le soluzioni sono state preparate nei seguenti modi: acido indolacetico (IAA) sciolto in soluzione idroalcolica (etanolo: H<sub>2</sub>O = 20 : 80); gibberellina (GA<sub>3</sub>) sciolta a caldo in acqua in bagnomaria su agitatore magnetico; chinetina (6 furfuril-aminopurina) sciolta in NaOH 1M e portata alla neutralità con HCl 1N.

Per ogni trattamento si sono utilizzati 50 semi per germinatoio replicati 4 volte; i germinatoi sono stati messi in ambiente controllato alla temperatura di  $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . Il periodo di germinazione era di 60 giorni con controlli ogni 5 giorni. I controlli, come tutte le fasi di allestimento delle prove, sono stati eseguiti a luce verde di sicurezza. A fine prova i semi non germinati venivano tagliati longitudinalmente e venivano classificati come vani, deteriorati o dormienti. Dato il lungo periodo della sperimentazione abbiamo considerato come vani solo i semi privi di endosperma (cioè totalmente vuoti), deteriorati (rinvenuti anche nel corso della prova) quelli con endosperma marcio o marcescente, e dormienti quelli con embrione ed endosperma perfettamente normali. Dal numero iniziale di semi, nel calcolo della percentuale di germinazione non venivano considerati i semi sicuramente vani. I semi erano considerati germinati quando la radichetta fuoriusciva per 3 - 4 mm.

Nelle prove di germinazione sono stati utilizzati sia uno schema fattoriale  $A \times B$  che uno schema a blocchi randomizzati.

L'analisi della varianza è stata compiuta dopo la trasformazione angolare dei valori percentuali di germinazione (Barbensi, 1965).

Nelle prove di verifica dell'accrescimento dell'embrione i semi (tenuti sempre in vaschette) venivano prelevati periodicamente in gruppi di 50 o 100 per ogni trattamento; i tegumenti di ciascun seme venivano rotti con una forbice a doppio taglio e successivamente l'endosperma veniva sezionato con un bisturi. La lunghezza dell'embrione, o degli embrioni, veniva determinata tramite un calibro e/o tramite un microscopio binoculare graduato.

Particolare attenzione è stata compiuta per evidenziare i casi di poliembrionia, fe-

nomeno già noto per i pini a seme grosso (Buchholz, 1918; Clare e Johnstone, 1931; Johnstone, 1940) e, fra questi, anche per il pino cembro (Berlyn, 1962, 1972).

### 3. Risultati e discussioni

#### 3.1 Prove di germinazione

Si sono eseguite delle sperimentazioni preliminari per determinare la capacità germinativa, per mettere a punto aspetti metodologici come durata della imbibizione, condizioni di germinazione, e per caratterizzare gli effetti di alcuni parametri come la stratificazione a  $20^\circ\text{C}$  (post-maturazione) o a  $4^\circ\text{C}$  (chilling).

In queste prove si è giunti fino al 96,55% dei semi germinati con un lotto di semi provenienti da Val de La Mare, dopo una post-maturazione di 81 giorni ed un chilling di 6 mesi equivalente ai tempi suggeriti dall'ISTA; una parte di questi semi (42,53%) è germinata durante il chilling a  $4^\circ\text{C}$ , fenomeno già rilevato per altre specie, basti considerare gli esempi ricordati da Schopmeyer (1974).

Con i semi provenienti da Val de La Mare si è allestita una prova disposta secondo uno schema fattoriale  $A \times B$ , in cui il fattore «A» prevedeva 3 diversi periodi di post-maturazione ( $A_0 = 0$  mesi,  $A_1 = 1$  mese,  $A_2 = 2$  mesi) ed il fattore «B» riguarda la durata del chilling ( $B_0 = 0$  mesi,  $B_1 = 1$  mese,  $B_2 = 2$  mesi,  $B_3 = 3$  mesi). Questo schema è stato ripetuto per semi imbibiti in acqua deionizzata, per semi imbibiti in una soluzione di gibberellina (100 ppm), e per semi imbibiti in una soluzione di chinetina (20 ppm). L'imbibizione avveniva prima della fase di germinazione. I tre trattamenti non hanno portato a risultati diversificati nella germinazione dei semi.

In particolare l'effetto dovuto alla post-maturazione è risultato altamente significativo (tab. I, fig. 1). Nel complesso l'effetto della post-maturazione è risultato molto evidente sia per il periodo di 1 mese, che per 2 mesi, con differenza altamente significativa rispetto all'assenza di post-maturazione; da notare che con periodi più o meno lunghi di chilling anche le dif-

**TAB. I**

Capacità di germinazione in semi di *Pinus cembra* L. della provenienza Val de La Mare in funzione della post-maturazione (fattore A) e del chilling (fattore B). Confronto fra semi trattati con gibberellina, chinetina, ed acqua deionizzata come controllo. Valori percentuali della capacità germinativa, con trasformazioni angolari dei semi non germinati (media tra le replicazioni) tra parentesi. MDS per P = 0,01.

A.0, A.1, A.2 = 0, 1, 2 mesi di post-maturazione;

B.0, B.1, B.2, B.3 = 0, 1, 2, 3, mesi di chilling.

<b>gibberellina</b>					
<b>livelli</b>	<b>B.0</b>	<b>B.1</b>	<b>B.2</b>	<b>B.3</b>	<b>MEDIE</b>
A.0	0,00 (90,00)	2,06 (82,95)	12,18 (69,70)	34,90 (53,90)	12,29 (74,14)
A.1	0,50 (87,97)	5,67 (76,34)	37,56 (52,28)	54,45 (42,36)	24,55 (64,74)
A.2	0,00 (90,00)	5,10 (77,45)	55,56 (41,83)	65,26 (36,03)	31,48 (61,33)
MEDIE	0,17 (89,32)	4,28 (78,92)	35,10 (54,61)	51,54 (44,10)	22,77 (66,74)
MDS di A 3,3779; MDS di B 3,9004; MDS dell'interazione 6,7557. Coefficiente di variabilità 5,2096%.					
<b>kinetina</b>					
<b>livelli</b>	<b>B.0</b>	<b>B.1</b>	<b>B.2</b>	<b>B.3</b>	<b>MEDIE</b>
A.0	0,00 (90,00)	3,06 (81,54)	12,69 (69,26)	29,65 (57,12)	11,35 (74,48)
A.1	0,53 (87,92)	6,12 (75,77)	36,36 (52,97)	51,53 (44,14)	23,64 (65,20)
A.2	1,03 (87,01)	4,59 (78,27)	51,56 (44,06)	67,02 (35,47)	31,05 (61,20)
MEDIE	0,52 (88,31)	4,59 (78,53)	33,54 (55,43)	49,40 (45,58)	22,01 (66,96)
MDS di A 4,1164; MDS di B 4,7532; MDS dell'interazione 8,2329. Coefficiente di variabilità 6,3228%.					
<b>acqua deionizzata</b>					
<b>livelli</b>	<b>B.0</b>	<b>B.1</b>	<b>B.2</b>	<b>B.3</b>	<b>MEDIE</b>
A.0	0,00 (90,00)	1,56 (83,80)	10,31 (71,66)	33,68 (54,57)	11,39 (75,01)
A.1	0,51 (87,92)	8,63 (74,49)	36,41 (52,92)	23,38 (46,13)	17,23 (65,36)
A.2	1,51 (83,90)	8,16 (73,72)	52,55 (43,52)	63,83 (36,87)	31,51 (59,50)
MEDIE	0,67 (87,27)	6,12 (77,34)	33,09 (56,03)	48,50 (45,86)	22,09 (66,63)
MDS di A 4,3815; MDS di B 5,0594; MDS dell'interazione 8,7631. Coefficiente di variabilità 6,7640%.					

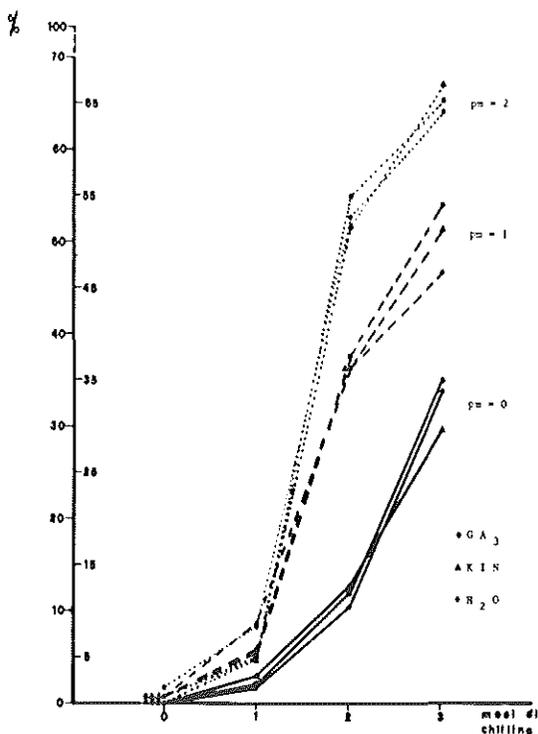


Figura 1

Germinazione di semi provenienti da Val de La Mare di *Pinus cembra* L. al variare del trattamento di post-maturazione (pm, espresso in mesi).

ferenze tra post-maturazione di 1 mese e post-maturazione di 2 mesi sono altamente significative. Lo scarto maggiore si ha passando da 1 a 2 mesi di chilling. All'aumentare dei periodi di chilling, per qualsiasi post-maturazione, aumenta la percentuale di semi germinati. In prove preliminari con 81 giorni di post-maturazione più 6 mesi di chilling si era ottenuto il 96,55% di semi germinati. È chiaro quindi che l'effetto «durata del periodo di chilling» rappresenta una condizione importante nella germinazione dei semi di questo pino. In queste prove però ci siamo limitati ad una durata massima del pre-trattamento di 5 mesi, poiché avevamo già potuto evidenziare che erano sufficienti ad ottenere risposte significative al variare dei pre-trattamenti, ed infatti è ciò che appare evidente anche dai risultati di questa prova.

I risultati riportati non mostrano variazioni statisticamente significative durante ed alla fine della prova fra i trattamenti ormonali ed il controllo, anche se i semi germinati trattati con chinetina presentavano radichette molto lunghe ed estremamente sottili.

Con il materiale ricevuto dal Laboratorio per i Semi Forestali di Peri si è allestita una nuova prova in cui si sono disposti i semi secondo uno schema a blocchi randomizzati. Anche in questa prova lo scopo è stato quello di esaminare l'effetto di diversi periodi di post-maturazione e chilling su semi di provenienza di tutto l'arco alpino. Il periodo totale del pre-trattamento è stato fissato anche in questo caso in 5 mesi, con diverse combinazioni di post-maturazione (pm) e chilling (ch). Data la scarsa quantità di semi fornitaci non è stato possibile compiere alcune prove preliminari ed inoltre è stato necessario ridurre il numero dei pre-trattamenti per le provenienze cuneense e trentina; in questi due casi non è stata eseguita la prova che ritenevamo meno significativa (5 mesi di post-maturazione senza chilling). Per esaminare l'influenza della post-maturazione, per confrontare i risultati di questa prova con quelli della prova precedente, e per segui-

**TAB. II**

Effetti di combinazioni di periodi di post-maturazione e di chilling sulla capacità di germinazione in semi di *Pinus cembra* L. della provenienza Allevetto (CN).

Valori percentuali della capacità germinativa, con trasformazioni angolari dei semi non germinati (media tra le replicazioni) fra parentesi.

trattamento pm + ch	%	test di Duncan p = 0,01 °)
4 + 1	8,28 (73,745)	A
0 + 3	20,30 (63,335)	AB
0 + 4	25,50 (59,98)	B
0 + 5	27,27 (59,005)	B
1 + 4	27,00 (58,76)	B
3 + 2	29,37 (57,43)	B
2 + 3	35,68 (53,37)	B

°) trattamenti con lettere uguali non differiscono significativamente.  
Coefficiente di variabilità 9,2812%.

re le indicazioni dei test di germinazione ufficiali, si sono saggiati anche i 3-4 mesi di chilling senza post-maturazione.

L'analisi dei risultati (tabelle II, III, VI, V) nel complesso non ha chiarito se esiste una netta differenza di esigenze per la germinazione fra le varie provenienze.

Per la provenienza di Allevetto (CN) soltanto la tesi 4 pm + 1 ch ha germinato molto meno delle altre con differenze altamente significative rispetto agli altri blocchi; in effetti questi semi presentavano embrioni ben sviluppati già all'inizio della prova (5,66 mm), e necessitavano praticamente solo di periodi di freddo per rimuovere la dormienza fisiologica.

Meglio definiti sono i risultati per la provenienza torinese (Salbertrand): si è osservata una distinzione significativa tra le tesi 1 pm + 4 ch, 2 pm + 3 ch, 3 pm + 2 ch e quelle che avevano avuto 3, 4, 5 mesi di chilling senza post-maturazione. È evidente che per il seme di questa provenienza, con embrioni meno sviluppati di quelli di Allevetto, era necessario un periodo di post-maturazione di 1-2 mesi. Più staccati sono i valori delle tesi 4 pm + 1 ch e soprattutto 5 pm + 0 ch a dimostrazione della necessità di questa specie di almeno 2 mesi di freddo per dare una sufficiente germinazione.

**TAB. III**

Effetti di combinazioni di periodi di post-maturazione e di chilling sulla capacità di germinazione in semi di *Pinus cembra* L. della provenienza Salbertrand (TO).

Valori percentuali della capacità germinativa, con trasformazioni angolari dei semi non germinati (media tra le replicazioni) fra parentesi.

trattamento pm + ch	%	test di Duncan p = 0,01 °)
5 + 0	1,32 (85,27)	A
4 + 1	7,59 (74,12)	B
0 + 4	15,82 (67,085)	B
0 + 3	16,33 (66,675)	B
0 + 5	16,24 (66,555)	B
1 + 4	31,16 (56,12)	C
2 + 3	35,03 (53,74)	C
3 + 2	36,27 (53,01)	C

°) trattamenti con lettere uguali non differiscono significativamente.  
Coefficiente di variabilità 7,3905%.

**TAB. IV**

Effetti di combinazioni di periodi di post-maturazione e di chilling sulla capacità di germinazione in semi di *Pinus cembra* L. della provenienza Passo delle Erbe (BZ).

Valori percentuali della capacità germinativa, con trasformazioni angolari dei semi non germinati (media tra le replicazioni) fra parentesi.

trattamento pm + ch	%	test di Duncan p = 0,01 <sup>o)</sup>
5 + 0	0,00 (90,00)	A
0 + 4	13,64 (68,83)	B
4 + 1	14,29 (68,13)	B
0 + 3	18,75 (64,52)	BC
0 + 5	19,15 (64,46)	BC
3 + 2	20,10 (63,425)	BC
1 + 4	23,47 (61,105)	BC
2 + 3	31,82 (55,89)	C

<sup>o)</sup> trattamenti con lettere uguali non differiscono significativamente.  
Coefficiente di variabilità 6,6831%.

Per la provenienza di Passo delle Erbe (BZ) si nota l'assenza di germinazione nella tesi con 5 mesi di post-maturazione; tra le altre tesi è significativa la prova con 2 pm + 3 ch, che conferma come l'embrione di questa specie abbia bisogno all'inizio di accrescersi, e successivamente di un adeguato periodo di chilling per rimuovere la dormienza fisiologica.

Analizzando i risultati per la provenienza Lavazé (TN) sono significativamente differenti le tesi 2 pm + 3 ch, 3 pm + 2 ch, 1 pm + 4 ch con le rimanenti. È da notare

**TAB. V**

Effetti di combinazioni di periodi di post-maturazione e di chilling sulla capacità di germinazione in semi di *Pinus cembra* L. della provenienza Passo Lavazé - Rionero (TN).

Valori percentuali della capacità germinativa, con trasformazioni angolari dei semi non germinati (media tra le replicazioni) fra parentesi.

trattamento pm + ch	%	test di Duncan p = 0,01 <sup>o)</sup>
0 + 4	4,08 (78,815)	A
0 + 3	4,21 (78,385)	A
4 + 1	5,37 (76,995)	A
0 + 5	8,67 (72,99)	AB
1 + 4	14,05 (68,09)	BC
3 + 2	18,44 (65,05)	CD
2 + 3	26,78 (58,89)	D

<sup>o)</sup> trattamenti con lettere uguali non differiscono significativamente.  
Coefficiente di variabilità 4,6404%.

che il più alto valore di germinazione ottenuto, il 26,78% per la tesi 2 pm + 3 ch, è sensibilmente superiore al 10% di facoltà germinativa, determinata dal Laboratorio di Peri mediante il test con i sali di tetrazolio. Questo è spiegabile, in quanto i semi della provenienza trentina avevano embrioni con piccole dimensioni iniziali ed era necessario un periodo di post-maturazione perché il successivo chilling manifestasse il suo effetto.

Dai risultati complessivi di questa prova di germinazione si può affermare che pe-

riodi di post-maturazione di 2 mesi permettono l'accrescimento dell'embrione e quindi il superamento della dormienza dovuta allo sviluppo; a questo punto risulta più efficace lo stimolo di adeguati periodi di chilling (di 60 giorni o più) per interrompere la dormienza fisiologica. Con questa combinazione di trattamenti siamo riusciti ad ottenere in tempi relativamente brevi (2 pm + 2 ch, 2 pm + 3 ch per la provenienza Val de La Mare) delle percentuali di germinazione significativamente interessanti (maggiori del 50%).

Purtroppo i semi inviati dal Laboratorio di Peri, pur confermando la maggiore efficacia di trattamenti combinati di post-maturazione più chilling, hanno dato, a parità di trattamento, delle risposte notevolmente inferiori a quelle avute dai semi di Val de La Mare (figura 2). Con un trattamento di 2 mesi a 20°C più 3 mesi a 4°C i semi di Val de La Mare germinano per il 63,83%, mentre nelle altre provenienze la germinazione è compresa tra il 35,68% (Allevetto) ed il 26,78% (Lavazè). Anche la tesi senza post-maturazione e con 3 mesi chilling, che da per Val de La Mare una ger-

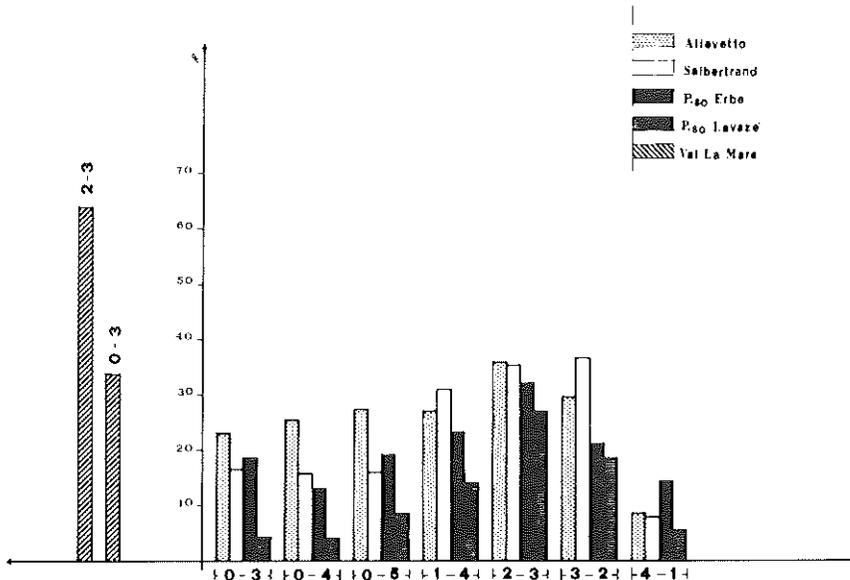
minazione del 33,68%, per le altre provenienze varia dal 20,3% di Allevetto al 16,33% di Salbertrand; in questo caso la percentuale di germinazione anormale di Lavazè (4,14%) è spiegabile con le ridotte dimensioni iniziali di tutti gli embrioni, a cui corrisponde una incapacità di «percepire» il freddo.

La scarsa qualità del seme inviati dal Laboratorio di Peri è evidenziata dai bassi valori finali di germinazione e dalle alte percentuali di semi deteriorati riscontrate in tutti i trattamenti ed in tutte le provenienze (quasi sempre maggiore del 40%) e ciò non è spiegabile col fatto di essere stati raccolti un anno prima; infatti secondo Rohmeder e Rohmeder (1955) la capacità germinativa dei semi di pino cembro adeguatamente conservati non viene alterata in maniera significativa per i primi 2 o 3 anni.

Nather (1958) definisce ulteriormente i criteri per un'adeguata conservazione, raccomandando di operare una graduale disidratazione (*langsamer Abtrocknung*) fino ad un contenuto di acqua dell'8-10%, ed una successiva conservazione da 0 a + 4°C.

Figura 2

Percentuali di germinazione con diversi trattamenti di post-maturazione (pm) e di chilling (ch) delle provenienze Allevetto, Salbertrand, Passo delle Erbe, Passo Lavazè - Rlonero di *Pinus cembra* L. Vengono riportati a confronto i risultati di trattamenti analoghi per la provenienza Val de La Mare.



### 3.2 Prove di verifica dell'accrescimento dell'embrione

L'embrione di pino cembro si presenta, dopo la raccolta dei semi, di dimensioni ridotte, e necessita di particolari accorgimenti per svilupparsi adeguatamente (Nather, 1958; Rohmeder e Rohmeder, 1955). Secondo Nather (1958) la temperatura ottimale per favorire l'accrescimento dell'embrione è compresa fra 15 e 20°C. Noi abbiamo utilizzato una temperatura standard di 20°C.

Si è voluto indagare se era possibile influenzare questo accrescimento mediante trattamenti ormonali e, in caso affermativo, ipotizzare un controllo dell'accrescimento a quel livello. Con questo proposito semi di Val de La Mare, disinfettati con cloruro mercurico sono stati trattati per 48 ore con 2 concentrazioni di gibberellina (100 e 200 ppm), chinetina (20 e 40 ppm) ed acido indolacetico (20 e 40 ppm), il controllo essendo rappresentato da acqua deionizzata.

La dissezione è stata compiuta in periodi ravvicinati all'inizio e successivamente

con intervalli più lunghi, dato che non si riscontravano grosse differenze in campionamenti poco distanziati. La prova è durata 90 giorni e le misure dell'embrione sono state sempre riportate in diverse classi di grandezza (tabelle VI e VII).

I trattamenti ormonali, nelle concentrazioni da noi usate, hanno dato risultati che non differiscono dal controllo. Più in particolare non si è potuto evidenziare né una accelerazione dei processi di accrescimento, né un aumento finale significativo (anzi si è avuto un leggero effetto deprimente), né infine si sono avute variazioni nel campo delle frequenze delle classi di grandezza; la distribuzione di queste frequenze si riporta quindi soltanto per il controllo (tabella VII).

Nei rilievi progressivi si nota che la distribuzione delle lunghezze degli embrioni interessa via via classi di grandezza crescenti; conseguentemente aumenta anche il valore medio della lunghezza degli embrioni, fino quasi a raddoppiare (con incremento percentuale del 74,48%). Il parametro preso in esame è stato la lunghezza, ma in realtà l'accrescimento dell'embrione

**TAB. VI**

Influenza ormonale sull'accrescimento degli embrioni in semi di *Pinus cembra* L. provenienti da Val de La Mare. Valori in mm corrispondenti alle medie aritmetiche delle dimensioni degli embrioni in un campione di 50 semi.

Ogni campione veniva periodicamente prelevato da un lotto di semi per ciascun trattamento ormonale riportato nella tabella. La stratificazione di questi lotti avveniva in ambiente umido, a + 20° C, al buio.

Rilievi progressivi	Trattamento ormonale						
	H <sub>2</sub> O	GA <sub>3</sub> 100 ppm	GA <sub>3</sub> 200 ppm	KIN 20 ppm	KIN 40 ppm	IAA 20 ppm	IAA 40 ppm
48 ore imbibizione	3,45	3,61	3,72	4,50	3,91	3,19	3,56
4 giorni stratificazione	4,03	4,13	4,47	4,12	3,56	4,05	4,02
8 giorni stratificazione	4,28	4,16	4,44	4,35	4,76	3,95	4,19
12 giorni stratificazione	4,04	4,31	4,35	4,50	4,44	4,48	4,34
20 giorni stratificazione	4,30	4,39	4,14	4,36	4,48	4,54	4,34
34 giorni stratificazione	5,00	4,77	4,98	4,79	4,76	4,86	4,47
48 giorni stratificazione	5,22	5,22	4,99	5,07	5,08	5,22	4,90
69 giorni stratificazione	5,59	5,59	5,57	5,68	5,48	5,55	5,65
90 giorni stratificazione	6,02	5,71	5,72	5,64	5,71	5,87	5,13

**TAB. VII**

Distribuzione percentuale per classi di lunghezza delle dimensioni degli embrioni in semi di *Pinus cembra* L., provenienti da Val de La Mare, in rilievi progressivi.

Valori in percentuale del totale di semi

buoni, presenti in un campione di 50 semi per rilievo. Il campione era prelevato periodicamente da un lotto stratificato in ambiente umido a 20° C, al buio, e non trattato con sostanze ormonali.

Rilievi progressivi	Classi di lunghezza (mm)								lunghezza media embrioni (mm)
	0-1,9	2-2,9	3-3,9	4-4,9	5-5,9	6-6,9	7-7,9	8-8,9	
48 ore imbibizione	6,25	15,62	50,00	25,00	3,13				3,45
4 giorni stratificazione		5,41	45,94	37,84	10,81				4,03
8 giorni stratificazione	5,26	2,63	18,42	47,37	26,32				4,28
12 giorni stratificazione	2,94	5,88	23,53	50,00	17,65				4,04
20 giorni stratificazione	2,56	2,56	35,90	33,34	17,95	7,69			4,30
34 giorni stratificazione		2,70	10,81	18,92	51,35	16,22			5,00
48 giorni stratificazione		5,00	2,50	25,00	50,00	10,00	5,00	2,50	5,22
69 giorni stratificazione				22,22	52,78	16,67	5,55	2,78	5,59
90 giorni stratificazione				11,43	45,71	20,00	17,14	5,72	6,02

**TAB. VIII**

Frequenza e grado di poliembrionia in semi di *Pinus cembra* L. provenienti da Val de La Mare in funzione del trattamento ormonale. Le percentuali riportate sono sta-

te ricavate dalla sommatoria dei casi di poliembrionia evidenziati nell'arco di una prova di verifica di accrescimento dell'embrione (90 giorni).

	Trattamento ormonale						
	H <sub>2</sub> O	GA <sub>3</sub> 100 ppm	GA <sub>3</sub> 200 ppm	KIN 20 ppm	KIN 40 ppm	IAA 20 ppm	IAA 40 ppm
numero semi sezionati	450	450	452	451	448	451	450
% semi monoembrionici	87,23	91,52	88,77	91,62	90,91	92,37	92,26
% semi con 2 embrioni	9,31	5,14	6,53	4,91	7,71	5,37	5,81
% semi con 3 embrioni	2,39	2,57	3,40	1,73	1,10	1,98	1,29
% semi con 4 embrioni	0,80	0,77	1,04	0,87	-	0,28	0,64
% semi con 5 embrioni	0,27	-	0,26	0,87	0,28	-	-

non si riflette solo in un allungamento, come mostra il confronto sulla fotografia 1.

Pur avendo scarse informazioni sulla influenza dei fitormoni sullo sviluppo dell'embrione nel genere *Pinus*, è possibile supporre che l'embrione immaturo, ma totalmente differenziato (Berlyn, 1972), abbia già pronti i necessari meccanismi di attivazione genetica delle sintesi ormonali, e quindi l'aggiunta esterna di ormoni risulta totalmente inefficace. Si tratta quindi di un processo che, una volta innescato, procede rapidamente a temperature favorevoli (ad esempio 20°C) e meno velocemente a temperature basse (4°C), che risultano comunque importanti per attivare i meccanismi necessari per l'uscita dalla dormienza fisiologica.

Con una prova successiva abbiamo quindi verificato l'influenza della temperatura sull'accrescimento dell'embrione, osservando le diversità di risposta tra semi tenuti a 4°C con altri posti ad una temperatura più favorevole (20°C).

A questo scopo, anche per osservare se vi erano risposte differenti tra le quattro provenienze circa le modalità di accresci-

mento dell'embrione, si sono utilizzati i semi inviati dal Laboratorio di Peri. La prova ha avuto la durata di 150 giorni, con misurazioni di 100 embrioni per trattamento e per provenienza cadenzate ogni 30 giorni (figura 3). Dalla figura risalta subito l'importante ruolo della temperatura nell'accrescimento dell'embrione. A 20°C i primi 3 mesi sono senza dubbio i più importanti, mentre nei successivi 60 giorni si è rilevata soltanto una leggera oscillazione dei valori. Praticamente al termine di 5 mesi gli embrioni hanno raddoppiato le dimensioni per le provenienze di Salbertrand (114,4%) e Passo delle Erbe (93,9%), quelli di Passo Lavazè - Rionero le triplicano (189,6%), mentre quelli di Allevetto hanno un accrescimento molto minore (42,6%), ma d'altronde sono da considerare le dimensioni iniziali.

A 4°C gli accrescimenti sono molto più contenuti, anche dopo 5 mesi, arrivando ad un massimo del 37,1% per la provenienza Lavazè, ed a solo 14,7% per Salbertrand. Da notare che dopo un mese a 20°C gli embrioni presentano già dimensioni maggiori rispetto agli embrioni di semi

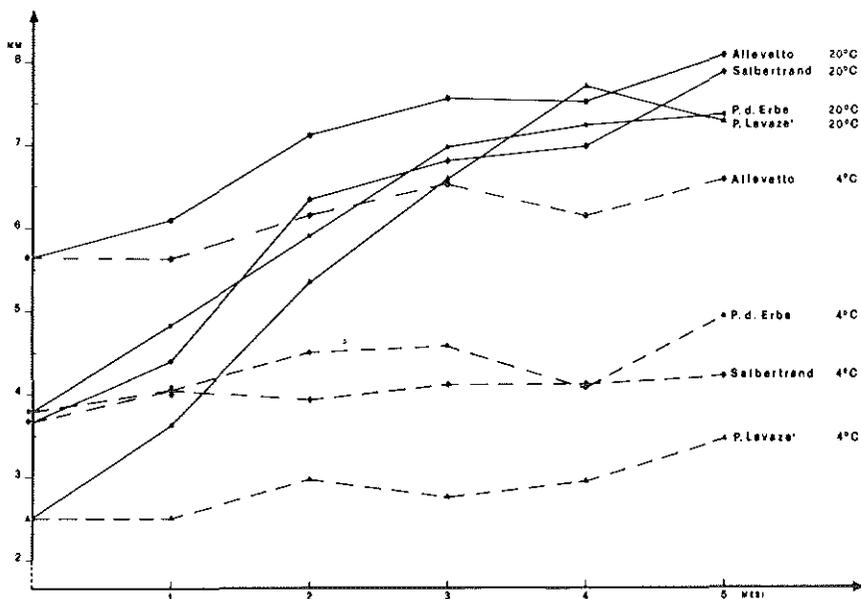


Figura 3

Influenza della temperatura (+ 4°C, + 20°C) sull'accrescimento dell'embrione in semi di *Pinus cembra* L. provenienti da Allevetto, Salbertrand, Passo delle Erbe, Passo Lavazè - Rionero.

corrispondenti che sono stati per 5 mesi a 4°C per Salbertrand e Lavazè, mentre per Passo delle Erbe raggiungono all'incirca la stessa lunghezza. Il valore medio dell'embrione dopo 1 mese a 20°C giace leggermente sotto il corrispondente valore dopo 5 mesi a 4°C per Allevetto; perché sia superiore a quest'ultimo bisogna considerare il valore medio dell'embrione dopo circa 1,5-2 mesi a 20°C. Questo è dovuto al fatto che i semi di Allevetto presentano embrioni già sviluppati e di conseguenza hanno una curva di crescita a 20°C meno ripida.

### 3.3 Poliembrionia

Come già detto dal momento che in letteratura si riportavano per i semi di *Pinus cembra* L. casi di poliembrionia (Berlyn, 1962, 1972), abbiamo posto una particolare attenzione durante il taglio e la misurazione degli embrioni alla eventuale presenza di più embrioni nello stesso seme.

La frequenza di casi di poliembrionia nei semi di Val de La Mare trattati con varie sostanze di crescita mostra valori più bassi per i semi trattati con le sostanze ormonali. Questi dati sono riportati nella tabella VIII e rappresentano la sommatoria dei casi di poliembrionia evidenziati nell'arco di una prova. Più frequenti all'inizio, i gemelli poliembrionici tendono a diminuire nel-

l'arco della sperimentazione, riducendosi praticamente solo a casi di gemelli biembrionici. Inoltre era difficile comprendere l'esatto significato della flessione causata dalle sostanze di crescita, poiché la bassa frequenza per ogni controllo non permetteva un'analisi immediata. Una nostra prima ipotesi è che queste sostanze alle concentrazioni utilizzate possono essere inibenti o addirittura tossiche per gli embrioni meno sviluppati.

Con le 4 provenienze si è avuto un comportamento nel tempo simile a Val de La Mare sia pure con valori percentualmente inferiori. Fra le 4 provenienze, Lavazè ha sempre una frequenza maggiore, mentre Allevetto è quella che presenta un minor numero di semi poliembrionici (vedi tab. IX).

Al momento della germinazione dei semi abbiamo potuto rilevare eventi di semenzali gemelli. È stato un fenomeno con

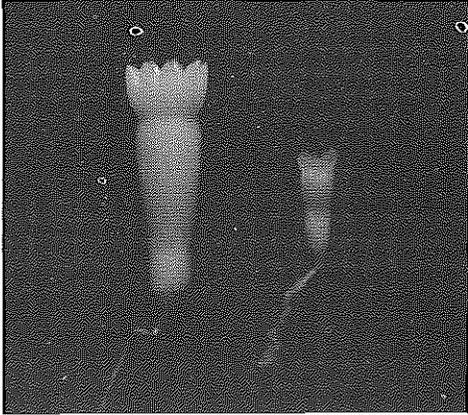
**TAB. IX**

Frequenza e grado di poliembrionia in semi di 4 provenienze di *Pinus cembra* L. in funzione della temperatura di stratificazione. Le percentuali riportate sono state ricavate dalla sommatoria dei casi di poliembrionia evidenziati nell'arco di una prova di verifica di accrescimento dell'embrione (5 mesi).

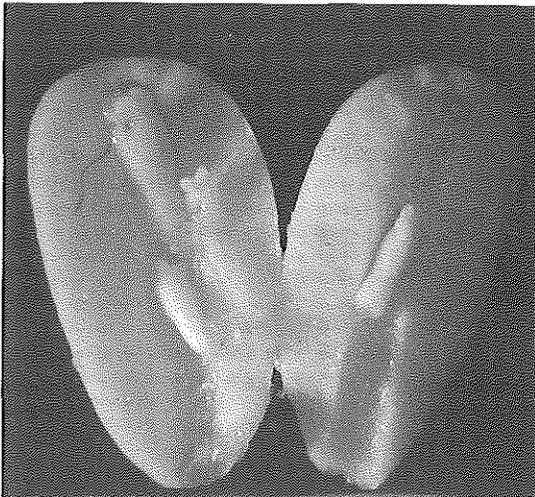
	Allevetto		Salbertrand		P.d. Erbe		P. Lavazè	
	+ 4° C	+ 20° C	+ 4° C	+ 20° C	+ 4° C	+ 20° C	+ 4° C	+ 20° C
numero semi sezionati	602	603	602	601	601	603	606	601
% semi monoembrionici	97,21	97,45	94,40	96,33	95,66	96,08	91,26	91,82
% semi con 2 embrioni	0,86	1,91	3,53	1,70	3,20	2,04	5,91	6,33
% semi con 3 embrioni	1,29	0,32	1,87	1,41	0,91	1,16	2,06	0,74
% semi con 4 embrioni	0,64	0,32	0,20	0,28	-	-	0,51	0,74
% semi con 5 embrioni	-	-	-	-	0,23	-	0,26	0,37
% semi con 6 embrioni	-	-	-	0,28	-	-	-	-

una frequenza piuttosto bassa, inferiore allo 0,5% dei semi germinati, e tale quindi da non poterne trarre delle ulteriori indicazioni.

Esempi in letteratura non sono molto



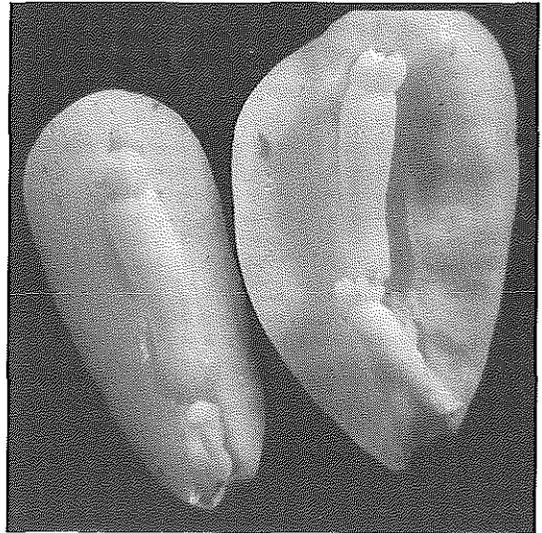
Differenti casi di poliembrionia nel pino cembro. La forma e le dimensioni degli embrioni in semi poliembrionici varia soprattutto in funzione del numero. Possiamo avere due embrioni con lo stesso grado di sviluppo o con dimensioni comunque simili (seme in alto nella foto 2); si tratta probabilmente di casi di fecondazione multipla. Altre volte invece vi sono due o più embrioni, di cui uno notevolmente sviluppato rispetto agli altri (seme in basso nella foto 2); l'origine di questi embrioni «satelliti», che sono posti più vicini al micropilo, è probabilmente legata ad un fenomeno di clivaggio. Si possono riscontrare semi con numerosi embrioni che presentano diversi gradi di sviluppo;



frequenti per il genere *Pinus* e sempre in percentuali molto basse.

Johnstone (1940) in un elenco comprendente 12 specie di pini riporta percentuali comprese fra 0,024 e 2,23%.

Confronto fra lo sviluppo di un embrione di *Pinus cembra* L. estratto da un seme mantenuto per 90 giorni in sabbia umida a 20°C, ed un altro conservato al secco, alla stessa temperatura.



nella foto 3 si nota un embrione più sviluppato, altri due con dimensioni simili e due serie con un notevole ritardo nello sviluppo (3 di questi embrioni che non hanno ancora differenziato i cotiledoni si trovano a destra dell'embrione più grosso, ed altri 2 coprono i cotiledoni dell'embrione di destra); si può notare anche il sistema sospensore che collega i vari embrioni.

#### 4. Conclusioni

La capacità del pino cembro di spingersi oltre il limite della foresta vivendo in condizioni difficilissime, e costituendo quindi un sistema di protezione alle alte quote alpine, sarebbe di per sé sufficiente per elevarlo al rango di specie di primaria importanza. È necessario quindi approfondire maggiormente le conoscenze sulla biologia di questa specie che, crescendo in ambienti spesso con condizioni climatiche molto difficili, è legata a piccole variazioni di queste ultime, che potrebbero essere sufficienti ad impedirne lo sviluppo.

Le norme nazionali ed internazionali di germinazione riportano tempi molto lunghi: praticamente fra pretrattamento e germinazione vera e propria si arriva quasi ad un anno. Obiettivo di questo lavoro è stato quello di studiare alcuni fattori che regolano la germinazione, anche ai fini di ridurre questi tempi.

Dai risultati delle prove di germinazione possiamo concludere che sono necessari almeno periodi di 2 mesi a 20°C per la post-maturazione seguiti da altri 2-3 mesi a bassa temperatura per avere una percentuale di germinazione significativamente interessante (maggiore del 50%, anche se aumentando il periodo di chilling siamo giunti al 96,55% in prove preliminari). Ci sembra questo un risultato positivo, poiché con un tempo ridotto rispetto alla norma, si possono avere delle percentuali di germinazione sufficientemente alte per rendere significativi i trattamenti a cui sono sottoposti i semi.

I trattamenti ormonali non hanno influenzato la capacità germinativa, tuttavia la chinetina ha rallentato la velocità di germinazione causando anche uno sviluppo anomalo delle radichette, molto lunghe ed estremamente sottili.

I semi delle 4 provenienze hanno dato risposte percentualmente inferiori a quelle avute dai semi di Val de La Mare, a parità di trattamento. I risultati ottenuti hanno però confermato due ben precise esigenze per la germinazione del pino cembro: la prima è quella di accrescere l'embrione e la seconda quella di eliminare un blocco di natura fisiologica.

Non abbiamo potuto accertare se questi due blocchi sono entrambi presenti al momento della raccolta, o se quello fisiologico si instaura successivamente. Certamente abbiamo potuto rilevare una corrispondenza tra percentuale di embrioni che superano una certa lunghezza e percentuale dei semi germinati.

In effetti sia a 20°C che a 4°C è solo considerando gli embrioni di lunghezza uguale o superiore a 5-5,9 mm che si ha un numero di semi potenzialmente capace di raggiungere la facoltà germinativa esplicitamente dimostrata nelle prove di germinazione.

A questo preciso riscontro fa eccezione la provenienza di Allevetto per la quale la «classe di maturità» corrisponde a 7-7,9 mm.

Ricordiamo che anche Nather (1958) ha individuato in 5 mm le dimensioni minime per la germinazione.

L'accrescimento embrionale risulta, come già detto, influenzato da temperature relativamente elevate. Si è voluto verificare se alcune soluzioni ormonali potevano influenzare (sia positivamente che negativamente) questo trattamento. Gli ormoni non hanno dato nessun risultato apprezzabile, fatta eccezione per i semi trattati con auxina, che hanno presentato un maggior numero di semi deteriorati ed un minor numero di semi poliembrionici.

Il fenomeno della poliembrionia non ha effetti pratici, in quanto la possibilità che anche due soli embrioni gemelli riescano a diventare piante è bassissima; si assiste cioè ad un fenomeno di selezione durante e dopo la fase di germinazione, per cui solo l'embrione più sviluppato riesce ad affermarsi. In effetti la percentuale di semenzali gemelli, alla germinazione, è decisamente inferiore agli eventi poliembrionici, ed in tutti i casi non abbiamo mai rilevato un numero superiore a due semenzali gemelli.

Abbiamo visto che l'ecologia della germinazione del pino cembro presenta molteplici aspetti. Per rendersi conto del suo grado di complessità basta pensare che su di essa influiscono sia situazioni ambientali (vicende climatiche della stazione, quota, esposizione del versante, esposi-

zione della pianta e dello strobilo) che situazioni endogene, legate a fattori ereditari o ad altri aspetti, come la poliembrionia.

La germinazione del pino cembro è comunque condizionata dalle necessità di accrescere l'embrione e di interrompere la dormienza derivante da uno stato fisiologico.

Sarebbe interessante esaminare quando si instaura la dormienza fisiologica nel seme. Bisognerebbe quindi conoscere quale è il segnale che stimola nella pianta l'entrata in dormienza dell'embrione. Questa condizione fisiologica potrebbe iniziarsi negli embrioni ancora da sviluppare, ma non è da escludere che si possa stabilire

in fasi successive, ad esempio durante la raccolta e la disseminazione della nocciolaia, oppure durante l'asciugatura degli strobili che precede l'estrazione dei semi.

Alla luce dei dati di Nather (1958) sarebbe interessante verificare se il seme appena raccolto, prima dell'inizio della disidratazione, sia dormiente.

**dott. Adriano Scoz**

Borsista presso la Stazione Sperimentale  
Agraria Forestale S. Michele a/A.

**dott. Paolo Grossoni**

Dipartimento di Biologia Vegetale,  
Facoltà di Agraria,  
Università degli Studi di Firenze

BIBLIOGRAFIA

- BARBENSI, G. (1965) - *Elementi di biometria applicati alle scienze forestali*. Firenze, Accademia Italiana di Scienze Forestali, 354 p.
- BERLYN, G.P. (1962) - *Developmental patterns in Pine polyembryony*. «Amer. Journ. Bot.», 49, (4), 327-333
- BERLYN, G.P. (1972) - *Seed germination and morphogenesis*. In *Seed biology*. Vol. II. Ed. by T.T. KOZLOWSKI, New York, Academic Press.
- BUCHHOLZ J.T. (1918) - *Suspensor and early embryo of Pinus*. «Bot. Gaz.», 66, 185 - 228.
- CLARE T.S.; JOHNSTONE G.R. (1931) - *Polyembryony and germination of polyembryonic coniferous seed*. «Amer. Journ. Bot.», 18, 674 - 683.
- CONTINI L.; LAVARELO Y. (1981) - *Le Pin cembro (Pinus cembra L.) Repartition, Ecologie et Croissance*. I.N.R.A., Centre National de Recherches Forestières, juillet 1981.
- I.S.T.A. (1974) - *International Rules for Seed Testing*. Warsaw, 17th Congress.
- JOHNSTONE G.R. (1940) - *Further studies on polyembryony and germination of polyembryonic Pine seeds*. «Amer. Journ. Bot.», 27, 808 - 811.
- KRUGMAN S.L.; JENKINSON J.L. (1974) - *Pinus*. In «Seeds of woody plants in the United States», 598 - 638, ed. by C. S. SCHOPMEYER, Agriculture Handbook N° 450, Forest Service USDA, Washington, pp. 883.
- MAGINI E. (1979) - *Appunti di vivaistica forestale*. Firenze, CLUSF, 150 p.
- MAGINI E.; MORANDINI R. (1975) - *Il materiale forestale di propagazione in Italia*. Ministero Agricoltura e Foreste, Collana Verde n. 34, Roma, pp. 298.
- MINISTERO AGRICOLTURA E FORESTE (1965) - *Metodi ufficiali di analisi delle sementi*. Roma, Istituto Poligrafico dello Stato, 86 p.
- NATHER H. (1958) - *Zur Keimung der Zirbensamen*. «Cbl. ges. Forstw.», 75, 61-70.
- ROHMEDER E.; LOEBEL M. (1940) - *Keimversuche mit Zirbelkiefer*. «Forstwiss. Centralbl.», 62, 25-36.
- ROHMEDER E. (1955) - *Untersuchungen über das Samentragen und Keimen der Zirbelkiefer (Pinus cembra L.) in der bayr. Alpen*. «Allgem. Forstschritt», 10, 83-86.
- SCHOPMEYER C.S. (1974) - *Seeds of woody plants in the United States*. Agriculture Handbook N° 450, Forest Service USDA, Washington, pp. 883.