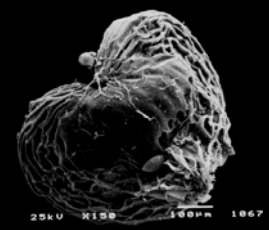
Riproduzione in vitro di *Osmunda regalis* L. da *exsiccata* dell'Erbario UTV

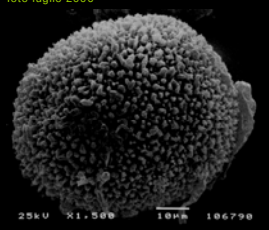
Orto Botanico della Tuscia

Sara MAGRINI, Anna SCOPPOLA, Cristina OLMATI, Monica FONCK, Silvano ONOFRI

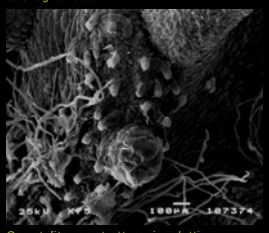
Centro Interdipartimentale dell'Orto Botanico, Università degli Studi della Tuscia - Viterbo



Sporangio (da saggio UTV del 2001) foto luglio 2006



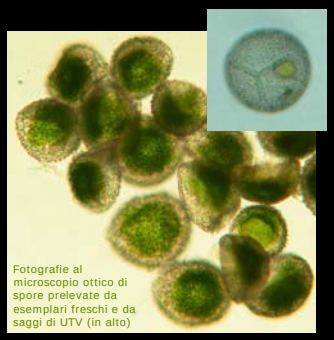
Spora (da saggio UTV del 2001) foto luglio 2006



Gametofito con strutture riproduttive foto settembre 2007

Introduzione

La vitalità delle spore varia enormemente tra le felci: in natura, le spore clorofilliane di alcune specie di *Osmundaceae*, *Gleichenaceae*, *Grammitidaceae* e *Hymenophyllaceae* perdono la vitalità entro poco tempo (in media 1-2 mesi) dalla raccolta, mentre le spore senza clorofilla superano i 2-3 anni (**1**, **2**). Dotate di pigmenti fotosintetici attivi e di un maggior contenuto in acqua, le spore verdi germinano più rapidamente di quelle senza clorofilla (mediamente 1-2 giorni dopo la semina, contro i 9-10 per le altre), passando alla fase di crescita con relativa facilità quando si trovano in condizioni idonee, mentre la disidratazione influisce negativamente sulla loro longevità. Infatti solo quelle di *Onoclea*, *Onocleopsis* e *Matteuccia* uniche dotate di perina, che ne limita la perdita d'acqua, conservano la vitalità per lungo tempo (**3**, **1**, **2**), mentre le altre possono essere tenute in uno stato vitale solo conservandole sotto condizioni che ne minimizzino la disidratazione, ad esempio a basse temperature (**4**, **5**).



Fotografie al microscopio ottico di spore prelevate da esemplari freschi e da saggi di UTV (in alto)

Da quanto detto segue che la longevità delle spore è determinata da fattori genetici e fisiologici, oltre che dalle condizioni ambientali; in particolare, negli Erbari è determinante la tipologia di trattamento usata per combattere le infestazioni (**6**). Sebbene la vitalità declini rapidamente in saggi trattati con metodi chimici o calore, la comune pratica del congelamento sembra avere pochi effetti negativi su specie con spore non clorofilliane (**7**). Infatti, vari studi hanno dimostrato che spore provenienti da *exsiccata* rimangono vitali per decine di anni: per 50 anni le spore di *Pellaea truncata* Goodding (**6**), per 99-100 anni quelle di *Marsilea* (**8**). Tale longevità è abbastanza comune per specie che vivono in habitat xerici, mentre specie mesofile, come *Cystopteris protrusa* (Weath.) Blasdell e *Woodsia obtusa* (Spr.) Torrey, perdono la capacità di germinare dopo pochi anni (**7**).

Finalità del lavoro

Dal momento che non ci risulta documentata la riproduzione da *exsiccata* di specie con spore clorofilliane, si presentano qui i primi risultati del lavoro condotto presso la Banca del Germoplasma della Tuscia (BGT) finalizzato alla riproduzione *in vitro* di *Osmunda regalis* L. da saggi dell'Erbario UTV.

Erbario UTV

Tutti i campioni vengono essiccati in pressa a temperatura ambiente per circa 4 settimane e, dopo almeno 3-4 mesi di permanenza in locali asciutti e areati, sono sistemati in pacchi e racchiusi in buste di polietilene per la fase di disinfestazione: 2 trattamenti di 1 settimana (con sospensione di 24 ore) a T=-35°C a distanza di 1 mese l'uno dall'altro (**9**).

Materiali e metodi:

- Prelievo spore da *exsiccata* di UTV del 1989 e del 2001;
- Misura al microscopio ottico per verificarne il grado di maturità;
- Reidratazione in acqua distillata per 24h (**2**);
- 3 lavaggi con acqua distillata sterile;
- Semina in piastre Petri con terreno minerale agarizzato (Knop);
- Incubazione a 25°C ±2 con fotoperiodo 12/12h;
- Periodica aggiunta di acqua sterile dopo la formazione dei gametofiti per favorire la fecondazione;
- Trasferimento dei gametofiti in terriccio sterile per lo sviluppo dello sporofito.

Risultati

Da osservazioni periodiche delle colture risultano tempi di germinazione molto più lunghi rispetto al controllo (spore raccolte in natura nel luglio 2006 a Canale Monterano - VT), a conferma del fatto che la velocità e la percentuale di germinazione sono fortemente influenzate dall'età delle spore (**6**, **2**), mentre i tempi di formazione di gametofito e sporofito non mostrano differenze significative. Da osservazioni micromorfologiche allo stereomicroscopio e al SEM (vedi foto) non sono state evidenziate malformazioni nei gametofiti né anomalie nella tipologia di crescita o nello sviluppo delle strutture riproduttive.

Prove di germinazione

Prime fasi dello sviluppo del gametofito

Gametofiti in fase laminare

Gametofiti in fase tridimensionale

Trasferimento di gruppi di gametofiti su terriccio sterile

Sviluppo dei primi sporofiti

Provenienza	Anno di raccolta	Tempo di germinazione	Gametofito in fase laminare (gg dalla germinazione)	Comparsa dello sporofito (gg dalla germinazione)
Materiale fresco – Canale Monterano	2006	4 giorni	+33	+200
Saggio di UTV – Isola d'Elba	2001	20 giorni	+40	+210
Saggio di UTV – Isola del Giglio	1989	30 giorni	i gametofiti non hanno ancora raggiunto la fase laminare	

LETTERATURA CITATA

1. LLOYD R.M., KLEKOWSKI E.J. Jr. (1970) *Spore germination and viability in* Pteridophyta: *evolutionary significance of chlorophyllous spores*. Biotropica, 2: 129-137
2. RAGHAVAN V. (1989) *Developmental Biology of Fern Gametophytes*. Cambridge Univ. Press. 362 pp.
3. OKADA Y. (1929) *Notes on the germination of the spores of some pteridophytes with special regard to their viability*. Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ., Ser. IV Biol., 4: 127-182
4. STOKEY A.G. (1951) *Duration of viability of spores of the* Osmundaceae. Amer. Fern J., 41: 111-115
5. VON ADERKAS P., CUTTER E.G. (1983) *The role of the meristem in gametophyte development of the osmundaceous fern* Todea barbara *(L.) Moore*. Bot. Gaz., 144: 519-524
6. WINDHAM M.D., WOLF P.G., RANKER T.A. (1986) *Factors affecting prolonged stored spore viability in herbarium collections of three species of* Pellaea. Amer. Fern J., 76 (3): 141-148
7. WINDHAM M.D., HAUFLER C.H. (1986) *Biosystematic uses of fern gametophytes derived from herbarium specimens*. Amer. Fern J., 76 (3): 114-128
8. JOHNSON D. (1985) *New records for longevity for* Marsilea *sporocarps*. Amer. Fern J., 75: 30-31
9. SCOPPOLA A., SCARICI E. (1998) *La conservazione delle piante (guida alla realizzazione di un erbario)*. Centro Stampa, Roma. 64 pp.

Poster presentato al 102° Congresso della SOCIETÀ BOTANICA ITALIANA, Palermo 26-29 settembre 2007