

Propagazione asimbiotica di orchidee spontanee italiane

Maurizio Antonetti ^{1*}, Gianluca Burchi ¹, Jacopo Calevo ²⁻³, Annalisa Giovannini ²

¹ Consiglio per la Ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria - Centro di Orticoltura e Florovivaismo, Pescia (PT)

² Consiglio per la Ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria - Centro di Orticoltura e Florovivaismo, Sanremo (IM)

³Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi - Università di Torino

Parole chiave: Orchidaceae, micropropagazione, germinazione, conservazione, semina *in vitro*

La famiglia delle Orchidaceae, con circa 28.000 specie conosciute (Christenhusz e Byng, 2016), è la più numerosa tra le angiosperme. Molte di queste piante sono protette da leggi nazionali e internazionali e sono considerate di grande valore ornamentale ed economico. Le orchidee sono sempre più spesso considerate specie bandiera nella conservazione della biodiversità e indicatori di qualità ambientale e degli ecosistemi (Pierce e Belotti 2011); infatti sono piante che instaurano stretti e spesso specifici legami sia con i loro insetti impollinatori sia con i funghi micorrizici (Dixon 2009). Le Orchidaceae sono però minacciate da fattori intrinseci ed estrinseci che degradano i loro habitat, come l'invasione di specie alloctone, il pascolo e l'escavazione da parte di ungulati, l'alterazione dell'idrologia e dei regimi di fuoco. Nell'ambito del progetto "Valorizzazione di specie di orchidee spontanee italiane ed europee" del trattato internazionale FAO sulle risorse sulle Risorse Genetiche Vegetali per l'alimentazione e l'agricoltura (RGV/FAO - IV triennio) è stato attuato un programma di raccolta e propagazione di orchidee spontanee presenti sul terri-

torio italiano, prevalentemente orientato verso specie e ibridi naturali con potenzialità ornamentali, minacciate o di incerta classificazione.

Durante il triennio 2014-2016 sono stati raccolti in campo dati fenologici e distribuzionali sul territorio nazionale in modo da poter ottimizzare la raccolta e la semina *in vitro*. Nel rispetto delle leggi di protezione regionali, sono state quindi raccolte le capsule, a uno stadio di maturazione non completa, di 11 dei 29 generi presenti in Italia: *Anacamptis*, *Barlia*, *Cephalanthera*, *Dactylorhiza*, *Epipactis*, *Gymnadenia*, *Himantoglossum*, *Neotinea*, *Ophrys* (fig. 1), *Orchis* e *Serapias*, per un totale di 44 taxa. Le capsule, sono state sterilizzate con una soluzione commerciale di ipoclorito di sodio al 4,9% di cloro attivo, risciacquate con acqua sterile 3 volte e sezionate sotto cappa a flusso laminare orizzontale. I semi prelevati sono stati seminati su 5 diversi terreni di coltura, utilizzando come base le formulazioni di Malmgren, "Terrestrial Orchid Medium" e "Fast Terrestrial Orchid Medium", della PhytoTechnology Laboratories®. I semi sono stati messi a germinare in condizioni controllate al buio a 22±2 °C. I dati di germinazione sono stati raccolti ogni settimana. Dopo 18-20 mesi dalla semina, nel mese di novembre, sono



Fig. 1 - Fasi della semina *in vitro* di *Ophrys crabronifera*: a) identificazione delle piante nel loro ambiente naturale; b) capsule immature al momento della raccolta; c) semi sterilizzati; d) emergenza del protomeristoma con formazione di rizoidi; e) protocormo pronto per l'ambientamento.

* maurizio.antonetti@crea.gov.it

Tab. 1 - Elenco dei tipi di taxa seminati *in vitro* nel triennio 2014-2016. Legenda: N.= numero progressivo del taxon; G= semi germinati; NG= semi non germinati; D= semi germinati non sviluppati.

N.	Taxon	G	NG	D	N.	Taxon	G	NG	D
1	<i>Anacamptis laxiflora</i>	X			23	<i>Ophrys bombyliflora x lutea</i>	X		
2	<i>Anacamptis morio</i>	X			24	<i>Ophrys crabronifera ssp. crabronifera</i>	X		
3	<i>Anacamptis morio x Serapias neglecta</i>		X		25	<i>Ophrys crabronifera x tenthredinifera</i>	X		
4	<i>Anacamptis papilionacea</i>	X			26	<i>Ophrys exaltata ssp. arachnitiformis</i>	X		
5	<i>Barlia robertiana</i>	X			27	<i>Ophrys exaltata ssp. montis leonis</i>		X	
6	<i>Cephalanthera damasonium</i>		X		28	<i>Ophrys fusca ssp. lupercalis</i>	X		
7	<i>Cephalanthera longifolia</i>	X			29	<i>Ophrys insectifera</i>		X	
8	<i>Cephalanthera rubra</i>	X			30	<i>Ophrys passionis ssp. garganica</i>		X	
9	<i>Dactylorhiza maculata ssp. fuchsii</i>	X			31	<i>Ophrys sphegodes ssp. maritima</i>	X		
10	<i>Dactylorhiza sambucina</i>		X		32	<i>Ophrys sphegodes ssp. classica</i>	X		
11	<i>Epipactis atrorubens</i>		X		33	<i>Ophrys sphegodes ssp. tarquinia</i>		X	
12	<i>Epipactis helleborine</i>		X		34	<i>Orchis mascula</i>	X		
13	<i>Epipactis leptochila ssp. neglecta</i>		X		35	<i>Orchis militaris</i>		X	
14	<i>Gymnadenia conopsea</i>	X			36	<i>Orchis pallens</i>		X	
15	<i>Himantoglossum adriaticum</i>		X		37	<i>Orchis patens</i>	X		
16	<i>Himantoglossum hircinum</i>	X			38	<i>Orchis patens x provincialis</i>	X		
17	<i>Neotinea maculata</i>			X	39	<i>Orchis provincialis</i>	X		
18	<i>Neotinea tridentata</i>		X		40	<i>Orchis purpurea</i>		X	
19	<i>Ophrys apifera</i>	X			41	<i>Platanthera bifolia</i>			X
20	<i>Ophrys apifera x holosericea</i>	X			42	<i>Serapias cordigera</i>	X		
21	<i>Ophrys apifera x sphegodes</i>		X		43	<i>Serapias lingua x neglecta</i>	X		
22	<i>Ophrys bertolonii</i>	X			44	<i>Serapias neglecta</i>	X		

stati ambientati in serra fredda i primi semenzali con diverse miscele di terricci. In tutto sono germinati i semi di 28 taxa, sui 44 testati (tab. 1). I semi di *Neotinea maculata* e *Platanthera bifolia* sebbene siano germinati non hanno proseguito lo sviluppo. I substrati che hanno fornito i migliori risultati, in termini di quantità e qualità della germinazione, sono stati quelli a base di “Malmgren” e “Terrestrial Orchid Medium”. L’ambientamento, testato su 9 taxa, ha dato buoni risultati, producendo piante che, in alcuni casi, hanno fiorito in vaso già nella primavera successiva. Tra le specie in cui non si è osservata alcuna germinazione se ne evidenziano alcune, come *Epipactis* sp. e *Cephalanthera damasonium*, che in natura sono micoeterotrofe, particolarmente legate al simbionte fungino nella fase germinativa (Smith e Read, 2008), e che quindi necessitano di particolari condizioni. Anche alcune specie di *Orchis* potrebbero beneficiare della germinazione simbiotica, viste le dif-

ficoltà germinative già riscontrate all’interno dello stesso genere (Calevo *et al.*, 2017). Si renderà pertanto necessario ottimizzare il protocollo di germinazione di alcuni taxa, mediante l’utilizzo di specifici funghi simbiotici.

Bibliografia

CALEVO J., MONROY F., PECCENINI S., CORNARA L., GIOVANNINI A., 2017. First time *in vitro* asymbiotic germination of *Orchis patens* Desf.: a preliminary study on an endangered Mediterranean orchid. *GIROS Orch. Spont. Eur.* 60: 94-104.

CHRISTENHUSZ M.J.M., BYNG J.W. 2016. The number of known plants species in the world and its annual increase. *Phytotaxa* 261 (3): 201-217.

DIXON K.W., 2009. *Pollination and Restoration*. *Science* 325: 571-573.

PIERCE S., BELOTTI J., 2011. *The conservation of terrestrial orchids*. Parco delle Orobie Bergamasche, Centro Flora Autoctona della Regione Lombardia, Gierre srl, Bergamo.

SMITH S.E., READ D.J., 2008. *Mycorrhizal symbiosis*. London, UK. Academic Press, 3.